

文章编号:1001-6880(2018)Suppl-0075-06

夹竹桃根强心苷成分的 UPLC-QTOF/MS 鉴定

王金昌¹, 吴 磊², 马广强³, 斯 亮^{1*}¹江西省科学院微生物研究所; ²江西省科学院应用化学研究所, 南昌 330096;³江西中医药大学生命科学学院, 南昌 330004

摘要:夹竹桃是一种传统药材。为了评价其临床安全性的目的,我们利用超高效液相色谱分离-四极杆飞行时间质谱鉴定夹竹桃根的生物活性物质,结果我们发现了 22 种强心苷类成份,给出了它们结构,其中 13 个化合物为首次在夹竹桃属报道。超高效液相色谱与四极杆飞行时间质谱联用是一种分离和鉴定等中草药生物活性物质的有效技术。

关键词:夹竹桃;生物活性物质;超高效液相色谱,四极杆飞行时间质谱

中图分类号:Q949.95

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.S.010

Identification of Cardiac Glycosides from the Root of *Nerium indicum* Mill. by UPLC-QTOF/MS

WANG Jin-chang¹, WU Lei², MA Guang-qiang³, JIN Liang^{1*}¹ Institute of Microbiology, Jiangxi Academy of Sciences;² Institute of Applied Chemistry, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330096, China;³ College of Life Sciences, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: *Nerium indicum* Mill. was used in traditional medicines around the world, particularly in Asia. To identify the bioactive substances and evaluate the safety of *N. indicum* for clinical purpose, we characterised the root of *N. indicum* using ultra performance liquid chromatography separation coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS), and 22 cardiac glycosides were found as the main components. Their possible structures were given. Among the 22 compounds, 13 compounds were reported for the first time in *Nerium* genus. In conclusion, the UHPLC-QTOF/MS method is useful and efficient technique to separate and identify possible chemical compounds in complex matrices of herbal medicines such as *N. indicum*.

Key words: *Nerium indicum* Mill.; bioactive compound; ultra-performance liquid chromatography; quadrupole time-of-flight mass spectrometry

夹竹桃属于夹竹桃科,一个大的分枝灌木,分布在中国、日本和印度,常野生和作为园林观赏植物。夹竹桃的根、花、皮和叶,做为传统药物,一直用于治疗皮肤疾病和伤口感染,并作为解毒剂,抗麻风病药、催吐、祛痰和喷嚏性毒剂^[1,2]。化学成分及药理活性的研究已经证实,强心苷是夹竹桃的主要活性成分,这些化合物具有强心、利尿、抗癌、抗菌、细胞毒、抗血小板聚集、抗炎、保肝、降血脂、抗溃疡、中枢神经系统抑制性能^[3-7]。人们认为草药含有许多活性化合物,它们负责各种生物活性。因此,开发一种

可靠的快速检测和鉴定多种生物活性化合物的方法具有重要的意义。

近年来,超高效液相色谱法 (UPLC)-四极杆飞行时间质谱 (QTOF-MS) 已用于成分分析和多种天然产物化合物定量^[8-10]。与普通的的质谱 (MS) 系统相比,QTOF-MS 能得到大量的更准确和精度高的信息。在线的超高效液相色谱与四极杆飞行时间质谱联用已用于结构分析,因为它能迅速提供丰富的结构信息和大量精确的特征碎片离子^[11]。高通量的天然产品筛选解决方案使用自动化数据处理和数据库,可以确定天然产物提取物中的已知和未知的化学成分。

本研究利用超高效液相色谱法 (UPLC)-四极杆飞行时间质谱 (QTOF-MS) 鉴定了夹竹桃根的甲醇

收稿日期:2018-07-18 接受日期:2018-08-23

基金项目:江西省科学院产学研项目(2018-YCHY-10)

*通信作者 Tel:86-79188176971; E-mail:Jinliang079@163.com

提取物。本研究结果将加深对夹竹桃该中药作用机制的认识，并可用于发现潜在的候选药物。

1 材料与试剂

夹竹桃根，收集自江西南昌，放置于江西省科学院阴干。色谱级乙腈和甲酸购置于中国医药集团化学试剂有限公司，所有其他的分析级试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。

2 样品的制备

夹竹桃根阴干后，磨成细粉，-20 °C 存储。2.00 g 根的粉末样品用 20 mL 95% 甲醇超声萃取 30 min，提取液经 0.22 μm 过滤器过滤。2 μL 滤液注入 UPLC-QTOF-MS 系统，进行分析。

3 超高效液相色谱条件

超高效液相色谱法是利用岛津 LC-30A 系统完成(日本岛津公司,东京,日本)。色谱柱是 Acchroma Unitary C₁₈ 柱 (150 × 2.1 mm, 2.8 μm)。流动相是 A(水和 0.1% 甲酸)和 B(乙腈和 0.1% 甲酸)的混合物。洗脱过程:5% B (0 ~ 0.01 min), 5~25% B (0.01 ~ 10 min), 25% ~ 50% B (10 ~ 13 min), 50% ~ 90% B (13 ~ 38 min), 90% B (5 min), 5% B (2 min)。流速为 0.6 mL/min, 柱温 40 °C。

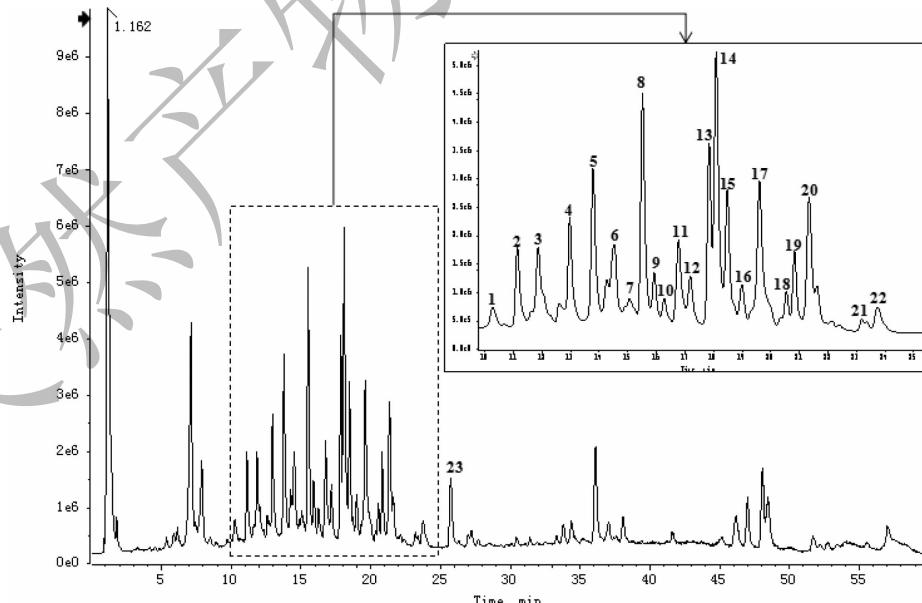


图 1 夹竹桃根的负离子 UPLC-MS 基峰强度色谱图

Fig. 1 UPLC-MS base peak intensity chromatograms of *Nerium indicum* roots in negative

注：峰值数对应于表 1 中列出的值

Note: The peak numbers correspond to that listed in Table 1

4 MS 条件

MS 是使用 AB Sciex Triple TOF 5600⁺ (AB Sciex Corporation, Boston, MA) 执行。MS 是在下列条件下在负离子模式下的电喷雾电离进行：毛细管电压 4.5 kV；采样锥电压 25 V；萃取锥电压 4 V；离子源温 120 °C；脱溶剂温度 450 °C。氮气作为锥孔反吹气体和脱溶剂气体，流速分别为 50, 900 L/h。两次扫描的离子扫描范围：50 ~ 1 000 (*m/z*)。第一次扫描设定为 6 V，和第二扫描递度为 20 到 45 V。用 Analyst TF 1.6 软件收集数据和用 Triple TOFTM 5600 (AB SCIEX) 进行数据分析。

5 结果与分析

在做质谱分析时，为了获得所有组件的良好响应，对气体流量、气体压力、喷雾电压、毛细管温度和入口进行了优化。通过比较保留时间、准确分子量和碎裂的质谱特性离子，以及与已发表化合物的经验分子公式相匹配，确定了夹竹桃根的甲醇提取物各组分。在全扫描质谱鉴定的化合物主要以 [M-H]⁻ 和 [M + COOH]⁻ 离子。夹竹桃根的甲醇提取物总离子色谱图如图 1 所示。鉴定化合物的保留时间、分子量、碎片离子和母体离子见表 1，其结构见图 2 和表 3、表 4 所示。

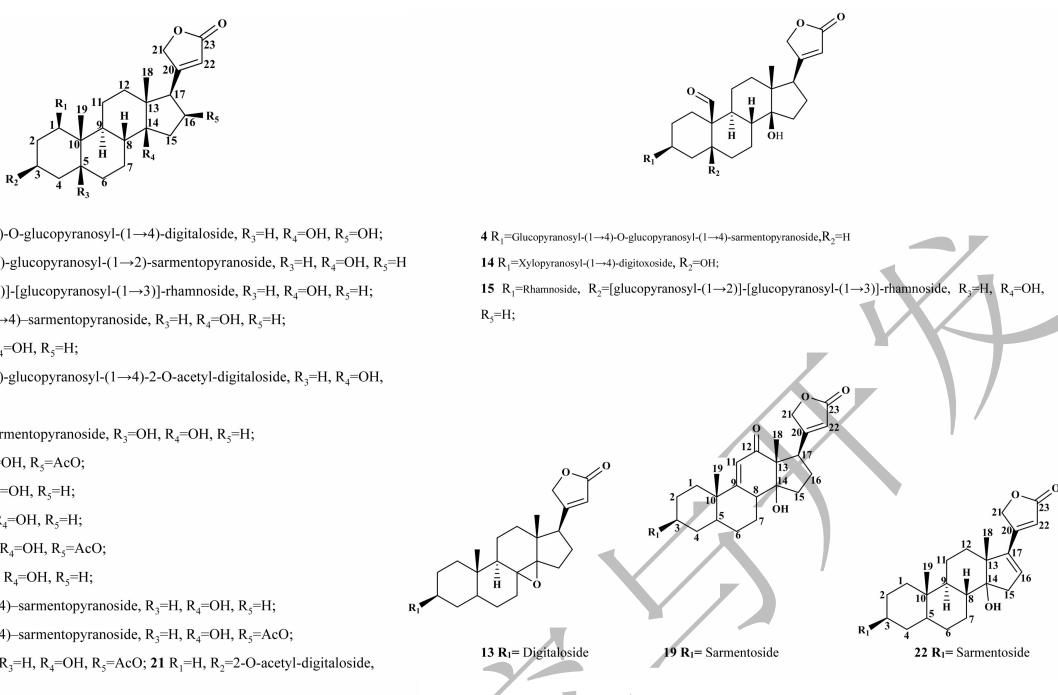


图 2 夹竹桃根中鉴定的 22 种化合物的化学结构

Fig. 2 Chemical structures of 22 compounds identified in *N. indicum* roots extract

表 3 UPLC-QTF-MS 鉴定夹竹桃根中根提取物中的强心苷类化合物

Table 3 Identification of cardiac glycosides from *N. indicum* root extracts by UPLC - QTOF-MS

组别 No.	保留时间 <i>t_R</i> (min)	鉴定物质 Identification	建议离子 Proposal Ions	负离子核质比 Negative ion (<i>m/z</i>)	错误率 Error (ppm)	分子式 Compound Formula	碎片离子 Fragment ions (<i>m/z</i>)
1 *	10.35	Gitoxigenin 3-[<i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1→4)- <i>O</i> -glucopyranosyl(1→4)- β -D-digitaloside]	[M-H] ⁻	873.41303	0.5	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₉	827.289 2, 791.381 7, 695.376 5, 473.126 5, 440.883 3, 339.118 1
2 *	11.21	Digitoxigenin 3-[<i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1→6)- <i>O</i> -glucopyranosyl(1→2)- β -D-digitaloside]	[M-H] ⁻	857.41768	0	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₈	811.411 3, 679.368 0, 517.316 0, 293.087 8, 233.066 0, 161.0479
3 *	11.94	Digitoxigenin 3-{[<i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1→2)][<i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1→3)]-rhamnoside}	[M + COOH] ⁻	889.40708	0.8	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₈	843.400 2, 681.343 5, 519.299 9, 323.097 5, 179.055 2
4 *	13.07	3-[<i>O</i> - β -D-Glucopyranosyl-(1→4)- <i>O</i> -glucopyranosyl(1→4)- β -D-sarmentopyranoside]-14-hydroxy-19-oxo- <i>card-20(22)</i> -enolide	[M + COOH] ⁻	901.40765	1.4	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₈	855.400 8, 693.349 0, 675.341 2, 531.295 2, 323.097 7, 221.066 5, 179.058 2, 161.0469
5 *	13.89	1-Acetoxy-3-[<i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1→4)- β -D-digitaloside]-14-hydroxy- <i>card-20(22)</i> -enolide	[M + COOH] ⁻	799.37602	1.7	C ₃₈ H ₅₈ O ₁₅	753.368 0, 739.352 8, 693.347 1, 675.336 1, 513.284 1, 161.0470
6 *	14.49	3- <i>O</i> - β -D-diginoside-1, 14-dihydroxy- <i>card-20(22)</i> -enolide	[M + COOH] ⁻	595.3117	0.7	C ₃₀ H ₄₆ O ₉	549.305 4, 531.295 0, 513.285 3, 505.280 1, 371.222 1, 353.210 2, 249.185 7, 145.053 9, 127.042 9, 121.033 0
7	15.24	Acetylthevetin B	[M + COOH] ⁻	945.43391	1.4	C ₄₄ H ₆₈ O ₁₉	899.429 1, 881.419 2, 863.406 6, 839.405 9, 821.395 4, 803.385 5, 659.342 6

续表3(Continued Tab. 3)

组别 No.	保留时间 <i>t_R</i> (min)	鉴定物质 Identification	建议离子 Proposal Ions	负离子核质比 Negative ion (<i>m/z</i>)	错误率 Error (ppm)	分子式 Compound Formula	碎片离子 Fragment ions (<i>m/z</i>)
8	15.69	Periplogenin-3-[<i>O</i> - β -D-digitoxosyl-(1→4)-sarmentonpyranoside]	[M + COOH] ⁻	741.36981	0.8	C ₃₆ H ₅₆ O ₁₃	695.3624, 533.3095, 161.0475
9	15.99	Neritaloside	[M + COOH] ⁻	637.32227	0.7	C ₃₂ H ₄₈ O ₁₀	591.3178, 577.2291, 531.2952, 513.2840, 353.2107
10	16.13	Odoroside H	[M + COOH] ⁻	579.31639	0	C ₃₀ H ₄₆ O ₈	534.533.3083, 515.3031, 373.2349, 127.0423
11	16.89	Odoroside A	[M + COOH] ⁻	563.32163	0.3	C ₃₀ H ₄₆ O ₇	517.3174, 499.3036, 485.3345
12	17.23	Oleandrin	[M-H] ⁻	575.72	0.3	C ₃₂ H ₄₈ O ₉	575.3324, 562.3132, 518.3123, 502.3210, 340.2611
13	17.96	Adynerin	[M + COOH] ⁻	514.698	-0.8	C ₃₀ H ₄₄ O ₇	515.2994, 497.2972, 489.2731
14 *	18.18	(3 β ,5 β)-3-[2,6-Dideoxy-4-O-(β -D-xylopyranosyl)- β -D-ribo-hexopyranosyl]oxy]-5,14-dihydroxy-19-oxocard-20(22)-enolide	[M + COOH] ⁻	666.325134	0.9	C ₃₄ H ₅₀ O ₁₃	655.4760, 533.2750, 371.2227, 251.0769, 149.0458
15 *	18.43	(3 β ,5 β ,8 ξ ,9 ξ)-3-[6-Deoxy- α -D-glycero-hexopyranosyl]oxy]-14-hydroxy-19-oxocard-20(22)-enolide	[M + COOH] ⁻	534.282898	0.7	C ₂₉ H ₄₂ O ₉	533.2721, 371.2221, 207.0651, 169.0449
16 *	19.10	(1 β ,3 β ,5 β ,8 ξ ,9 ξ)-3-[6-Deoxy-3-O-methyl- β -L-glycero-hexopyranosyl]oxy]-1,14-dihydroxycard-20(22)-enolide	[M + COOH] ⁻	550.314209	1.3	C ₃₀ H ₄₆ O ₉	549.3050, 531.2944, 513.2829, 505.2785, 389.2279, 249.1835, 127.0389
17 *	19.68	(3 β ,5 β)-3-[2,6-Dideoxy-4-O-(β -D-glucopyranosyl)-3-O-methyl- β -D-ribo-hexopyranosyl]oxy]-14-hydroxycard-20(22)-enolide	[M + COOH] ⁻	680.377197	1.8	C ₃₆ H ₅₆ O ₁₂	679.3701, 517.3179, 161.0474
18 *	20.53	(3 β ,5 β ,16 β)-16-Acetoxy-3-[2,6-dideoxy-4-O-(β -D-glucopyranosyl)-3-O-methyl- α -L-arabino-hexopyranosyl]oxy]-14-hydroxycard-20(22)-enolide	[M + COOH] ⁻	738.382629	1.1	C ₃₈ H ₅₈ O ₁₄	737.3739, 723.3584, 677.3541, 659.3424, 497.2894
19 *	20.89	(3 β ,5 β)-3-[2,6-Dideoxy-3-O-methyl- β -D-xylo-hexopyranosyl]oxy]-14-hydroxy-12-oxocarda-9(11),20(22)-dienolide	[M + COOH] ⁻	530.287964	1	C ₃₀ H ₄₂ O ₈	529.2796, 483.2733, 369.2060, 351.1953, 145.0502, 127.0432
20	21.32	Oleandrinogeninsarmenoside	[M + COOH] ⁻	592.324768	0.7	C ₃₂ H ₄₈ O ₁₀	591.3152, 577.2990, 573.3012, 547.2928, 531.2961, 513.2852, 497.2585, 353.2122, 337.1811, 105.0219, 575.3240, 561.3086, 557.3162, 531.3081, 517.3081, 515.3004, 497.2905, 485.3233, 481.2621, 353.2170
21	23.25	Cerberin	[M + COOH] ⁻	576.329834	1.4	C ₃₂ H ₄₈ O ₉	531.3029, 513.2851, 495.2748, 487.3045, 485.2887, 351.1965, 161.0637
22 *	23.78	3-[6-Deoxy-3-O-methylhexopyranosyl]oxy]-14-hydroxycarda-16,20(22)-dienolide	[M + COOH] ⁻	532.303589	-1.9	C ₃₀ H ₄₄ O ₈	

注: *首次报道。

Note: * first report from the genus Nerium.

峰 2 离子谱图中, m/z 857.41768 为一个加合离子 [$M-H$]⁻, 分子式为 $C_{42}H_{66}O_{18}$ 。MS/MS 谱图中, m/z 811.4113 为去质子化的分子离子 [$M-H-15(CH_3)-31(OCH_3)$]⁻。此外, m/z 679.3680 和 517.3160, 为从准分子离子连续失去两个葡萄糖单位产生的两个特征信号。通过与文献的比较^[12], 峰 2 初步鉴定为洋地黄毒苷配基 3-[$O-\beta-D$ -glucopyranosyl-(1→6)- O -glucopyranosyl(1→2)- β -D-digitaloidse]。

峰 4 离子谱图中, m/z 901.4089 为一个加合离子 [$M+COOH$]⁻, 分子式为 $C_{42}H_{64}O_{18}$ 。MS/MS 谱图中显示主要碎片离子在 m/z 693.3490 和 531.2952, 是从 m/z 856.4035 去质子化的分子离子 [M]⁺ 通过连续损失两个葡萄糖单位而产生的, 这过程与峰 2 产生的过程的类似。通过与文献的比较^[13], 峰 4 为夹竹桃苷衍生物, 命名为 3-[$O-\beta-D$ -glucopyranosyl-(1→4)- O -glucopyranosyl(1→4)- β -D-sarmentonopyranoside]-14-hydroxy-19-oxocard-20(22)-enolide。

峰 18 离子谱图中, m/z 783.3804 为一个加合离子 ($[M+COOH]$)⁻, m/z 737.3739 为去质子化的分子离子 [$M-H$]⁻。在 MS/MS 谱图中, m/z 723.3584 为去质子化的分子离子 [$M-15(CH_3)$]⁻ 和 m/z 677.3541 是 [$M-H-59(CH_3COO)$]⁻。一个主要的碎片离子 m/z 497.2894 是由去质子化的分子离子 m/z 677.3541 失去葡萄糖单元产生的。通过与文献的比较^[14], 峰 18 被初步确定为 ($3\beta, 5\beta, 16\beta$)-16-acetoxy-3-{[2, 6-dideoxy-4- O -(β -D-glucopyranosyl)-3- O -methyl- α -L-arabino-hexopyranosyl]oxy}-14-hydroxycard-20(22)-enolide。

峰 19 离子谱图中, m/z 575.2859 为一个加合离子 [$M+COOH$]⁻ 和 m/z 529.2796 为一个去质子化的分子离子 [$M-H$]⁻。在 MS/MS 谱图中, 一个去质子化的分子离子 m/z 485.2892 是 [$M-H-44(COO)$]⁻ 和另一个去质子化的分子离子 m/z 483.2733 是 [$M-H-15(CH_3)-31(OCH_3)$]⁻。一个主要碎片离子 m/z 369.2069 是由一个 m/z 529.2796 的去质子化的分子失去沙门托西甙单位而产生的。通过与文献的比较^[15], 峰 19 确定为 ($3\beta, 5\beta$)-3-[(2, 6-dideoxy-3- O -methyl- β -D-xylo-hexopyranosyl)oxy]-14-hydroxy-12-oxocarda-9(11), 20(22)-dienolide。

通过与文献的比较^[16-20], 以下峰也被鉴定出来: 峰 1 为羟基洋地黄毒甙 3-[$O-\beta-D$ -吡喃吡喃基-(1→4)- O -吡喃吡喃基(1→4)- β -D-洋地黄甙]; 峰 3 为洋地黄皂甙元 3-{[$O-\beta-D$ -吡喃葡萄糖基-(1→

2)]-[$O-\beta-D$ -吡喃吡喃基-(1→3)]-鼠李糖甙}; 峰 5 为 1-乙酰氧基-3-($O-\beta-D$ -吡喃葡萄糖基-(1→4)- β -D-洋地黄甙-14-羟基-20(22)-烯醇内酯; 峰 6 为 3- $O-\beta-D$ -葡萄糖甙-1; 峰 7 为乙酰水杨酸 B; 峰 8 为杠柳皂甙-3-[$O-\beta-D$ -洋地黄甙-(1→4)-山梨糖甙]; 峰 9 为橙花甙; 峰 10 为苦参甙 H; 峰 11 为苦参甙 A; 峰 12, 夹竹桃甙; 峰 13 为欧夹竹桃甙乙; 峰 14 为 ($3\beta, 5\beta$)-[2, 6-二脱氧-4-(β -D-木聚吡喃基)- β -D-核糖-6-吡喃基]氧肟-5-, 14-二羟基-19-氧代-20(22)-烯醇化物; 峰 15 为 3 [(6-脱氧- α -D-甘油-6-吡喃甲酰基) 氧]-14-羟基-19-氧代-20(22)-烯醇化物; 峰 16 为 3 [(6-脱氧-3-甲基- β -L-甘油-6-吡喃基) 氧]-1, 14-二羟基卡达(22)-烯醇内酯; 峰 17 为 3-{[2, 6-二氧基-4-氧基-(β -D-吡喃吡喃基)-3-O-甲基- β -D-核糖-6-吡喃基]氧肟-14-羟基-20(22)-烯醇化物; 峰 20 为夹竹桃皂甙; 峰 21 为海芒果毒素; 和峰 22 为 3-[(6-脱氧-3-O-甲基己基吡喃基) 氧基]-14-羟卡达-16, 20(22)-二烯醇。在这 22 种化合物中, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 14, 15, 16, 17, 18, 19 和 22 等 13 种化合物为首次在夹竹桃根中报道。

6 结论

本实验采用 UPLC-QTOF-MS 负离子扫描模式来鉴定夹竹桃根的化学成分。鉴定出 22 个化合物, 其中大部分为强心甙。同时其中 13 种化合物在夹竹桃属首次检测到。该方法可用于已知化合物的表征, 也可用于寻找新的化合物, 用于核磁共振波谱研究。

参考文献

- Benson KF, Newman RA, Jensen GS. Antioxidant, anti-inflammatory, anti-apoptotic, and skin regenerative properties of an Aloe vera-based extract of Nerium oleander leaves (nae-8°) [J]. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 2015, 8:239-248.
- Dey P, Chaudhuri TK. Immunomodulatory activity of Nerium indicum through inhibition of nitric oxide and cyclooxygenase activity and modulation of TH1/TH2 cytokine balance in murine splenic lymphocytes [J]. *Cytotechnology*, 2016, 68:749-761.
- Hussain MA, Gorski MS. Antimicrobial activity of Nerium oleander Linn [J]. *Asian J Plant Sci*, 2004, 3:177-180.
- Govind P, Saurabh J. Antiulcer activity of Nerium indicum in rats [J]. *Res J Pharmacol*, 2010, 4:66-68.
- Nitave MSA, Patil MVA. Comparative evaluation of anthelmintic activity of Nerium indicum, mill flower extract and punica granatum, linn peel and seed extract in 1:1 ratio and

- their phytochemical screening [J]. *World J Pharm Pharm Sci*, 2014, 3:1438.
- 6 Dey P, Chaudhuri TK. Pharmacological aspects of *Nerium indicum* Mill: a comprehensive review [J]. *Pharmacogn Rev*, 2014, 8:156-162.
- 7 Ghate NB, Chaudhuri D, Panja S, et al. *Nerium indicum* leaf alleviates iron-induced oxidative stress and hepatic injury in mice [J]. *Pharm Biol*, 2015, 53:1066-1074.
- 8 Zhong YM, Feng YF, Wu X, et al. Rapid identification of coumarins from *Fructus citri sarcodactylis* by UPLC/QTOF-MS [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 29:53-58.
- 9 Yan T, Hu GS, Wang AH, et al. Characterisation of proanthocyanidins from *Schisandra chinensis* seed coats by UPLC-QT-OF/MS [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28:1834-1842.
- 10 Ling Y, Fu Z, Zhang Q, et al. Identification and structural elucidation of steroid saponins from the root of *Paris polyphylla* by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29:1798-1803.
- 11 Deng L, Shi AM, Liu HZ, et al. Identification of chemical ingredients of peanut stems and leaves extracts using UPLC-QTOF-MS coupled with novel informatics UNIFI platform [J]. *Mass Spectrom*, 2016, 51:1157-1167.
- 12 Rashan LJ, Franke K, Khine MM, et al. Characterization of the anticancer properties of monoglycosidic cardenolides isolated from *Nerium oleander* and *Streptocaulon tomentosum* [J]. *Ethnopharmacol*, 2011, 134:781-788.
- 13 Chakraborty S, Chelli VR, Das RK, et al. Bio-mediated silver nanoparticle synthesis: mechanism and microbial inactivation [J]. *Toxicol Environ Chem*, 2017, 99:434-447.
- 14 Al-Snafi AE. The contents and pharmacological importance of *Crochorus capsularis*-a review [J]. *IOSR J Pharm*, 2016, 6: 58-63.
- 15 Kumar A, De T, Mishra A, et al. Oleandrin: A cardiac glycosides with potent cytotoxicity [J]. *Pharmacogn Rev*, 2013, 7: 131.
- 16 Huq MM, Jabbar A, Rashid MA, et al. A novel antibacterial and cardiac steroid from the roots of *Nerium oleander* [J]. *Fitoterapia*, 1999, 70:5-9.
- 17 Zhao M, Bai L, Wang L, et al. Bioactive cardenolides from the stems and twigs of *Nerium oleander* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70:1098-1103.
- 18 Sharma P, Choudhary AS, Parashar P, et al. Chemical constituents of plants from the genus *Nerium* [J]. *Chem Biodivers*, 2010, 7:1198-1207.
- 19 Kiran C. A Review on: *Nerium oleander* Linn. (Kaner) [J]. *Int J Pharmacogn Phytochemical Research*, 2014, 6: 593-597.
- 20 Liu QY, Wang F, Zhang L, et al. A hydroxylated lupeol-based triterpenoid ester isolated from *Scurrula parasitica* Parasitic on *Nerium indicum* [J]. *Helv Chim Acta*, 2015, 98:627-632.

(上接第 156 页)

- 26 Wang H, Bussy U, Chung-Davidson YW, et al. Ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for simultaneous determination of natural steroid hormones in sea lamprey (*Petromyzon marinus*) plasma and tissues [J]. *J Chro/B Anal Tech in the Bio & Life Sci*, 2016, 1009-1010: 170-178.
- 27 Demling RH. The role of anabolic hormones for wound healing in catabolic states [J]. *J Burn & Wou*, 2005, 4(4):e2.

- 28 Woz' Niak B. Steroid hormones-properties, application, residues in food of animal origin [J]. *Med Wete*, 2010, 66:177-181.
- 29 Seo J, Kim HY, Chung BC, et al. Simultaneous determination of anabolic steroids and synthetic hormones in meat by freezing-lipid filtration, solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chro A*, 2005, 1067: 303-309.