

鱼腥草根及地上部分乙醇提取物抑菌活性和化学成分的分析^{*}

周庆兰,熊艳,余晓东,任苗,向柏林,和七一

(重庆师范大学 生命科学院 教育部活性物质生物技术工程研究中心 重庆市生物活性物质工程研究中心,重庆 401331)

摘要:【目的】考察鱼腥草(*Houttuynia cordata*)根和地上部分乙醇提取物的抑菌效果和其中化学成分的差异。【方法】通过乙醇回流萃取制备鱼腥草根和地上部分的乙醇提取物,采用涂布平板法和96孔板法测定两者抑菌活性,并结合气相色谱-质谱法(GC-MS)对两种乙醇提取物的成分进行检测分析。【结果】鱼腥草根乙醇提取物对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、青霉菌(*Penicillium notatum*)、黑曲霉菌(*Aspergillus niger*)和酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)的最低抑菌浓度分别为0.068,0.250,0.125,0.125,0.004和0.250 g·mL⁻¹;地上部分乙醇提取物对上述实验菌的最低抑菌浓度分别为0.068,0.034,0.068,0.125,0.001和0.125 g·mL⁻¹。GC-MS分析结果显示,地上部分乙醇提取物主要含有具有抑菌活性的成分亚麻酸、棕榈酸、5-甲基-2,4-(1H,3H)-嘧啶二酮、磷酸三乙酯、2,4-二叔丁基苯酚和叶绿醇;而根乙醇提取物中仅发现抑菌成分亚麻酸和棕榈酸。【结论】鱼腥草地上部分乙醇提取物的抑菌效果优于根乙醇提取物,且抑菌成分的种类数及含量也高于后者。

关键词:鱼腥草;根;地上部分;乙醇提取物;抑菌;化学成分;气相色谱-质谱法

中图分类号:Q175

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2019)02-0101-06

鱼腥草(*Houttuynia cordata*)属三白草科(Sanuraceae)蕺菜属(*Houttuynia*),因全草带鱼腥味而得名,主要分布于中国长江以南地区及西藏等省区^[1]。鱼腥草作为一种药食同源的植物,具有清热解毒、消肿排脓、利尿通淋、止血镇痛等功效^[2-4]。现代药理学研究证实,鱼腥草含有鱼腥草素、月桂醛、黄酮类等多种药效成分,具有抑菌、抗炎和抗病毒的作用;由于它的副作用较小且药效持续性长,故被制成鱼腥草茶、鱼腥草口服液、鱼腥草抑菌液等多种功能性产品投入市场^[5-9]。目前,国内外不少学者对鱼腥草提取物的抑菌作用进行了研究^[10-13],但研究对象多集中于整株鱼腥草,而有关鱼腥草根和地上部分抑菌作用的比较研究还较为少见。为此,本研究采用乙醇回流萃取法制备了鱼腥草根和地上部分的乙醇提取物,利用体外抑菌法对两种乙醇提取物的抑菌效果进行比较,并结合气相色谱-质谱法(GC-MS)对两者的化学成分进行分析,从而较深入地揭示鱼腥草根和地上部分在抑菌效果上的异同。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用鱼腥草采集于湖南省张家界,并经过植物分类学鉴定;实验用金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、青霉菌(*Penicillium notatum*)、黑曲霉菌(*Aspergillus niger*)和酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)均由重庆师范大学微生物教研室提供。

1.2 试剂与仪器

体积分数为75%的乙醇购于成都市科龙化工试剂厂;色谱级甲醇购于瑞典Oceanpak公司;分析纯丙酮购于重庆川东化工有限公司。Trace-ISQ气相色谱-质谱仪购于Thermo Fisher Scientific公司;RVC2-18真空离心浓缩仪购于Christ公司;RE-52A旋转蒸发器购于巩义市宇翔仪器有限公司;FD-1A-50冷冻干燥机购于北京博医康实验仪器有限公司;ZHWY-100D恒温培养振荡器购于上海智城分析仪器制造有限公司;HR40-IIA2生物

* 收稿日期:2018-04-07 修回日期:2019-02-11 网络出版时间:2019-03-15 07:00

资助项目:重庆市社会民生科技创新专项(No. cstc2015shmszx120052);重庆市自然科学基金(No. cstc2016jcyjA0224)

第一作者简介:周庆兰,女,研究方向为生物毒素与药物开发,E-mail:1262492355@qq.com;通信作者:和七一,男,高级实验师,E-mail:hqy7171@126.com

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20190315.0057.038.html>

安全柜购于海尔集团;ISO9001 电子天平购于北京赛多利斯仪器系统有限公司;GZX-9146MBE 电热鼓风干燥箱购于上海博迅实业有限公司医疗设备厂。

1.3 实验方案与操作方法

1.3.1 鱼腥草根和地上部分乙醇提取物的制备 将新鲜的鱼腥草根、地上部分进行分拣,烘干。分别称取 50 g 鱼腥草根和鱼腥草地上部分,置于 250 mL 烧瓶中,加入溶质体积分数为 75%的乙醇溶液浸没,然后加热回流提取 3 次,每次 1 h;合并提取液后 $5\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min,将上清液旋转蒸发并冻干成粉,在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下冷藏保存备用。

1.3.2 鱼腥草乙醇提取物抑菌活性检测 将鱼腥草根和地上部分的乙醇提取物用溶质体积分数为 10%的丙酮溶液溶解,得质量浓度为 $0.5\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的样品备用。参考文献[11-12]配置 LB 和 PDA 培养基。待培养基凝固后,取 $1\times 10^6\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌菌悬液各 100 μL 加入 LB 培养基中;取 $1\times 10^6\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的青霉菌、黑曲霉菌和酿酒酵母菌菌悬液各 100 μL 加入 PDA 培养基中,涂布均匀。晾干后用打孔器在培养皿中间隔一定距离进行打孔,孔中添加待测样品 10 μL ,以孔中加入溶质体积分数为 10%的丙酮溶液作为阴性对照,并以孔中加入 0.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 氨苄青霉素作为阳性对照。细菌于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,霉菌和酿酒酵母菌于 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h。记录抑菌圈的直径大小(单位:mm),并取平均值作为检测结果。

1.3.3 鱼腥草乙醇提取物最低抑菌浓度检测 取鱼腥草根乙醇提取物 1.0 g,用溶质体积分数为 10%的丙酮溶液配置质量浓度为 $0.25\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的待测溶液。取无菌 96 孔培养板,在 1 号孔加入 10 μL 待测溶液,在 2~8 号孔中预先加入 10 μL 溶质体积分数为 10%的丙酮溶液,并取 10 μL 待测溶液依次进行倍比稀释,使整个梯度的待测溶液质量浓度分别为 0.250,0.125,0.068,0.034,0.017,0.008,0.004,0.002 和 0.001 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;每个梯度重复 3 次。9 号孔加入溶质体积分数为 10%的丙酮溶液作为阴性对照,10 号孔加入 0.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 氨苄青霉素作为阳性对照。接种后,置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 摇床培养 16 h 后取出观察。如小孔内澄清即为完全抑制细菌生长,而澄清小孔中所对应的最低药物浓度即乙醇提取物对该菌的最低抑菌浓度。鱼腥草地上部分乙醇提取物最低抑菌浓度采用相同的操作方法测定。

1.3.4 GC-MS 检测 取鱼腥草根和地上部分的乙醇提取物样品用甲醇溶解,溶解液经 0.45 μm 孔径的有机相滤膜过滤处理。取 1 μL 滤液上样,根据以下条件进行 GC-MS 分析。色谱柱 Thermo TG-SQC GC column,规格为 $15\text{ m}\times 0.25\text{ mm ID}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$;载气为高纯度氦气(纯度不低于 99.999%);柱内载气流量 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;分流进样,分流比为 1:1。程序升温过程为:采用 $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 柱温并保持 2 min;以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升至 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 并保持 4 min;以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升至 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ 并保持 2 min;以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升至 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ 并保持 6 min;以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升至 $290\text{ }^{\circ}\text{C}$ 并保持 6 min。整个检测过程共 44 min。EI 离子源的温度为 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$;传输线温度 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$;进样口温度 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$;发射电流 50 μA ;电子能量 70 eV;倍增电压 1 200 V;扫描范围 $50\sim 550\text{ amu}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

2 结果

2.1 抑菌活性

如表 1 所示,鱼腥草根乙醇提取物对黑曲霉菌的抑制效果最强,之后对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和青霉菌的抑制效果依次减弱,对酿酒酵母菌抑制效果最弱。地上部分乙醇提取物对各菌种抑制效果对黑曲霉菌的抑制效果也为最强,之后对枯草芽孢杆菌、青霉菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制效果依次减弱,对酿酒酵母菌抑制效果最弱。总体上看,鱼腥草根和地上部分乙醇提取物对实验菌的生长均有一定抑制效果。特别是对于黑曲霉菌,根和地上部分乙醇提取物均表现出了较强的抑制效果。此外,所有实验菌的阳性对照结果均为完全抑制。

表 1 鱼腥草根和地上部分乙醇提取物对实验菌抑菌圈平均直径

Tab.1 The average diameters of inhibition zone of root and aerial part ethanolic extract from *H. cordata* on test bacteria

实验菌	抑菌圈直径/mm	
	根	地上部分
金黄色葡萄球菌(<i>S. aureus</i>)	7.4 ± 0.1	9.4 ± 0.2
大肠杆菌(<i>E. coli</i>)	6.5 ± 0.2	8.6 ± 0.1
枯草芽孢杆菌(<i>B. subtilis</i>)	9.1 ± 0.15	12.6 ± 0.2
青霉菌(<i>P. notatum</i>)	5.7 ± 0.1	10.1 ± 0.15
黑曲霉菌(<i>A. niger</i>)	13.8 ± 0.3	18.3 ± 0.1
酿酒酵母菌(<i>S. cerevisiae</i>)	4.9 ± 0.2	6.9 ± 0.1

注:表中数据用“平均值 $\pm$ 标准差”表示,样本量为 10 μL

2.2 最低抑菌浓度

研究结果显示,阴性对照组中实验菌生长旺盛,而阳性对照组基本无实验菌生长。表 2 显示:鱼腥草根和地上部分的乙醇提取物对实验菌的生长均具有抑制作用,且对黑曲霉均表现出了最强的抑制作用;地上部分乙醇提取物对实验菌的抑制效果明显强于根乙醇提取物。这一结果与抑菌活性检测结果基本相符。

2.3 GC-MS 分析

通过检索质谱(National institute standard and technology,NIST)图库并结合有关质谱图文献解析分析确认鱼腥草根和地上部分乙醇提取物的化学成分,并采用峰面积归一法计算出各成分峰面积的相对含量。得到鱼腥草根和地上部分乙醇提取物成分的总离子流图见图 1 和图 2,成分分析结果见表 3。从鱼腥草根和地上部分乙醇提取物中分别鉴定出了 24 和 19 种化学成分,其中共有成分有 9 种,分别是:2,3-二氢-3,5 二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮、5-羟基甲基呋喃甲醛、*n*-癸酸、棕榈酸、亚麻酸、硬脂酸、棕榈酸,2-羟基-1-(羟甲基)乙酯和 γ -谷甾醇。

鱼腥草根乙醇提取物中相对含量较高的化合物主要有 *n*-癸酸、(Z,Z)-亚油酸、 γ -谷甾醇、棕榈酸、5-羟基甲基呋喃甲醛和 2,3-二氢-3,5 二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮,相对含量分别为 9.57%,9.34%,8.03%,7.82%,7.65%和 7.49%。鱼腥草地上部分乙醇提取物中相对含量较高的化合物主要有亚麻酸、棕榈酸、 γ -谷甾醇、*n*-癸酸、叶绿醇、(Z,Z)-亚油酸、2-羟基-1-(羟甲基)乙酯和 2,3-二氢-3,5 二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮,相对含量分别为 15.72%,14.82%,12.67%,11.75%,7.76%,5.42%,5.38%和 5.30%。

3 讨论

本研究通过体外抑菌实验对鱼腥草根和地上部分的乙醇提取物的抑菌效果进行了研究,结果显示:两种乙醇提取物对 2 种革兰氏阳性菌、1 种革兰氏阴性菌、3 种真菌共 6 种实验菌均具有较强的抑制作用,且地上部分乙醇提取物的抑制作用优于根乙醇提取物。通过 GC-MS 分析,结合已有文献报道,本研究证实了鱼腥草地上部分乙醇提取物中含有丰富的具有抑菌功效的成分,包括亚麻酸^[14-16]和棕榈酸^[17]。相比而言,鱼腥草根提物中亚麻酸和

表 2 鱼腥草根和地上部分乙醇提取物对实验菌的最低抑菌浓度

Tab.2 The minimum inhibitory concentration of ethanolic extract root and aerial part from *H. cordata* on test bacteria

实验菌	最低抑菌浓度/(g·mL ⁻¹)	
	根	地上部分
金黄色葡萄球菌(<i>S. aureus</i>)	0.068	0.068
大肠杆菌(<i>E. coli</i>)	0.250	0.034
枯草芽孢杆菌(<i>B. subtilis</i>)	0.125	0.068
青霉菌(<i>P. notatum</i>)	0.125	0.125
黑曲霉菌(<i>A. niger</i>)	0.004	0.001
酿酒酵母菌(<i>S. cerevisiae</i>)	0.250	0.125

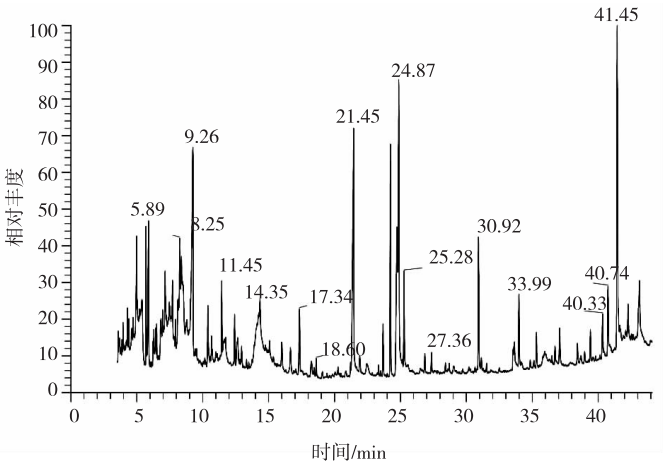


图 1 鱼腥草根乙醇提取物总离子流图

Fig.1 Total ion current chromatograms of roots ethanol extract from *H. cordata*

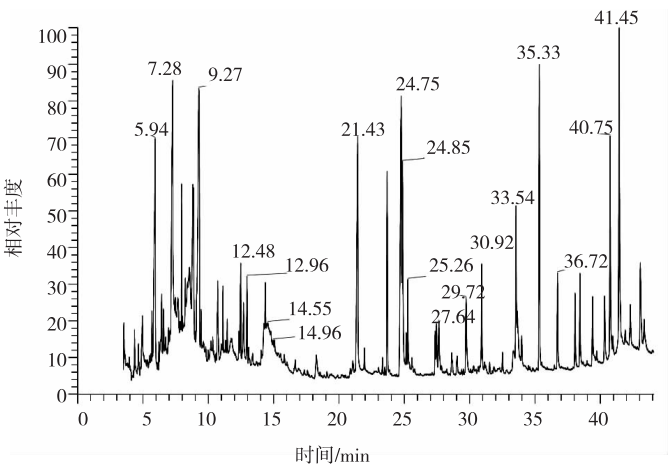


图 2 鱼腥草地上部分乙醇提取物总离子流图

Fig.2 Total ion current chromatograms of aerial part ethanolic extract from *H. cordata*

棕榈酸的相对含量较低。由此可以推测,这很可能是鱼腥草地上部分乙醇提取物抑菌能力强于根乙醇提取物的原因。

除此之外,GC-MS 分析结果显示,多种具有抑菌功效的组分仅存在于鱼腥草地上部分乙醇提取物中。其中,5-甲基-2,4-(1H,3H)-嘧啶二酮(相对含量为 1.92%)混合配体络合物被认为是一种潜在的抗微生物制剂,对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和肺炎克雷伯杆菌(*Klebsiella Pneumoniae*)有明显的抑制作用^[18]。磷酸三乙酯(相对含量为 3.43%)对大肠杆菌和真菌具有抑制作用,且能有效的缓解由真菌引起的皮肤病^[19-20]。2,4-二叔丁基苯酚(相对含量为 1.72%)是一种酚类物质,能够通过抑制白念珠菌(*Candida albicans*)的生长和生物膜的形成发挥抑菌效果^[21]。叶绿醇在地上部分乙醇提取物中的相对含量为 7.76%,研究表明,该组分对金黄色葡萄球菌、蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)均具有抑制作用,可开发为食品工业中的抑菌剂^[22-23]。

表 3 鱼腥草根和地上部分乙醇提取物的成分分析

Tab. 3 Chemical components of root and aerial part ethanolic extract from *H. cordata*

序号	化合物名称	分子式	相对分子 质量/Da	相对含量/%	
				根	地上部分
1	5-甲基-2,4-(1H,3H)-嘧啶二酮	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂	126	—	1.92
2	磷酸三乙酯	C ₆ H ₁₅ O ₄ P	182	—	3.43
3	2,3-二氢-3,5 二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮	C ₆ H ₈ O ₄	144	7.49	5.30
4	5-羟基甲基呋喃甲醛	C ₆ H ₆ O ₃	126	7.65	1.55
5	[(5-羟甲基)-1,3-二氧戊环-4-基]甲醇	C ₅ H ₁₀ O ₄	134	—	0.98
6	甲基正壬酮	C ₁₁ H ₂₂ O	170	1.33	—
7	苯甲酰胺	C ₇ H ₇ NO	121	5.53	—
8	<i>n</i> -癸酸	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	9.57	11.75
9	2-羟基-6-甲基苯甲醛	C ₈ H ₈ O ₂	136	—	2.27
10	正十一烷酸	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	1.90	—
11	2,4-二叔丁基苯酚	C ₁₄ H ₂₂ O	206	—	1.72
12	癸酸	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	1.89	—
13	癸酸乙酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	1.45	—
14	4-((1E)-3-羟基-1-丙烯基)-2-甲氧基苯酚	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	180	—	1.18
15	(S,E)-4-羟基-3,5,5-三甲基-4-(3-氧代-1-烯-1-基)环己-2-烯酮	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	222	—	3.01
16	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	7.82	14.82
17	反式-9-十六碳烯-1-醇	C ₁₆ H ₃₂ O	240	3.86	—
18	地上部分绿醇	C ₂₀ H ₄₀ O	296	—	7.76
19	(Z,Z)-亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	9.34	5.42
20	亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	5.05	15.72
21	硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	1.56	3.30
22	N-苯甲酰基-4-羟基-苯乙胺	C ₁₅ H ₁₃ NO ₂	239	2.20	—
23	2-羟基-1-(羟甲基)乙酯十六烷酸	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	330	2.04	5.38
24	9,12-十八碳二烯酸(Z,Z)-,2-羟基-1-(羟甲基)乙酯	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	354	2.48	—
25	2-羟基-1-(羟甲基)乙酯,十八烷酸	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	358	—	2.47
26	2-十八烷基亚氨基甲基-苯酚	C ₂₅ H ₄₃ NO	373	6.25	—
27	吡啶基 9,10-亚甲基-十八烷酸酯	C ₂₅ H ₄₁ NO ₂	387	1.62	—
28	9-甲代吡啶基	C ₂₅ H ₄₁ NO ₂	387	1.79	—
29	维生素 E	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430	1.37	—
30	菜油甾醇	C ₂₈ H ₄₈ O	400	1.45	—
31	豆甾醇	C ₂₉ H ₄₈ O	412	4.28	—
32	γ-谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	414	12.67	8.03
33	γ-谷甾酮	C ₂₉ H ₄₈ O	412	—	2.38

总之,本研究通过对鱼腥草根和地上部分乙醇提取物抑菌效果及两者的化学成分进行了初步研究,实验结果证实了鱼腥草地上部分乙醇提取物的抑菌效果优于根乙醇提取物,这为鱼腥草抑菌类产品的深入开发应用提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 刘咏松. 从鱼腥草看蔬菜入药的特殊性[J]. 甘肃中医, 2009, 22(7): 53-54.
LIU Y S. Discussion on the particularity of vegetable medicine via *Houttuynia cordata* Thunb[J]. Gansu Journal of TCM, 2009, 22(7): 53-54.
- [2] 陈婧, 方建国, 吴方建, 等. 鱼腥草抗炎药理作用机制的研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(2): 284-289.
CHEN J, FANG J G, WU F J, et al. Progress of study on Anti-inflammatory Pharmacological Mechanism of *Houttuynia Cordata* Thunb[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2014, 45(2): 284-289.
- [3] ZENG H Y, JIANG L J, ZHANG Y C. Chemical constituents of volatile oil from *Houttuynia cordata* Thunb[J]. Journal of Plant Resources & Environment, 2003, 12(3): 50-52.
- [4] CHIO W K H, PHOON M C, PUTTI T, et al. Evaluation of antiviral activities of *Houttuynia cordata* Thunb. extract, quercetin, quercetrin and cinanserin on murine coronavirus and dengue virus infection[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2016, 9(1): 1-7.
- [5] YANG X Y, SHI T, DU G, et al. iTRAQ-Based proteomics revealed the bactericidal mechanism of sodium new houttuyfonate against *Streptococcus pneumoniae*[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2016, 64(32): 6375-6382.
- [6] JUN L, ZHAO F. Anti-inflammatory functions of *Houttuynia cordata* Thunb. and its compounds: a perspective on its potential role in rheumatoid arthritis[J]. Experimental & Therapeutic Medicine, 2015, 10(1): 3-6.
- [7] AHN J, CHAE H S, CHIN Y W, et al. Alkaloids from aerial parts of *Houttuynia cordata* and their anti-inflammatory activity[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2017, 27(12): 2807-2811.
- [8] JIN M C, NHO K J, KIM H S, et al. An ethyl acetate fraction derived from *Houttuynia cordata* extract inhibits the production of inflammatory markers by suppressing NF- κ B and MAPK activation in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages[J]. BMC Complementary & Alternative Medicine, 2014, 14(1): 234-244.
- [9] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科学出版社, 2010: 208-209.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia, Vol I[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010: 208-209.
- [10] KRAML M, ROBINSON W T. Identification and antimicrobial activity of combined extract from *Azadirachta indica* and *Ocimum sanctum*[J]. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 2010, 62(2): 85-89.
- [11] ZHANG J, WU X J, LUO Z G, et al. Study on the change of chemical components and antibacterial activity of *Houttuynia cordata* Thunb during desiccation[J]. Food Science & Technology, 2007, 32(4): 89-92.
- [12] MING F. Research on antibacterial activity in vitro of the *Houttuynia cordata* Thunb injection[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(8): 2264-2265.
- [13] 杨勇, 张凤英, 陈岑. PDA培养基改良配方的研究[J]. 酿酒科技, 2012, 214(4): 29-31.
YANG Y, ZHANG F Y, CHEN Q. Study on the improved formula of PDA culture medium[J]. Liquor-making Science & Technology, 2012, 214(4): 29-31.
- [14] CHOI W H. Evaluation of anti-tubercular activity of linolenic acid and conjugated-linoleic acid as effective inhibitors against *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2016, 9(2): 121-125.
- [15] LEE J Y, KIM Y S, SHIN D H. Antimicrobial synergistic effect of linolenic acid and monoglyceride against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2002, 50(7): 2193-2199.
- [16] OBONYO M, ZHANG L, THAMPHIWATANA S, et al. Antibacterial activities of liposomal linolenic acids against antibiotic-resistant *Helicobacter pylori* [J]. Molecular Pharmaceutics, 2012, 9(9): 2677-2685.
- [17] 李晶, 阮维斌, 陈永智, 等. 天然脂肪酸类物质对温室连作黄瓜和番茄幼苗生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3): 1022-1028.
LI J, YUAN W B, CHEN Y Z, et al. Effects of Natural Fatty Acids on the Growth of Continuous Cropping Cucumber and Tomato Seedlings in Greenhouse[J]. Journal of Agro- Environment Science, 2008, 27(3): 1022-1028.
- [18] ABEBE A, SENDEK A, AYALEW S, et al. Copper(II) mixed-ligand complexes containing 1, 10-phenanthroline, adenine and thymine: Synthesis, characterization and antibacterial activities[J]. Chemistry International, 2017, 3(3): 230-239.
- [19] LIU H, CHEN Q, SONG L, et al. Ag-doped antibacterial porous materials with slow release of silver ions[J]. Journal of Non-Crystalline Solids, 2008, 354(12/13): 1314-1317.
- [20] RIDA S M, SOLIMAN F S G, BADAWEY E A M, et al.

- Benzimidazole condensed ring systems. I: Syntheses and biological investigations of some substituted Pyrido [1,2-a] benzimidazoles[J]. Journal of Heterocyclic Chemistry, 1988,25(4):1087-1093.
- [21] PADMAVATHI A R, BAKKIYAYAJ D, THAJUDDIN N, et al. Effect of 2,4-di-tert-butylphenol on growth and biofilm formation by an opportunistic fungus *Candida albicans*[J]. Biofouling, 2015,31(7):565-574.
- [22] ELUCHIE C N, NJOKU N, ALAGBAOSO S O, et al. Effect of phytol on bacterial isolates from grilled meat[J]. European Journal of English Language and Literature Studies, 2015,3(5):1-14.
- [23] LEE W, WOO E R, LEE D G. Phytol has antibacterial property by inducing oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Free Radical Research, 2016, 50(12):1309-1318.

Analysis of Antibacterial Activity and Chemical Constituents of Ethanol Extracts from *Houttuynia cordata* Roots and Aerial Part

ZHOU Qinglan, XIONG Yan, YU Xiaodong, REN Miao, XIANG Bolin, HE Qiyi
(Chongqing Engineering Research Center of Bioactive Substance, Ministry of Education Engineering
Research Center of Active Substance and Biotechnology, College of Life Sciences,
Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: [Purposes] To explore the antimicrobial activity and chemical components of the root and aerial part ethanol extracts from *H. cordata*. [Methods] The ethanol extracts of root and aerial part from *H. cordata* were prepared with heat reflux extraction by ethanol solvent. The antimicrobial activity was then determined by the plate coated method and 96-well plate method. Meanwhile the chemical components of ethanol extracts were detected by using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technology. [Findings] The minimum inhibitory concentration (MIC) of root extract against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Penicillium notatum*, *Aspergillus niger*, and *Saccharomyces cerevisiae* were 0.068, 0.250, 0.125, 0.125, 0.004, and 0.250 g · mL⁻¹, respectively. The MIC of aerial part extract against the test bacteria were 0.068, 0.034, 0.068, 0.125, 0.001, and 0.125 g · mL⁻¹, respectively. The results obtained by GC-MS revealed that the root and aerial part extracts consisted of various components with antimicrobial activity, including 9,12,15-octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- and *n*-hexadecanoic acid, thymine, triethyl phosphate, 2,4-di-tert-butylphenol, and phytol. However, only two antibacterial constituents, 9,12,15-octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- and *n*-hexadecanoic acid, were found in the root extract. [Conclusions] The antimicrobial activity of aerial part extract was stronger than root extract, moreover, the types and contents of antibacterial constituents were obviously increased in the aerial part extract than root extract.

Keywords: *Houttuynia cordata*; root; aerial part; ethanol extract; antimicrobial activity; chemical components; gas chromatography-mass spectrometry

(责任编辑 方 兴)