

超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用法同时测定蒙药全石榴、中药石榴皮及新鲜石榴中7种成分

王常喜, 岳丽丽, 许海燕, 乌妮尔, 黄 燕, 张海鹏, 高 杰, 马超美*

(内蒙古大学生命科学学院, 内蒙古 呼和浩特 010021)

摘 要: 采用超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用法, 同时检测蒙药全石榴皮及籽、中药石榴皮、鲜石榴皮及籽中诃子鞣质A、诃子鞣质B、诃子裂酸、五没食子酰葡萄糖、鞣料云实素、诃黎勒酸和没食子酸7种成分。选用表儿茶素-4-乙酰半胱氨酸作为内标。石榴样品经粉碎用甲醇(含内标液)溶液超声提取, 采用ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈柱(2.1 mm×50 mm, 1.8 μm), 以甲醇-0.1%甲酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 以电喷雾离子源, 采用超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用动态多反应监测模式测定。结果表明, 7种成分检出限均小于0.013 5 μg/mL, 定量限均小于0.054 2 μg/mL, 在0.003 4~13.875 0、0.013 5~13.875 0、0.003 4~13.875 0、0.216 8~55.500 0、0.867 2~55.500 0、0.216 8~55.500 0、0.003 4~13.875 0 μg/mL范围内, 峰面积与质量浓度呈良好线性关系, 相关系数均大于0.99; 方法回收率为99.44%~105.54%; 其日内及日间精密度的相对标准偏差分别为0.11%~0.95%和0.14%~1.21%。该方法灵敏度高、稳定性强、操作简便、快捷、准确, 可用于蒙药全石榴、中药石榴皮、鲜石榴及其相关食品药品的质量控制。

关键词: 石榴; 全石榴; 石榴皮; 超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用; 同时测定

Simultaneous Quantification of 7 Components in Different Parts of *Punica granatum* Fruits Using Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Triple Quadrupole Mass Spectrometry (UPLC-QQQMS)

WANG Changxi, YUE Lili, XU Haiyan, UNEER, HUANG Yan, ZHANG Haipeng, GAO Jie, MA Chaomei*

(School of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

Abstract: An ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-QQQMS) method was developed and validated to simultaneously determine seven constituents including chebumeinin A, chebumeinin B, chebulic acid, pentagalloyl glucose, corilagin, chebulagic acid and gallic acid in dried whole pomegranate (containing peels and seeds, a traditional Mongolian medicinal material), dried pomegranate peels (a traditional Chinese medicinal material), and fresh pomegranate peels and seeds (*Punica granatum* L.). 4β-(L-acetylcysteinyl)-epicatechin was used as an internal standard for the quantification. The internal standard was added to methanol before being used to extract samples. The separation was performed on an Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ column (2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm) with methanol-0.1% formic acid as the mobile phase at a flow rate of 0.4 mL/min. As a result, the linear ranges of chebumeinin A, chebumeinin B, chebulic acid, pentagalloyl glucose, corilagin, chebulagic acid and gallic acid were 0.003 4~13.875 0, 0.013 5~13.875 0, 0.003 4~13.875 0, 0.216 8~55.500 0, 0.867 2~55.500 0, 0.216 8~55.500 0, and 0.003 4~13.875 0 μg/mL, respectively, with correlation coefficients higher than 0.99. The average recovery rate of the developed method ranged from 99.44% to 105.54% and the intra-day and inter-day relative standard deviations (RSDs) were 0.11%~0.95% and 0.14%~1.21%, respectively. This method is sensitive, simple, fast, and accurate, and can be used for the quality control of pomegranate for medicinal use and related food products or pharmaceuticals.

Key words: *Punica granatum*; whole pomegranate; pomegranate peel; ultra-high-performance liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-QQQMS); simultaneous determination

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201604025

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2016)04-0139-05

收稿日期: 2015-06-05

基金项目: 内蒙古大学校级大学生创新创业训练计划资助项目(201414199); 高等学校博士学科点专项(#20131501110008)

作者简介: 王常喜(1994—), 男, 本科生, 研究方向为天然药物与功能食品。E-mail: mowoilo@hotmail.com

*通信作者: 马超美(1962—), 女, 教授, 博士, 研究方向为天然药物与功能食品。E-mail: cmma@imu.edu.cn

引文格式:

王常喜, 岳丽丽, 许海燕, 等. 超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用法同时测定蒙药全石榴、中药石榴皮及新鲜石榴中7种成分[J]. 食品科学, 2016, 37(4): 139-143. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201604025. <http://www.spkx.net.cn>

WANG Changxi, YUE Lili, XU Haiyan, et al. Simultaneous quantification of 7 components in different parts of *Punica granatum* fruits using ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-QQQMS)[J]. Food Science, 2016, 37(4): 139-143. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201604025. <http://www.spkx.net.cn>

石榴 (*Punica granatum* L.) 为石榴科石榴属植物, 原产于中亚地区, 唐朝时传入我国, 并得以广泛栽培。石榴果实色泽艳丽, 籽粒晶莹、清香可口, 享有“雾壳作房珠作骨, 水晶为粒玉为浆”的美誉, 是一种老少咸宜的果品^[1]。据报道^[2], 石榴营养丰富, 其中含有大量的有机酸、糖类、蛋白质、脂肪、维生素以及钙、磷、钾等矿物质。不仅可生食, 还可以加工成石榴果汁、果酱、果冻、浓缩石榴汁、糖浆、石榴酒和马丁尼酒; 石榴叶片还可以加工成石榴茶。

石榴皮中主要含有鞣质、多酚及黄酮类化合物。它们具有抗癌^[3]、抗炎、抗氧化^[4]和抑菌^[5-6]的作用。石榴籽中含有黄酮类化合物、原花色素及脂肪酸等成分, 具有抗氧化、降血糖等作用。传统中医认为, 石榴味甘、酸、涩、性温、归肺、肾和大肠经, 具有生津止渴、收敛止泻、止血、杀虫和解酒等功效^[7], 多以石榴皮入药。而在蒙医药临床应用中以全石榴入药, 用于涩肠、止血、驱虫, 治疗久泻、久痢等^[8]。

目前, 用于石榴有效成分定量分析的方法有高效液相色谱-二极管阵列检测器法、高效液相色谱-蒸发光散射检测器法、气相色谱-质谱法、分光光度法、Folin-Ciocalteu比色法及高效毛细管电泳法^[9-15]等。这些方法对石榴及其衍生产品的质量控制有着重要的作用。然而到目前为止, 鲜见可以同时快速分析石榴中包括诃子鞣质A、诃子鞣质B等多种多酚类成分的理想方法。

现代新型分析仪器如超高效液相色谱能显著提高分辨率并缩短测定时间, 质谱检测器特别是其多反应监测模式能够大幅提高检测灵敏度和特异性, 优化的内标测定法还能补偿回收率不佳等问题, 液相色谱-质谱联用技术在食品功能成分及有害物质残留的检测方面发挥了越来越重要的作用^[16-18]。本实验采用超高效液相色谱-串联四极杆质谱 (ultra-high-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, UPLC-QQQMS) 联用法, 对蒙药全石榴的皮与籽、中药石榴皮及新鲜石榴的皮与籽中7种鞣质类化合物: 诃子鞣质A、诃子鞣质B、诃子裂酸、五没食子酰葡萄糖、鞣料云实素、诃黎勒酸和没食子酸进行同时测定, 并对各化合物的分布情况进行了比较分析, 以期石榴药材、成药及相关食品质量控制提供新的方法, 并为石榴皮与籽的开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲜石榴 市购; 所有石榴样品经内蒙古大学生命科学学院马超美教授鉴定为石榴科石榴属石榴 (*Punica granatum* L.); 蒙药全石榴 安国市祁澳中药饮片有限公司; 中药石榴皮 呼和浩特市万福大药房; 所有鞣质标准品均由内蒙古大学天然药物与功能食品研究室分离制备, 并用多种光谱法确定其结构^[19] (高效液相色谱法检测纯度大于98%)。

甲醇 (色谱纯) 美国Fisher Scientific公司; 甲酸 (色谱纯) 天津阿法埃莎化学有限公司; 屈臣氏蒸馏水 广州屈臣氏食品饮料有限公司; 二甲基亚砜 (分析纯) 日本和光公司。

1.2 仪器与设备

1290 UPLC-高分辨串联6430四极杆-MS联用仪 (配有电喷雾电离源) 美国安捷伦科技公司; PS-20超声波清洗仪 洁康超声波设备有限公司; CF-10高速离心机 大韩科学有限公司; FDU-1200冷冻干燥机 东京理化器械株式会社; TB-25电子天平 丹佛仪器有限公司; 移液枪 大龙兴创实验仪器有限公司; 有机相微孔滤膜 天津富集科技有限公司; Sep-Pak® Plus tC₁₈固相萃取柱 美国沃特世公司。

1.3 方法

1.3.1 LC条件

ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈柱 (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm); 柱温30℃; 流速0.4 mL/min; 进样量1 μL; 流动相: A相为0.1%甲酸溶液, B相为甲醇。流动相A、B的梯度洗脱程序如表1所示。

表1 梯度洗脱条件
Table 1 Gradient elution program

时间/min	流速/ (mL/min)	流动相体积分数/%	
		A	B
0.0	0.4	95	5
2.5	0.4	70	30
3.5	0.4	50	50
4.0	0.4	0	100
5.0	0.4	0	100

1.3.2 MS条件

UPLC-QQQMS接有电喷雾离子源, 采用负离子化

模式；喷雾电压4 500 V；干燥气体氮气；干燥气流量12 L/min；干燥气体温度350 ℃；毛细管电压：负离子3 500 V；采用选择离子监控模式优化待测化合物电压，子离子扫描模式：优化子离子、定性离子及二者碰撞能量，多反应监测模式优化各组分离洗脱条件，最后采用动态多反应监测模式高选择性地分析测定各组分。8种分析物MS条件见表2。

表2 MS优化条件

Table 2 Optimized mass spectrometry conditions

分析物	分子质量/D	母离子/ (m/z)	子离子/ (m/z)	碰撞电 压/V	碰撞能 量/eV
诃子鞣质A	670	669	366.9	140	10
诃子鞣质B	670	669	366.8	130	12
诃子裂酸	356	355	337.1	100	10
五没食子酰葡萄糖	940	939	939.0	220	0
鞣料云实素	634	633	300.7	180	30
诃黎勒酸	954	953	300.8	210	35
没食子酸	170	169	125.0	90	10
表儿茶素-4-乙酰半胱氨酸	451	450	450.0	100	0

1.3.3 溶液配制

7种标准品各称取适量于1.5 mL离心管中，二甲基亚砷溶解过滤，配制成10 mg/mL标准品储备液；表儿茶素-4-乙酰半胱氨酸称取适量于1.5 mL离心管中，甲醇溶解过滤配制成1 μg/mL的内标溶液储备液。

1.3.4 样品前处理

将鲜石榴冷冻干燥处理，之后将全石榴皮、全石榴籽、中药石榴皮、鲜石榴皮、鲜石榴籽样品敲碎成小米粒大小，各样品称取约50 mg，分别置于2 mL离心管中，用1 mL甲醇（含内标液）溶液超声提取10 min，离心（转速6 000 r/min）取上清液，重复3次，制得提取液。提取液用Sep-Pak® Plus tC₁₈固相萃取柱萃取，再用0.22 μm有机相微孔滤膜过滤后进样供LC-MS仪检测。

2 结果与分析

2.1 UPLC-QQQMS条件优化

通过改变流动相A、B两相比比例寻找到最佳分离条件，7种标准品及内标用表1中梯度洗脱条件在5 min内得到分离。为了得到最灵敏的检测条件，对MS碰撞电压和碰撞能量进行了优化，优化后的参数列于表2。在此条件下用MS动态多反应监测模式检测到8种化合物的色谱叠加效果见图1。鞣料云实素与表儿茶素-4-乙酰半胱氨酸难以得到色谱完全分离，一般的紫外检测将难以得到准确的定量结果，动态多反应监测模式检测在这种情况下发挥了其优势，对这2个母离子和子离子不同的化合物可分别给出准确峰面积，进而准确定量。

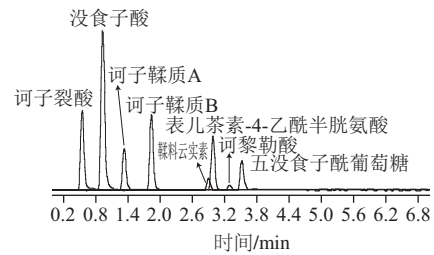


图1 标准品混和物的动态多反应监测模式扫描图

Fig.1 UPLC-QQQMS profile of a mixture of standard compounds in MRM mode

2.2 线性范围及检出限

用含有1 μg/mL表儿茶素-4-乙酰半胱氨酸的内标液配制标准品溶液。7种标准品储备液先分别用内标溶液稀释为1 mg/mL，然后分别吸取稀释后的标准品储备液各50 μL，混合均匀，用内标溶液将混合液按体积比1:4:4:4:4:4:4:4的比例梯度稀释，制得9份混合标准品使用液。采用所优化的MS条件与LC条件检测标准混合溶液（质量浓度范围为0.000 9~55.500 0 μg/mL）。用Agilent Mass Hunter定量分析软件对UPLC-QQQMS检测结果进行分析，以待测物的质量浓度为横坐标，待测物与内标的峰面积比为纵坐标，进行线性回归。各对照品的线性关系如表3所示。取3倍信噪比的待测物质量浓度为方法检出限，取10倍信噪比的待测物质量浓度为方法定量限。由表3可知，7种标准品在各自的线性范围内具有良好的线性相关性，定量限均小于0.054 2 μg/mL，检出限均小于0.013 5 μg/mL，可满足实际检测的需要。

表3 各对照品的线性关系

Table 3 Linear relationships of reference substances

对照品	线性方程	相关系数 (R ²)	线性范围/ (μg/mL)	定量限/ (μg/mL)	检出限/ (μg/mL)
诃子鞣质A	$y=0.480\ 463x-0.017\ 300$	0.999	0.003 4~13.875 0	0.003 4	0.000 9
诃子鞣质B	$y=0.877\ 461x-0.102\ 339$	0.999	0.013 6~13.875 0	0.003 4	0.000 9
诃子裂酸	$y=0.432\ 350x+0.003\ 375$	0.999	0.003 4~13.875 0	0.003 4	0.000 9
五没食子酰葡萄糖	$y=0.210\ 214x-0.088\ 891$	0.999	0.216 8~55.500 0	0.054 2	0.013 5
鞣料云实素	$y=0.143\ 064x-0.248\ 291$	0.998	0.867 2~55.500 0	0.054 2	0.013 5
诃黎勒酸	$y=0.046\ 495x-0.050\ 984$	0.998	0.216 8~55.500 0	0.054 2	0.013 5
没食子酸	$y=0.787\ 52x+0.130\ 020$	0.998	0.003 4~13.875 0	0.003 4	0.000 9

2.3 样品分析

表4 全石榴皮、全石榴籽、中药石榴皮、鲜石榴皮、鲜石榴籽成分含量分析结果

Table 4 Contents of 7 components in different parts of pomegranate

样品	诃子鞣质A	诃子鞣质B	诃子裂酸	五没食子酰葡萄糖	鞣料云实素	诃黎勒酸	没食子酸	总量
全石榴皮	0.125 5	0.177 8	0.329 8	2.798 3	1.470 3	0.576 5	1.167 4	6.645 6
全石榴籽	0.005 2	0.015 7	0.001 3	0.054 6	0.205 3	0.129 6	0.033 8	0.445 7
中药石榴皮	0.004 9	0.016 7	0.256 8	1.645 8	2.073 5	0.424 7	0.781 0	5.203 5
鲜石榴皮	0.005 1	0.016 9	0.174 1	1.532 9	1.352 9	0.436 3	0.050 7	3.568 9
鲜石榴籽	0.004 5	0.014 3	0.001 0	0.052 0	0.209 5	0.125 6	0	0.406 9

采用Agilent Mass Hunter定量分析软件对样品UPLC-QQQMS检测结果进行分析,经标准曲线回归方程,计算得到待测物的质量浓度,从而换算出待测物在样品中的含量,结果见表4。

其中诃子裂酸、五没食子酰葡萄糖、鞣料云实素、诃黎勒酸和没食子酸在石榴皮部分的含量明显高于石榴籽中的含量,诃子鞣质A和诃子鞣质B这2种化合物在全石榴皮中的含量明显高于其他部位。诃子裂酸具有细胞保护活性和抗氧化活性^[20],五没食子酰葡萄糖具有抗细菌活性^[21],鞣料云实素具有抗病毒^[22]、抗氧化^[23]、抗细菌与抗真菌活性^[24-25],诃黎勒酸具有抗病毒^[22]、抗细菌^[24]、抗真菌^[26]活性,没食子酸具有抗细菌、抗真菌^[27]、抗氧化^[28]、抗病毒^[29]、抗寄生虫^[30-32]等活性。这些具有保护性作用的化合物可能对石榴皮在抵抗害虫、微生物,保护果实方面有一定的作用。

没食子酸在鲜石榴皮中的含量明显低于其在全石榴皮和中药石榴皮的含量,而且在鲜石榴籽中并未检测到没食子酸,这可能意味着石榴药材在干制的过程中有部分鞣质化合物分解为没食子酸单体,从而提高了石榴药材中没食子酸的含量。而没食子酸具有抗氧化、抗微生物、抗病毒、抗癌^[33]等多种生物活性,这说明石榴在干制的过程中,其药用价值可能会有所提高。

2.4 回收率和精密度

取3份已知质量浓度的溶液,分别向其加入等体积高、中、低3种已知质量浓度的混合标准品溶液,充分混匀后进样测定计算加样回收率。结果显示,诃子鞣质A、诃子鞣质B、诃子裂酸、五没食子酰葡萄糖、鞣料云实素、诃黎勒酸和没食子酸回收率分为100.62%、99.44%、103.02%、100.78%、104.04%、105.54%、102.07%。配制质量浓度为13.875 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品混合液室温放置,24 h内连续进样6次测定日内精密度,日间精密度则连续3 d每天进样测定1次。结果表明,在混合标准品储备液中诃子鞣质A、诃子鞣质B、诃子裂酸、五没食子酰葡萄糖、鞣料云实素、诃黎勒酸和没食子酸具有良好的精密度,其日内及日间精密度相对标准偏差范围分别为0.11%~0.95%和0.14%~1.21%。

3 结 论

本实验建立的UPLC-QQQMS内标法,不仅可以同时定量测定石榴中诃子鞣质A、诃子鞣质B、诃子裂酸、五没食子酰葡萄糖、鞣料云实素、诃黎勒酸和没食子酸7种鞣质成分,还可以快速比较蒙药全石榴、中药石榴皮及新鲜石榴在成分含量上的差异。目前在石榴质量控制及

有效成分测定研究中^[7-14],鲜见类似报道。本实验所建立的方法稳定性强,灵敏度和分辨率高,快速、简便、准确,为石榴药材、成药及相关食品的质量控制提供了新的定量方法。

参考文献:

- [1] 李海霞,王钊.石榴科植物化学成分及药理活性研究进展[J].中草药,2002,33(8):765-766. DOI:10.3321/j.issn:0253-2670.2002.08.045.
- [2] 苑兆和,尹燕雷,李自峰,等.石榴果实香气物质的研究[J].林业科学,2008,44(1):65-69. DOI:10.3321/j.issn:1001-7488.2008.01.011.
- [3] YOSHIMURA M, WATANABE Y, KASAI K, et al. Inhibitory effect of an ellagic acid-rich pomegranate extract on tyrosinase activity and ultraviolet-induced pigmentation[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2005, 69(12): 2368-2373. DOI:10.1271/bbb.69.2368.
- [4] SEERAM N P, AVIRAM M, ZHANG Y J, et al. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the united states[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(4): 1415-1422. DOI:10.1021/jf073035s.
- [5] 吴水华,刘艳红,李俊清.三种不同植物多酚提取物的抗真菌活性研究[J].科学技术与工程,2005,5(15):1073-1077. DOI:10.3969/j.issn.1671-1815.2005.15.011.
- [6] ZHU X F, ZHANG H X, LO R. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(24): 7272-7278. DOI:10.1021/jf0490192.
- [7] 贾冬英,姚开.饮食营养与食疗[M].成都:四川大学出版社,2004:1161.
- [8] 杨巧荷,贾海鹰.全石榴和石榴皮中没食子酸含量测定的比较[J].中国民族医药杂志,2003,9(1):34-35. DOI:10.3969/j.issn.1006-6810.2003.01.027.
- [9] NUNCIO-JÁUREGUI N, NOWICKA P, MUNERA-PICAZO S, et al. Identification and quantification of major derivatives of ellagic acid and antioxidant properties of thinning and ripe Spanish pomegranates[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12: 354-364. DOI:10.1016/j.jff.2014.11.007.
- [10] FISCHER U A, CARLE R, KAMMERER D R. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MSⁿ[J]. Food Chemistry, 2011, 127(2): 807-821. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.12.156.
- [11] 郑敏燕,耿薇,刘鹏,等. HPLC-ELSD法检测石榴中的游离糖含量[J].安徽农业科学,2010,38(14):7692-7693. DOI:10.3969/j.issn.0517-6611.2010.14.154.
- [12] 赵云荣,王文领,王勇,等.石榴籽中脂肪酸成分分析[J].化学研究,2005,16(2):72-74. DOI:10.3969/j.issn.1008-1011.2005.02.022.
- [13] 许宗运,蒋慧,吴静,等.石榴皮和石榴渣总黄酮含量的测定[J].中国农学通报,2003,19(3):72-74. DOI:10.3969/j.issn.1000-6850.2003.03.022.
- [14] 田树革,魏玉龙,刘宏炳. Folin-Ciocalteu比色法测定石榴不同部位总多酚的含量[J].光谱实验室,2009,26(2):341-344. DOI:10.3969/j.issn.1004-8138.2009.02.045.
- [15] 周本宏,吴振华,李小军,等.高效毛细管电泳法测定石榴皮中鞣花酸的含量[J].中国药房,2005,16(24):1893-1894. DOI:10.3969/j.issn.1001-0408.2005.24.023.
- [16] 吴俊辉,罗辉泰,沈小玲,等. HPLC-MS/MS检测中药保健品中非法添加成分的研究[J].中药新药与临床药理,2014,25(5):606-610.

- [17] 杨长志, 王传松, 程阳, 等. HPLC-MS/MS测定玉米中异恶唑草酮及代谢物残留量[J]. 食品科学, 2011, 32(22): 280-284.
- [18] 叶日贵, 高杰, 王冰, 等. 超高效液相-串联四极杆质谱联用法同时测定并比较甘草各部位中8种成分含量[J]. 食品科学, 2014, 35(20): 242-247. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201420001.
- [19] AJALA O S, JUKOV A, MA C M. Hepatitis C virus inhibitory hydrolysable tannins from the fruits of *Terminalia chebula*[J]. Fitoterapia, 2014, 99: 117-123. DOI:10.1016/j.fitote.2014.09.014.
- [20] LEE H S, JUNG S H, YUN B S, et al. Isolation of chebulic acid from *Terminalia chebula* Retz. and its antioxidant effect in isolated rat hepatocytes[J]. Archives of Toxicology, 2007, 81(3): 211-218. DOI:10.1007/s00204-006-0139-4.
- [21] JIAMBONSRI P, PITHAYANUKUL P, BAVOVADA R, et al. The inhibitory potential of Thai mango seed kernel extract against methicillin-resistant staphylococcus aureus[J]. Molecules, 2011, 16(8): 6255-6270. DOI:10.3390/molecules16086255.
- [22] LI Y X, YU S J, LIU D, et al. Inhibitory effects of polyphenols toward HCV from the mangrove plant *Excoecaria agallocha* L.[J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2012, 22(2): 1099-1102. DOI:10.1016/j.bmcl.2011.11.109.
- [23] THITILERTDECHA N, TEERAWUTGULRAG A, KILBURN J D, et al. Identification of major phenolic compounds from *Nephelium lappaceum* L. and their antioxidant activities[J]. Molecules, 2010, 15(3): 1453-1465. DOI:10.3390/molecules15031453.
- [24] FOGLIANI B, RAHARIVELOMANANA P, BIANCHINI J P, et al. Bioactive ellagitannins from *Cunonia macrophylla*, an endemic Cunoniaceae from New Caledonia[J]. Phytochemistry, 2005, 66(2): 241-247. DOI:10.1016/j.phytochem.2004.11.016.
- [25] KOLODZIEJ H, KAYSER O, LATTÉ K P, et al. Enhancement of antimicrobial activity of tannins and related compounds by immune modulatory effects[M]//Plant polyphenols 2. US: Springer, 1999: 444-446. DOI:10.1007/978-1-4615-4139-4_32.
- [26] LI X C, JOSHI A S, ELISOHLY H N, et al. Fatty acid synthase inhibitors from plants: isolation, structure elucidation, and SAR studies[J]. Journal of Natural Products, 2002, 65(12): 1909-1914. DOI:10.1021/np020289t.
- [27] LIN J B, ZHAO H Q, HANG B, et al. Antimicrobial and antitumor activities of crude extracts and isolated compounds from *Euphorbia humifusa*[J]. Asian Journal of Chemistry, 2013, 25(7): 3957-3960.
- [28] MAHDAVI B, YAACOB W A, DIN L B, et al. Antioxidant activity of consecutive extracts of the base, stem and leaves of *Etlingera brevibrum*[J]. Asian Journal of Chemistry, 2013, 25(7): 3937-3941. DOI:10.14233/ajchem.2013.13851.
- [29] KRATZ J M, ANDRIGHETTI-FRÖHNER C R, LEAL P C, et al. Evaluation of anti-HSV-2 activity of gallic acid and pentyl gallate[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2008, 31(5): 903-907. DOI:10.1248/bpb.31.903.
- [30] TASDEMIR D, KAISER M, BRUN R, et al. Antitrypanosomal and antileishmanial activities of flavonoids and their analogues: *in vitro*, *in vivo*, structure-activity relationship, and quantitative structure-activity relationship studies[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006, 50(4): 1352-1364. DOI:10.1128/AAC.50.4.1352-1364.2006.
- [31] CAO S G, RANARIVELO L, RATSIMBASON M, et al. Antiplasmodial activity of compounds from *Sloanea rhodantha* (Baker) Capuron var. *rhodantha* from the Madagascar rain forest[J]. Planta Medica, 2006, 72(15): 1438-1440. DOI:10.1055/s-2006-951729.
- [32] SUBEKI S, MATSUURA H, TAKAHASHI K, et al. Anti-babesial and anti-plasmodial compounds from *Phyllanthus niruri*[J]. Journal of Natural Products, 2005, 68(4): 537-539. DOI:10.1021/np0497245.
- [33] MITTAL A K, KUMAR S, BANERJEE U C. Quercetin and gallic acid mediated synthesis of bimetallic (silver and selenium) nanoparticles and their antitumor and antimicrobial potential[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2014, 431: 194-199. DOI:10.1016/j.jcis.2014.06.030.