独活煮散饮片

**Duhuozhusanyinpian**

 **ANGELICAE PUBESCENTIS RADIX APOZEM PARS**

本品为伞形科植物重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim.f.*biserrata* Shan et Yuan干燥根的加工制品。

【制法】 取净独活，润透，切碎或破碎，干燥，制成2.0mm～6.7mm的颗粒，即得。

【性状】 本品为黄棕至灰褐色相间不规则颗粒，粒径范围为2.0mm～6.7mm。有特异香气，味苦、辛、微麻舌。

【鉴别】 （1）粉末淡黄色或淡棕色。淀粉粒较多，细小，单粒类圆形或椭圆形，大粒偶见脐点，点状或人字状，层纹不明显；复粒较多，由数十个分粒组成，易散离。油管多破碎，壁薄，稍皱缩，胞腔内大多含黄绿色或淡黄棕色分泌物及油滴，纵断面观分泌细胞狭长。导管，主为网纹导管。木栓细胞无色或棕色，表面观呈多角形或长多角形，壁稍厚，横断面观呈类长方形。木栓组织间可见落皮层。薄壁组织无色或淡黄色，呈类圆形或类长方形，大小不一，壁薄，细胞间隙明显。

（2）薄层鉴别或DNA条形码鉴定

薄层鉴别 取本品粉末1g，加甲醇10ml，超声处理15分钟，滤过，取滤液作为供试品溶液。另取独活对照药材1g，同法制成对照药材溶液。再取二氢欧山芹醇当归酸酯对照品、蛇床子素对照品，加甲醇分别制成每1mL含0.4mg的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（中国药典2015年版通则0502）试验，吸取供试品溶液和对照药材溶液各8μl、对照品溶液各4μl，分别点于同一硅胶G薄层板上，以石油醚（60~90℃）-乙酸乙酯（7∶3）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365 nm）下检视。供试品色谱中，在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

DNA条形码鉴定

模板DNA提取 取本品适量，研成细粉，用植物基因组提取试剂盒提取供试品模板DNA，置-20℃保存备用。另取独活对照药材适量，同法制成对照药材模板DNA溶液，置-20℃保存备用。

PCR反应 通用引物：ITS2F（5′-ATGCGATACTTGGTGTGAAT-3′）和ITS3R（5′-GACGCTTCTCCAGACTACAAT-3′）。PCR反应体系：在200μl离心管中进行，反应总体积为25μl，反应体系包括2×Taq PCR Mix 12.5μl，通用引物（2.5μM）各1μl，模板（基因组DNA＜0.1μg）2μl，无菌双蒸水8.5μl。将离心管置PCR仪，PCR反应参数：94℃预变性5分钟，循环反应35次（94℃30秒，56℃30秒，72℃45秒），延伸（72℃）10分钟。另取无菌超纯水，同法上述PCR反应操作，作为空白对照。

电泳检测 照琼脂糖凝胶电泳法（中国药典2015年版通则0541），胶浓度为1.5%，胶中加入核酸凝胶染色剂GelRed；供试品、对照药材与空白对照PCR反应溶液的上样量分别为5μl，DNA分子量标记上样量为2μl（0.5μg/μl）。电泳结束后，取凝胶片在凝胶成像仪上或紫外透射仪上检视。供试品及对照药材凝胶电泳图谱中，在约500bp 处应有一条DNA条带，空白对照无条带。

测序 在紫外光灯下迅速切取目的条带所在位置的凝胶，采用琼脂糖凝胶DNA 回收试剂盒进行纯化。使用DNA 测序仪对目的条带进行双向测序，以PCR 扩增引物作为测序引物。

中药材DNA条形码序列获得 对双向测序峰图应用有序列拼接功能的专业软件进行序列拼接，去除引物区，并使序列方向与PCR 扩展正向引物方向一致。

结果判定 将获得的序列与国家或广东省药品管理部门认可的中药材DNA条形码标准序列比对，应为独活基原植物重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim.f.*biserrata* Shan et Yuan的ITS2序列。

【检查】 水分 不得过10.0% (中国药典2015年版通则0832第四法）。

【含量测定】 照高效液相色谱法（中国药典2015年版通则0512）测定。

色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以乙腈-水（49∶51）为流动相；检测波长为330nm。理论塔板数按二氢欧山芹醇当归酸酯峰计算应不低于6000。

对照品溶液的制备 取蛇床子素对照品、二氢欧芹醇当归酸酯对照品适量，精密称定，加甲醇分别制成每1ml各含0.15mg、0.050mg的溶液，即得。

供试品溶液的制备 取本品粉末（过三号筛）约0.5g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇20ml，密塞，称定重量，超声处理（功率250W，频率40kHz）30分钟，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液5ml，置20ml量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

测定法 分别精密吸取两种对照品溶液10μl与供试品溶液10～20μl，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品按干燥品计算，含蛇床子素（C15H16O3）不得少于0.50%，含二氢欧山芹醇当归酸酯（C19H20O5）不得少于0.080%。

【性味与归经】 辛、苦，微温。归肾、膀胱经。

【功能与主治】 祛风除湿，通痹止痛。用于风寒湿痹，腰膝疼痛，少阴伏风头痛，风寒挟湿头痛。

【用法与用量】 3～10g，或遵医嘱。

【贮藏】 置干燥处，防霉，防蛀。