

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.14.041

• 药学 •

LC-MS/MS 法测定苦参提取物中苦参碱和氧化苦参碱的质量浓度 *

赵 岩¹ 杨 丹^{1Δ} 邱子真² 张世良³ 赵 佳⁴

(辽宁中医药大学附属第二医院 1 制剂中心; 2 药理学室; 3 临床药理学室; 4 药物临床试验机构办公室 辽宁 沈阳 110034)

摘要 目的:探讨液相色谱/串联质谱法(Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)测定苦参提取物中苦参碱和氧化苦参碱的质量浓度。**方法:**验证 LC-MS/MS 测定苦参提取物中苦参碱、氧化苦参碱的可行性与有效性,并判定检出限、重复性、稳定性、加样回收率。结果绘制苦参碱、氧化苦参碱的检出标准曲线。**结果:**LC-MS/MS 检测苦参提取物中苦参碱与氧化苦参碱的一级质谱图和二级质谱图显示,苦参碱和氧化苦参碱的相对分子量为:248.36、246.36。色谱图显示苦参碱与氧化苦参碱无干扰色谱峰,各成分及内标峰形良好,表明该方法专属性强。在 5 μg/L~500 μg/L 浓度范围内,苦参碱、氧化苦参碱均呈现良好的线性关系,线性方程分别为 $y=6.10x-118.29$ 和 $y=18.29x-14.22$,检出限均为 0.1 μg/L。LC-MS/MS 法测定苦参提取物中苦参碱、氧化苦参碱的重复性、稳定性、加样回收率 RSD 均 <5%。**结论:**LC-MS/MS 法测定苦参提取物中苦参碱和氧化苦参碱的质量浓度具有可行性、高灵敏度、高特异性等优点,可用于苦参提取物的质量控制与评价,并为后续他人的研究提供关键试验参考条件。

关键词:液相色谱/串联质谱法;苦参提取物;苦参碱;氧化苦参碱;加样回收率

中图分类号:R-33;R284;R92 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2021)14-2792-05

LC-MS/MS Determination of the Concentration for Matrine and Oxymatrine in Sophora Flavescens Extract*

ZHAO Yan¹, YANG Dan^{1Δ}, QI Zi-zhen², ZHANG Shi-liang³, ZHAO Jia⁴

(1 Preparation center; 2 Pharmacy room; 3 Clinical pharmacology room; 4 Office of drug clinical trial institution,

The Second Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning, 110034, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for the determination of the concentration of Matrine and Oxymatrine in Sophora flavescens extract. **Methods:** To verify the feasibility and effectiveness of the determination of matrine and oxymatrine in the extract of Sophora flavescens by LC-MS/MS, and to determine the detection limit, repeatability, stability, and recovery rate of the sample addition method, and draw the bitterness Standard curve for detection of matrine and oxymatrine. **Results:** LC-MS/MS detection of matrine and oxymatrine in Sophora flavescens extract showed that the relative molecular weights of matrine and oxymatrine were 248.36 and 246.36. The chromatogram shows that matrine and oxymatrine have no interference chromatographic peaks, and the peak shapes of the components and internal standard are good, indicating that the method is highly specific. In the concentration range of 5 μg/L~500 μg/L, both matrine and oxymatrine showed a good linear relationship, the linear equations were $y=6.10x-118.29$ and $y=18.29x-14.22$, and the detection limit were all 0.1 μg/L. The RSD LC-MS/MS method to determine the reproducibility, stability and recovery rate of matrine and oxymatrine in the extract of Sophora flavescens were all less than 5%. **Conclusion:** LC-MS/MS method has the advantages of feasibility, high sensitivity and high specificity for determining the concentration of matrine and oxymatrine in Sophora flavescens extract. It can be used for the quality control and evaluation of Sophora flavescens extract, and subsequent studies by others provide key experimental reference conditions.

Key words: Liquid chromatography/tandem mass spectrometry; Sophora flavescens extract; Matrine; Oxymatrine; Recovery rate

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R284; R92 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2021)14-2792-05

前言

当前随着人民物质生活水平的提高与人口的老龄化,癌症

的发病率正在逐年增加^[1]。寻找新型高效、低毒副作用的抗肿瘤药物是临床医学广泛重视的问题。中药具有天然资源多、相对毒副作用小等多种优势,已广泛应用到肿瘤临床治疗中,也已

* 基金项目:国家科技重大专项课题项目(2017ZX09301019)

作者简介:赵岩(1981-),男,本科,主管中药师,研究方向:中药制剂提取及活性物质检测,

电话:13504924322, E-mail: zhaoyan198107@163.com

Δ 通讯作者:杨丹(1983-),女,在职研究生,主管中药师,研究方向:中药,电话:13504922811, E-mail: yaya_dn@163.com

(收稿日期:2020-11-23 接受日期:2020-12-18)

经取得了一定的效果^[2,3]。苦参作为一种常用的中药,无毒、性苦寒,具有清热解毒、祛风燥湿、养肝胆气、补中明目等多种功效^[4]。苦参中的主要活性标记物包括黄酮类(如黄烷酮、黄烷酮醇、苦参酮等)和生物碱类化合物(如苦参碱与氧化苦参碱等)^[5],药理实验和临床研究证明苦参具有抗肿瘤、抗心律失常、抗菌、抗病毒等多种功效,可参与调控肿瘤细胞分化与凋亡,具有抑制肿瘤增殖和迁移等多种作用^[6,7]。液相色谱/串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)为当前新兴的综合质谱检测技术,能检测高浓度盐、耐挥发性、缓冲剂等物质,也具有测定质量范围宽、分辨率好、操作简单、灵敏度高优点^[8,9]。当前该技术已应用于尿液、蛋白组学分析^[10,11]。本文采用 LC-MS/MS 法测定苦参提取物中苦参碱与氧化苦参碱的质量浓度,希望为苦参提取物的质量检测提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

32341IM 型 LC-MS/MS 购自大连依利特仪器有限公司[色谱柱 5 μm , 4.6 mm $\times$ 50 mm, 配置 MassHunter 数据处理软件与电喷雾电离源(ESI)], AL104 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司), QT-1 涡旋混合器(上海琪特分析仪器有限公司)。

甲醇(德国 Merck 公司, 色谱级)、甲酸(美国 ROE 公司, 色

谱级), 其他试剂都为分析纯。苦参提取物(西安源森生物科技有限公司, 批准文号 Z20050058, 规格 10 mL)。氧化苦参碱(批号 2111-3255)、苦参碱(批号 0805-9804)对照品均购自中国食品药品检定研究院。

1.2 LC-MS/MS 条件

色谱柱: 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 流速 0.4 mL/min, 流动相 A 为 0.1 % 的甲醇-水溶液, 流动相 B 为 0.1 % 的甲酸-甲醇溶液。按浓度梯度洗脱(表 1)。进样量 10 μL , 运行时间 8 min。

质谱条件: ESI+ 源, MRM 模式, CUR: 20, CAD: Medium, Temp: 550 $^{\circ}\text{C}$, IS: 5000, Gas1: 60, Gas2: 55。

表 1 LC-MS/MS 的流动相梯度
Table 1 LC-MS/MS mobile phase gradient

Time (min)	A(%)	B(%)
0.01	90	20
1.5	90	20
4.0	5	98
6.0	5	98
6.01	90	20
8.0	90	20

表 2 样本质谱条件
Table 2 Sample mass spectrometry conditions

Name	MODE	Q1 Mass(Da)	ID	Q3 Mass(Da)	DP(V)	CE(V)
Matrine	ESI+	249.3	Matrine-1	148.1	100	46
Oxymatrine	ESI+	265.3	Oxymatrine-1	247.1	100	38

1.3 对照品溶液的制备

分别准确称取 10 mg 的苦参碱、氧化苦参碱对照品, 用甲醇溶解并定容至 10 mL, 然后再用甲醇逐级稀释成 500.0 ng/mL、50.0 ng/mL、5.0 ng/mL、0.5 ng/mL 的混合溶液, 密封于棕色瓶中, 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.4 标准品溶液的制备

取 900 μL 苦参提取物(是从植物苦参中提取的一种生物碱, 提取方法为水提醇法), 添加 100 μL 混合标准品, 混合后加入 2 mL 乙腈再摇匀, 涡旋 5 min, 静离心机 12000 r/min 离心 30 min, 吸取上清液 2 mL 吹干, 残渣用 500 μL 流动相溶解, 12000 r/min 离心 3 min, 取上清液 5 μL 进样, 进行 LC-MS/MS 分析。

1.5 性能学分析

(1)检出限: 将每个不同浓度的标准品浓度重复检测 5 次, 将同时满足变异系数 <15 %、检测偏倚 <10 % 的最低浓度值定为定量检出限。(2)线性方程: 将浓度为 100 ng/mL 的标准品稀释为 4 个浓度(80.0 ng/mL、60.0 ng/mL、40.0 ng/mL、20.0 ng/mL), 重复检测 3 次取均值, 计算线性相关系数, 绘制标准曲线, 标准曲线回归系数(r^2)>0.99 可判断为呈线性。(3)记录与测定苦参提取物中苦参碱、氧化苦参碱的重复性、稳定性、加样回收率结果。加样回收率=(加入标品后含量-样品含量)/加入标品量 $\times$ 100 %。重复性为多次测定是否能够得到相同的结果, 稳定性为测得结果与实际量间是否一致。

2 结果

2.1 方法学验证

LC-MS/MS 检测苦参提取物中苦参碱与氧化苦参碱的一级质谱图和二级质谱图显示, 苦参碱和氧化苦参碱的相对分子量为: 248.36、246.36。色谱图显示苦参碱与氧化苦参碱无干扰色谱峰, 各成分及内标峰形良好, 表明该方法专属性强, 见图 1。

2.2 方法线性范围、检出限和精密度

在 5 $\mu\text{g/L}$ ~500 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内, 苦参碱、氧化苦参碱均呈现良好的线性关系, 线性方程分别为 $y=6.10x-118.29$ 和 $y=18.29x-14.22$, 检出限都为 0.1 $\mu\text{g/L}$, 见表 3。

2.3 重复性、稳定性

配制标准品浓度分别为 1 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 和 10 $\mu\text{g/mL}$ 的样品, 采用 LC-MS/MS 连续进样测定 6 次, 苦参碱、氧化苦参碱的 RSD 值分别为 2.49 % 和 2.42 %。按照重复性试验配置标准品, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 于 0 h、6 h、12 h、24 h 取样测定, 苦参碱、氧化苦参碱的 RSD 值分别为 3.21 % 和 3.86 %, 见表 4。

2.4 加样回收率

在标准品中加入适量对照品配制成 1 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 和 20 $\mu\text{g/mL}$ 的样品进行 LC-MS/MS 分析, 苦参碱、氧化苦参碱的回收率在 94.59 % 和 102.10 % 范围内, RSD 值在 1.89 %~3.14 % 范围内, 见表 5。

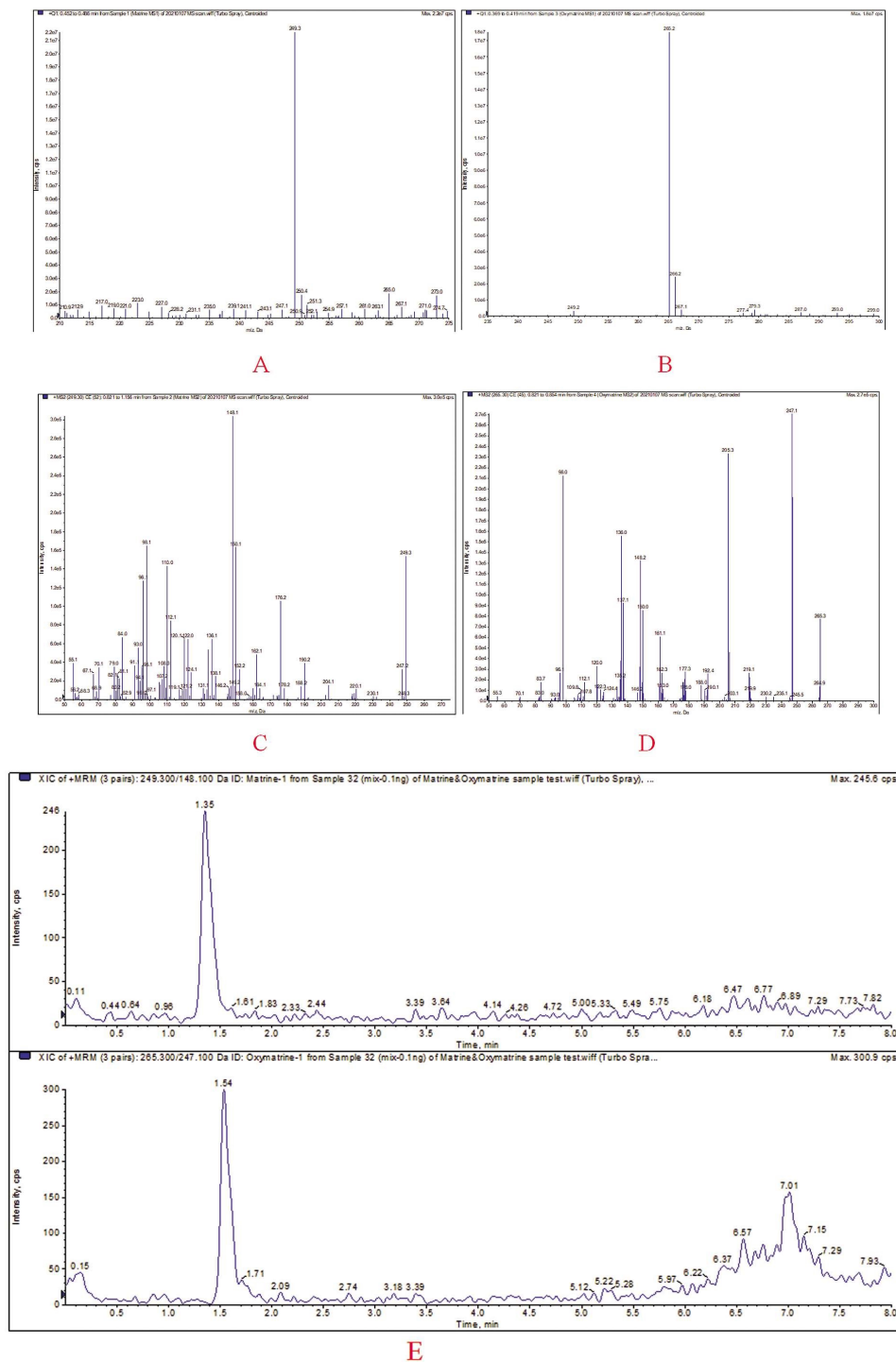


图 1 LC-MS/MS 检测苦参提取物色谱图

Fig.1 Chromatogram of *Sophora flavescens* extract detected by LC-MS/MS

注: A 苦参碱一级质谱图(m/z 249.3), B 氧化苦参碱一级质谱图(m/z 265.2), C 苦参碱二级质谱图(m/z 249.3 $\rightarrow$ 148.1), D 氧化苦参碱二级质谱图(m/z 265.3 $\rightarrow$ 247.1), E 混合溶液(20 $\mu\text{g/mL}$)色谱图(从上至下: 苦参碱、氧化苦参碱)。

Note: A matrine mass spectrum (m/z 249.3), B oxymatrine mass spectrum (m/z 265.2), C matrine mass spectrum (m/z 249.3 $\rightarrow$ 148.1), D oxymatrine secondary mass spectrum (m/z 265.3 $\rightarrow$ 247.1), E Chromatogram mixed solution (20 $\mu\text{g/mL}$) (from top to bottom: matrine, oxymatrine).

3 讨论

恶性肿瘤当前在人群中的发病率越来越高,特别是该病早期无明显症状和体征,而很多居民无定期体检与检查的习惯,容易出现漏诊,延误疾病治疗,导致在就诊时多处于中晚期,使得患者的预后不佳^[12]。中医药已经有数千年的抗癌历史,苦参

为豆科槐属植物,具有清热利湿、抑菌、抗肿瘤等多种作用,其化学成分包括挥发油类化合物、生物碱类、黄酮类、脂肪类、氨基酸类等,其活性物质主要是苦参碱、氧化苦参碱^[13,14]。苦参碱、氧化苦参碱在低浓度具有抗肿瘤作用和免疫调节作用,能抑制肿瘤细胞的增殖与迁移。如何提取与测定苦参中的苦参碱、氧化苦参碱对于苦参的应用和质量控制都具有重要价值^[15]。

表 3 苦参提取物中苦参碱、氧化苦参碱的标准曲线

Table 3 Standard curve of matrine and oxymatrine in Sophora flavescens extract

Active markers	Linear range ($\mu\text{g/L}$)	Linear equation	(R^2)	Detection limit ($\mu\text{g/L}$)
Matrine	5~500	$y=6.10x-118.29$	0.992	0.1
Oxymatrine	5~500	$y=18.29x-14.22$	0.997	0.1

表 4 苦参提取物中苦参碱、氧化苦参碱的重复性、稳定性结果

Table 4 Repeatability and stability results of matrine and oxymatrine in Sophora flavescens extract

Pilot projects	Matrine	Oxymatrine
Repeatability (RSD, %)	2.49	2.42
Stability (RSD, %)	3.21	3.86

表 5 苦参提取物中苦参碱、氧化苦参碱的加样回收率

Table 5 Sample recovery rate of matrine and oxymatrine in Sophora flavescens extract

Active markers	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery rate (%)	RSD(%)
Matrine	1	94.59	2.42
	5	96.01	1.89
	20	95.00	2.11
Oxymatrine	1	101.92	3.14
	5	100.83	1.89
	20	102.10	2.56

LC-MS/MS 是由恒流输液泵、质谱仪、进样器、色谱柱等组成,恒流泵以稳定的流速将流动相输送到分析体系,样品由进样器导入,在色谱柱与质谱仪中进行分析,然后将相关信号传送至数据系统进行处理^[16,17]。本研究显示 LC-MS/MS 检测苦参提取物中苦参碱与氧化苦参碱的一级质谱图和二级质谱图显示,苦参碱和氧化苦参碱的相对分子量为:248.36、246.36。色谱图显示苦参碱与氧化苦参碱无干扰色谱峰,各成分及内标峰形良好,表明该方法专属性强。

从苦参各个部位可分离出约几十种生物碱类化合物,多数是苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱,少数为氧化槐果碱、异槐果碱、槐胺碱等^[18,19]。苦参提取物可抑制多种恶性肿瘤细胞的增殖,并具有剂量与时间依赖性,也可抑制血管内皮生长因子的表达,具有抗肿瘤血管生成的作用^[20,21]。LC-MS/MS 可利用药物的母离子和特征碎片的质荷比进行检测,具有方法简单、准确、交叉干扰小、重现性好、检出限低等优势^[22,23]。本研究显示苦参碱、氧化苦参碱在 5~500 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内均呈良好的线性关系,线性方程分别为 $y=6.10x-118.29$ 和 $y=18.29x-14.22$,检出限都为 0.1 $\mu\text{g/L}$ 。与冯超^[24]等学者的研究类似,但是所用的方法不同,该学者主要是建立了灵敏、快速和高效的 LC-ESI-MS/MS 法测定 HepG2 细胞中苦参碱浓度,HepG2 细胞裂解液中苦参碱在 0.05~50.0 nmol/L 线性关系良好,最低定量限为 0.05 nmol/L。而本研究建立了基于 LC-MS 的苦参碱、氧化苦参碱检测方法,具有灵敏度与特异性高等特征。LC-MS/MS 也具有特异性高、抗干扰能力强、准确度高等优势,若与更灵敏的检测器联用,将有利于中药提取物中各种活性标记物的检测^[25,26]。

苦参提取的活性标记物成分复杂,苦参碱、氧化苦参碱在常规色谱柱上难以实现基线分离,也很难实现多种成分同时测定^[27,28]。LC-MS/MS 具有重复操作简单、重复性好、样本要求低

等优点,特别是该方法能够使样品与质谱基质液混合形成共结晶薄膜,使基质获得能量并发生电荷转移,样品分子发生电离,最后到达质谱检测器来检测离子,从而测得样品的分子量^[29,30]。本研究显示 LC-MS/MS 法测定苦参提取物中苦参碱、氧化苦参碱的重复性、稳定性、加样回收率 RSD 都 <5%。与谢小青^[31]等的研究类似,其建立了 LC-MS/MS 法测定人血浆中氧化苦参碱和苦参碱浓度,结果显示氧化苦参碱的线性范围为 4.99~998.0 ng/mL,最低定量浓度 4.99 ng/mL;苦参碱线性范围为 9.71~4 855.0 ng/mL,最低定量浓度 9.71 ng/mL。准确度、精密性(日内、日间)、提取回收率、基质效应以及稳定性(室温、冻存)均符合有关要求。分析其原因为 LC-MS/MS 法可有针对性地选择数据采集质谱信号,避免了常规色谱分离中紫外吸收弱、分离度差等缺陷,从而可进行小分子活性标记物的定量分析^[32,33]。本研究也存在一定的不足,选择的活性标记物比较少,且没有与其他色谱方法进行对照分析研究,将在后续研究中深入探讨。

总之,LC-MS/MS 法测定苦参提取物中苦参碱和氧化苦参碱的质量浓度具有可行性、高灵敏度、高特异性等优点,可用于苦参提取物的质量控制与评价,并为后续他人的研究提供关键试验参考条件。

参考文献(References)

- [1] Frederiksen H, Johannsen TH, Andersen SE, et al. Sex-specific Estrogen Levels and Reference Intervals from Infancy to Late Adulthood Determined by LC-MS/MS [J]. *Molecules*, 2020, 105(3): 754-768
- [2] Gámiz-Gracia L, García-Campaña AM, Arroyo-Manzanares N. Application of LC-MS/MS in the Mycotoxins Studies [J]. *Toxins* (Basel), 2020, 12(4): 114-118

- [3] Liu Y, Reinicke M. Tissue pretreatment for LC-MS/MS analysis of PUFA and eicosanoid distribution in mouse brain and liver[J]. *Thorac Cancer*, 2020, 412(10): 2211-2223
- [4] 林燕, 张华. 复方苦参注射液在晚期胃癌患者辅助化疗中的作用[J]. *川北医学院学报*, 2017, 32(3): 412-415
- [5] 蔡思龙, 段亚星. 苦参软膏对小鼠湿疹模型的治疗作用及免疫机制分析[J]. *中国中医急症*, 2020, 29(2): 236-240
- [6] 马纯芳, 孙桂兰, 张成玉, 等. 复方苦参注射液对肺癌合并肝硬化患者辅助性 T 细胞 17、调节性 T 细胞及相关细胞因子的影响[J]. *肿瘤研究与临床*, 2020, 32(1): 22-26
- [7] 李鹏帆, 罗月, 张玉丽, 等. 苦参及其复方治疗溃疡性结肠炎的作用机制研究进展[J]. *世界中医药*, 2020, 16(6): 945-948
- [8] Ló pez-Ferná ndez O, Domí nguez R. Determination of Polyphenols Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Technique (LC-MS/MS): A Review [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(6): 89-92
- [9] Ondrej M. Fractionation of Enriched Phosphopeptides Using pH/Acetonitrile-Gradient-Reversed-Phase Microcolumn Separation in Combination with LC-MS/MS Analysis [J]. *Biomolecules*, 2020, 21(11): 112-117
- [10] Posocco B, Buzzo M, Poetto AS, et al. Simultaneous quantification of palbociclib, ribociclib and letrozole in human plasma by a new LC-MS/MS method for clinical application [J]. *PLoS One*, 2020, 15(2): e0228822
- [11] Tahziz A, Mohamad Haron DE, Aziz MY. Liquid Chromatographic Tandem Mass Spectrometric (LC-MS/MS) Determination of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoic Acid (PFOA) in the Yolk of Poultry Eggs in Malaysia [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 25(10): 223-229
- [12] Tang X, Chen H, Chen G, et al. Validated LC-MS/MS method of Sphingosine 1-phosphate quantification in human serum for evaluation of response to radiotherapy in lung cancer [J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(6): 1443-1452
- [13] Hao Y, Zhang N, Wei N, et al. Matrine induces apoptosis in acute myeloid leukemia cells by inhibiting the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(3): 2891-2896
- [14] 陈显韬, 陈玉川, 祝琦, 等. 苦参汤加减漏渍联合红外线照射防治混合痔术后并发症临床观察[J]. *河北中医*, 2020, 42(1): 54-56, 62
- [15] 闫德祺, 高玉松, 罗新铭, 等. 加味当归贝母苦参丸辅助治疗胶质母细胞瘤的临床观察 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2020, 29(12): 1315-1318
- [16] Yuan TF, Le J, Wang ST, et al. An LC/MS/MS method for analyzing the steroid metabolome with high accuracy and from small serum samples[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 61(4): 580-586
- [17] Virág D, Király M, Drahos L, et al. Development, validation and application of LC-MS/MS method for quantification of amino acids, kynurenine and serotonin in human plasma[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 180(12): e113018
- [18] Jiang WW, Wang YM, Wang XY, et al. Role and mechanism of matrine alone and combined with acitretin for HaCaT cells and psoriasis-like murine models [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2019, 132(17): 2079-2088
- [19] Li Q, Zhang S, Wang M, et al. Downregulated miR-21 mediates matrine-induced apoptosis via the PTEN/Akt signaling pathway in FTC-133 human follicular thyroid cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(4): 3553-3560
- [20] Shi J, Han X, Wang J, et al. Matrine prevents the early development of hepatocellular carcinoma like lesions in rat liver[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(4): 2583-2591
- [21] Tanabe N, Kuboyama T, Tohda C. Matrine promotes neural circuit remodeling to regulate motor function in a mouse model of chronic spinal cord injury[J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(11): 1961-1967
- [22] Vitalini S, Dei Cas M. LC-MS/MS-Based Profiling of Tryptophan-Related Metabolites in Healthy Plant Foods [J]. *Molecules*, 2020, 25(2): 99-104
- [23] Yan T, Hu K, Ren F, et al. LC-MS/MS Profiling of Post-Transcriptional Modifications in Ginseng tRNA Purified by a Polysaccharase-Aided Extraction Method [J]. Available via license, 2020, 10(4): 135-138
- [24] 冯超, 刘筱滢, 孙晓敏, 等. LC-ESI-MS/MS 测定苦参碱及其在 HepG2 细胞模型中的摄取特性 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 18(1): 89-93
- [25] Klijnstra MD, Gerssen A. A Sensitive LC-MS/MS Method for Palytoxin Using Lithium Cationization [J]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10(12): 998-1004
- [26] Pascale M, De Girolamo A, Lippolis V, et al. Performance Evaluation of LC-MS Methods for Multimycotoxin Determination [J]. *J AOAC Int*, 2019, 102(6): 1708-1720
- [27] Wang Y, Zhang S, Liu J, et al. Matrine inhibits the invasive and migratory properties of human hepatocellular carcinoma by regulating epithelial mesenchymal transition [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(1): 911-919
- [28] Zhao L, Zhang X, Cui S. Matrine inhibits TPC-1 human thyroid cancer cells via the miR-21/PTEN/Akt pathway[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3): 2965-2970
- [29] Chan K, Wang W, Ledesma KR, et al. A robust LC-MS/MS method for amikacin: application to cellular uptake and pharmacokinetic studies[J]. *Bioanalysis*, 2020, 12(7): 445-454
- [30] Coliva G, Lange M, Colombo S, et al. Sphingomyelins Prevent Propagation of Lipid Peroxidation-LC-MS/MS Evaluation of Inhibition Mechanisms[J]. *Molecules*, 2020, 25(8): 111-114
- [31] 谢小青, 马晓亮, 刘婷立, 等. LC-MS/MS 法测定人血浆中氧化苦参碱和苦参碱的浓度[J]. *中国新药杂志*, 2011, 20(18): 1783-1786
- [32] Dorow J, Bischof K, Leyh J, et al. A novel accurate LC-MS/MS method for quantitative determination of Z-lumirubin [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 10(1): e4411
- [33] Fedorova M, Ul Haq F, Ali A, et al. A high-throughput method for dereplication and assessment of metabolite distribution in *Salvia* species using LC-MS/MS[J]. *Molecules*, 2020, 24(9): 79-90