附件2

脑立清丸（胶囊、片）中水麦冬酸检查项

补充检验方法

（BJY 202302）

**【检查】水麦冬酸** 照高效液相色谱法（中国药典 2020 年版通则 0512）和质谱法（中国药典 2020 年版通则 0431）测定。

**色谱、质谱条件与系统适用性实验** 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0.2ml；采用质谱检测器，电喷雾负离子模式（ESI-），进行多反应监测（MRM），选择质荷比*m/z*187.0→143.0和*m/z*187.0→99.0作为检测离子对。取对照品溶液，进样2µl，按上述离子对测定的MRM色谱峰的信噪比均应大于10:1。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间（分钟） | 流动相A（%） | 流动相B（%） |
| 0～10 | 1→5 | 99→95 |

**对照品溶液的制备（临用新制）** 取水麦冬酸对照品适量，精密称定，加乙腈-0.1%甲酸溶液（1:99）制成每1ml含0.25μg 的溶液，作为对照品溶液。

**供试品溶液的制备** 取脑立清丸、片、胶囊内容物，研细，取约8.0g（相当于清半夏1g），精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加水50ml，称定重量，超声处理（功率500W，频率40kHz）45分钟，放冷，再称定重量，用水补足减失的重量，摇匀，离心（转速为每分钟8000转）5分钟，取上清液，滤过，精密量取续滤液25ml至离心管中，加甲酸0.2ml，摇匀，加入乙酸乙酯20ml，摇匀，离心（转速为每分钟5000转）5分钟，分取乙酸乙酯液，自“加入乙酸乙酯20ml”起，再同法操作3次，合并乙酸乙酯液，减压回收溶剂至干，残渣加乙腈-0.1%甲酸溶液（1:99）使溶解，并定容至2ml，用微孔滤膜（0.22μm）滤过，取续滤液，即得。

**测定法** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各2μl，注入液相色谱-质谱联用仪，测定，即得。

（1）供试品的提取离子流色谱中，未同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰，视为未检出；（2）供试品的提取离子流色谱中，同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰，且供试品色谱中 *m/z* 187.0→143.0 的色谱峰面积值不大于对照品溶液中相应的峰面积值，视为未检出；（3）供试品的提取离子流色谱中，同时出现与对照品色谱相应的色谱峰，且供试品色谱中 *m/z* 187.0→143.0的色谱峰面积值大于对照品溶液中相应的峰面积值，视为检出。

**结果判定** 供试品的提取离子流色谱中，应不得检出与对照品溶液色谱相应的色谱峰。

**起草单位：**山东省食品药品检验研究院

**复核单位：**河北省药品医疗器械检验研究院

四川省药品检验研究院（四川省医疗器械检测中心）