桑枝煮散饮片

**Sangzhizhusanyinpian**

**MORI RAMULUS APOZEM PARS**

本品为桑科植物桑*Morus alba* L.的干燥嫩枝的加工制品。

【制法】 取净桑枝，浸润，切碎或破碎，干燥，制成0.8mm～6.7mm的颗粒，即得。

【性状】 本品呈不规则颗粒状，粒径范围为0.8mm～6.7mm。颗粒呈灰黄色或黄白色，部分有黄褐色外皮残留。气微，味淡。

【鉴别】 （1）本品粉末灰黄色。纤维较多，成束或散在，淡黄色或无色，略弯曲，直径10～30μm，壁厚5～15μm，弯曲处呈皱襞，胞腔甚细。石细胞淡黄色，呈类圆形、类方形，直径15～40μm，壁厚5～20μm，胞腔小。含晶厚壁细胞成群或散在，形状、大小与石细胞近似，胞腔内含草酸钙方晶1～2个。草酸钙方晶存在于厚壁细胞中或散在，直径5～20μm。木栓细胞表面观呈多角形，垂周壁平直或弯曲。

（2）薄层鉴别或DNA条形码鉴定

薄层鉴别 取本品粉末0.5g，加甲醇5ml，超声处理20分钟，滤过，取滤液作为供试品溶液。另取桑枝对照药材1g，加甲醇20ml，超声处理20分钟，滤过，滤液浓缩至2ml，作为对照药材溶液。照薄层色谱法（中国药典2015年版通则0502）试验，吸取上述供试品溶液10µ1，对照药材溶液5µ1分别点于同一硅胶G薄层板上，以甲苯-乙酸乙酯-甲酸（5∶2∶1）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同顏色的荧光斑点。

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溶液，置-20℃保存备用。另取桑枝对照药材适量，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，应为桑枝基原植物桑*Morus alba* L.的ITS2序列。

【检查】 水分 不得过11.0% （中国药典2015 年版通则0832第二法）。

【浸出物】 照醇溶性浸出物测定法（中国药典2015 年版通则2201）项下的热浸法测定，用乙醇作溶剂，不得少于3.0%。

【性味与归经】 微苦，平。归肝经。

【功能与主治】 祛风湿，利关节。用于风湿痹病，肩臂、关节酸痛麻木。

【用法与用量】 9～15g，或遵医嘱。

【贮藏】置干燥处。