**脑灵素片、胶囊中龟甲鉴别方法**

取脑灵素片适量，除去糖衣；或取脑灵素胶囊内容物适量，研细，取约5g，置50ml锥形瓶中，加1%碳酸氢铵溶液25ml，超声处理30分钟，离心（转速为每分钟6000转）5分钟，将上清液转移置50ml量瓶中，残渣加1%碳酸氢铵溶液25ml，继续按上述方式超声、离心操作1次。合并两次上清液，加1%碳酸氢铵溶液至刻度，摇匀，用0.22μm微孔滤膜滤过，取续滤液100μl，置微量进样瓶中，加胰蛋白酶溶液（取序列分析级胰蛋白酶，加1%碳酸氢铵溶液制成每1μl中含1μg的溶液，临用前现配）10μl，摇匀，37℃恒温酶解12小时，作为供试品溶液。另取龟甲对照药材0.1g，加1%碳酸氢铵溶液50ml，超声处理30分钟，自“用0.22μm微孔滤膜滤过”起，同法制成对照药材溶液。照高效液相色谱法-质谱法（通则0512和通则0431）试验，以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（色谱柱内径2.1mm）；以乙腈为流动相A，以0.1%甲酸溶液为流动相B，按下表中的规定进行梯度洗脱；流速为每分钟0.3ml。采用质谱检测器，电喷雾正离子模式（ESI+），进行多反应监测（MRM），选择质荷比（m/z）631. 3（双电荷）→546. 4和m/z 631.3（双电荷）→921. 4作为检测离子对。取龟甲对照药材溶液，进样5μl，按上述检测离子对测定的MRM色谱峰的信噪比均应大于3︰1。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间（分钟） | 流动相A（%） | 流动相B（%） |
| 0～25 | 3→20 | 97→80 |
| 25～40 | 20→50 | 80→50 |

吸取供试品溶液5μl，注入高效液相色谱-质谱联用仪，测定。以质荷比（m/z）631. 3（双电荷）→546. 4和m/z 631.3（双电荷）→921. 4离子对提取的供试品离子流色谱中，应同时呈现与对照药材色谱保留时间一致的色谱峰。