

中药挥发油抗菌作用的研究进展

王梁凤¹, 李慧婷³, 陈青垚¹, 柳小莉³, 徐杰¹, 罗晶¹, 杨明^{1,3}, 张小飞^{1,2*}, 王芳^{1*}

(1.江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室,江西 南昌 330004;

2.陕西中医药大学 药学院,陕西 咸阳 712046; 3.成都中医药大学 药学院,四川 成都 610075)

[摘要] 由于全球范围内化学药抗生素的滥用,导致“超级细菌”的不断出现,引发细菌耐药性对人类的危害愈发严重。因此,寻找来源广泛、抗菌谱广、无毒或低毒、对环境友好、有效成分多样且不易产生耐药性的绿色抗生素具有重要意义。中药挥发油是存在于植物中的一类具有挥发性、可随水蒸气蒸馏、与水不相混溶的油状液体的总称,因其具有良好的抗耐药病原体的潜力,广泛应用于食品、医药等领域。该文从中药挥发油抗菌的优势及特点,中药挥发油联合应用的抗菌效果、抗菌机制等方面进行综述,旨在为解决细菌耐药性问题和研发天然、绿色抗生素提供一定的理论基础及研究思路。

[关键词] 中药挥发油; 抗菌活性; 耐药性; 协同作用; 绿色抗生素; 抗菌机制

Research progress on antibacterial activity of herbal volatile oil

WANG Liang-feng¹, LI Hui-ting³, CHEN Qing-yao¹, LIU Xiao-li³, XU Jie¹, LUO Jing¹, YANG Ming^{1,3},
ZHANG Xiao-fei^{1,2*}, WANG Fang^{1*}

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM) under Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China; 2. College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xiayang 712046, China; 3. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China)

[Abstract] Due to worldwide abuse of chemical antibiotics and continuous emergence of "superbugs", the harm of bacterial drug resistance to human beings has become more and more serious. Therefore, it is of great significance to look for green antibiotics with a wide range of sources, broad antibacterial spectrum, non-toxicity or low toxicity, environmentally friendliness, diverse active components and low drug resistance. The volatile oil of traditional Chinese medicine is a kind of volatile oily liquid that exists in plants and can be distilled with steam and immiscible with water. Because of its good potential to resist drug-resistant pathogens, it is widely used in food, medicine and other fields. This paper summarized the antibacterial advantages and characteristics of volatile oil of traditional Chinese medicine, and the antibacterial effect and antibacterial mechanism of combined application of volatile oil of traditional Chinese medicine, in order to provide some theoretical basis and study ideas for solving the problem of bacterial drug resistance and developing natural and green antibiotics.

[Key words] herbal volatile oil; antibacterial activity; drug resistance; synergistic effect; green antibiotics; antibacterial mechanism

DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20201123.603

随着微生物对化学抗生素耐药性的不断增加,“后抗生素”时代正在逼近。据全球疾病负担研究(global burden of disease study, GBDS)统计,全球传染病死亡率居第二^[1],而抗生素是治疗此类疾病的一线药物^[2],但滥用抗生素导致病

[收稿日期] 2020-05-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81960714);江西省重大科技研发专项(20194ABC28009);江西中医药大学双一流学科建设项目(JX-SYLXK-ZHYA0083, JXSYLXK-ZHYA0084)

[通信作者] * 张小飞, 博士, 副教授, 主要从事中药新技术与新剂型研究, Tel: (029) 38185175, E-mail: zhangxiaofei830@163.com; * 王芳, 博士, 副教授, 主要从事中药制剂学研究, Tel: (0791) 87118645, E-mail: cat689apple@163.com

[作者简介] 王梁凤, 硕士研究生, E-mail: 849335729@qq.com

©1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

原微生物进化,使病原微生物对各类抗菌药物产生了一定的耐药性。目前我国抗生素耐药性问题具有产生较快,耐药谱越来越广及耐药强度增加等特点^[3]。据国外抗菌药物耐药性委员会报道,每年全球因耐药感染死亡人数达70万,若耐药性问题得不到解决,截至2050年,全球因耐药感染致死人数将达1000万人,经济损失达到100万亿美元^[4]。要解决此问题,一方面应制订及完善相关法规对抗生素进行监督和管理,另一方面应积极寻找新型的“绿色抗生素”。中药挥发油是芳香中药最具代表性的有效组分,具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤等多重药理作用,其显著的抗菌及抗真菌活性对于解决耐药性细菌、真菌感染问题具有重要意义。本文从中药挥发油抗菌的优势和特点,中药挥发油联合应用的抗菌效果、抗菌机制等方面进行分析和总结,旨在为研发天然、绿色抗生素提供科学参考。

1 中药挥发油抗菌的优势和特点

近年来,由于全球过度使用化学抗生素,导致了细菌耐药性的广泛产生,因此从中医药中寻找新的抗菌药物成了趋势所向。中医药应用在临床上已有几千年的历史,具有来源广泛、毒性小、疗效确切及活性物质多样等优势^[5]。而芳香性中药具有祛瘟除秽,开窍解毒之功效,如《神农本草经百种录》^[6]所载“香者气之正,正气盛则除邪辟秽也。”大量现代药理研究也表明这类芳香植物有广谱抗菌作用。相比于化学药抗生素,中药挥发油在抗菌方面具有以下优势与特点:①对慢性炎症具有免疫调节作用。KWON H I等^[7]研究表明,百里香酚能下调金黄色葡萄球菌感染的HaCaT角质形成细胞内促炎细胞因子基因的表达,达到抗炎抗菌作用。②作用速度快、安全有效、毒副作用小。美国食品药品监督管理局(FDA)批准了160种精油为“GRAS(一般认为安全)”的范围,可直接添加至食品中^[8]。③由于中药挥发油为多组分群,通常各成分之间表现为协同作用,且不是通过作用某一个单一的靶点而发挥抗菌效果,故不易产生耐药性^[9]。④在畜禽生产上也具有杀菌抗菌、诱食、促生长、抗氧化作用。HAFEEZ A等^[10]研究了添加百里香酚的饲料对肉鸡的影响,结果发现百里香酚能够提高回肠的养分消化率,从而起到促生长的作用。目前,随着全球化学药抗生素泛滥,中药挥发油作为一种绿色抗生素具有巨大的开发潜力及良好的应用前景。

2 中药挥发油抗菌过程中的联合作用

2.1 中药挥发油自身内部的联合作用 现代研究表明,中药挥发油活性成分如萜类、酚类、醇类、醛类、酮类化合物均具有广谱的抗菌效果,见表1。含有醛类或酚类物质的挥发油,如柠檬醛、丁香酚或百里酚等化合物,抗菌活性最高;其次是含有萜烯醇的挥发油;而含酮或酯类的挥发油抗菌活性较弱^[29-30]。含有不同成分的挥发油可以相互作用,从而降低或增加其抗菌效能^[31]。挥发油在抗菌方面可能产生以下4种效应:①无关效应;②累积效应;③拮抗效应;④协同效

应^[32]。气候、土壤质量、采收季节、提取方式和配伍等因素可通过影响中药挥发油的化学成分而影响抗菌效果。唐飞等^[33]采用琼脂二倍稀释法检测广藿香、厚朴挥发油单用、混合和共煎挥发油抑制G⁺细菌、真菌的最低抗菌浓度,结果表明广藿香、厚朴挥发油共煎时抗菌效果最佳。相关研究也研究表明,挥发油的抗菌活性普遍高于主要化合物,挥发油抗菌性能是其主要化合物与次要化合物共同作用的结果^[34]。

2.2 中药挥发油之间的联合作用 与单一的中药挥发油相比,不同挥发油组成的挥发油混合物可能因混合物成分多样性的增加而具有扩大抗菌谱,增强抗菌的效果,从而减少使用剂量(浓度),降低挥发油气味带来的负面影响。丁华等^[35]采用琼脂棋盘稀释法、三因子二次正交法对牛至精油、丁香精油、柠檬草挥发油两两复配研究其对黑曲霉、草本枝孢霉和球毛壳霉的抗菌效果,结果表明当柠檬草挥发油与牛至挥发油分别以0.025 μg·mL⁻¹的质量浓度进行复配,具有最佳的抗菌效果。部分中药挥发油之间的联合作用见表2,表中FICI(fractional inhibitory concentration indices)值为分级抑制浓度指数,用于评价2种挥发油联合抗菌效果,其公式为FICI=MIC甲药联用/MIC甲药单用+MIC乙药联用/MIC乙药单用。

2.3 中药挥发油和抗生素的联合作用 因单一用药与耐药性高度相关,少数抗生素对细菌产生耐药性,而挥发油及其活性成分较复杂,没有特定的细菌对挥发油产生耐药性,因此与挥发油联合应用可作为抗菌剂^[32]。中药挥发油与抗生素联合应用可降低药物浓度,减少副作用,提高抗菌药物疗效。相关研究表明:挥发油与抗生素联合应用可提高抗生素对病原菌的杀灭效果,并降低其毒副作用^[41]。相关研究报道:迷迭香的乙醇提取物联合头孢呋辛在0.39~3.13 mg·mL⁻¹质量浓度下具有协同作用^[42],香茅挥发油与阿莫西林联合使用对耐药金黄色葡萄球菌也具有协同作用^[43]。部分中药挥发油与抗生素联合应用情况见表3。

3 中药挥发油抗菌作用机制

从天然植物中提取的挥发油,其抗菌活性取决于化学成分的种类和含量,同时挥发油及其抗菌活性成分不是由一个特定的机制引起的,而是涉及整个细菌细胞的一连串反应^[52]。目前的研究报道显示,挥发油及其成分抗菌作用机制主要包括:破坏细胞质膜结构、增强膜通透性、破坏膜蛋白、抑制ATP合成以及影响脂质层稳定、溶解胞体中的脂肪体、影响菌体的群体感应(quorum sensing, QS)活性等。

3.1 对微生物细胞壁和细胞膜的影响 细胞膜的完整性对于维持微生物的正常生命活动具有重要意义。若细胞膜结构受到破坏,一些重要离子和内容物从细胞内部释放出来,导致细菌的生长繁殖、生理形态受到影响。中药挥发油能通过增加细菌细胞膜的通透性,干扰细胞的正常代谢,从而导致细胞死亡。

表1 代表性中药挥发油及其成分抗菌分类

Table 1 Representative volatile oil of traditional Chinese medicine and antibacterial classification of its components

类别	成分	代表性 中药挥发油	作用对象	实验结果	抗菌机制	参考 文献
萜类	蒎烯	桉叶	大肠埃希菌、腐败希瓦菌、副溶血性弧菌、金黄色葡萄球菌	抗菌圈直径分别为 33.33, 27.87, 38.88, 39.61 mm。MIC 分别为 1.00, 1.25, 0.75, 0.63 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	改变细胞膜的通透性,破坏细胞膜的完整性,造成细胞内容物的泄露及细胞生理功能紊乱,从而导致细菌的死亡	[11]
			柠檬烯	红松松针	大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌	抗菌圈分别为(15.2±0.12), (13.3±0.15), (9.5±0.21) mm。MIC 分别为 1.26, 2.50, 5.00 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$
	β -榄香烯	紫茎泽兰	金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、白色念珠菌	抗菌作用顺序:金黄色葡萄球菌>白色念珠菌>大肠埃希菌,其中金黄色葡萄球菌的 MIC 是 200 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	影响细胞膜的通透性,抑制细菌蛋白和核酸的合成而发挥抗菌作用	[13]
酚类	丁香酚	丁香	大肠埃希菌、四联球菌、枯草芽孢杆菌、荧光假单胞菌	MIC 分别为 15.63, 62.5, 250, >1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	-	[14]
			百里香酚	百里香	金黄色葡萄球菌、单增李斯特菌、大肠埃希菌	MIC 分别为 0.188, 0.375, 3.00 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$
	香芹酚	牛至	腐生葡萄球菌	MIC 均为 0.25%	增加细胞膜通透性	[16]
醇类	芳樟醇	天竺葵	甜瓜灰霉病菌、甜瓜枯萎病菌、西瓜炭疽病菌、柑橘黑腐病菌	对甜瓜灰霉病菌的毒力最强,其 EC_{50} 为 262.631 9 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对柑橘黑腐病菌、西瓜炭疽病菌和甜瓜枯萎病菌的 EC_{50} 分别为 286.542 3, 654.320 3, 965.783 8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	-	[18]
			松油醇	肉豆蔻	金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希菌、酿酒酵母菌	MIC 分别为 5.0, 120.0, 150.0, 10.0 $\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$
	香叶醇	香茅	大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌	MBC 分别为 0.15%, 0.75%, 0.75%	-	[20]
醛类	肉桂醛	肉桂	大肠埃希菌、白色念珠菌、金黄色葡萄球菌、白色葡萄球菌、铜绿假单胞菌	MBC 分别为 <0.297%, <0.297%, <0.297%, 0.594%~1.188%, <0.297%	-	[21]
			柠檬醛	柠檬草	金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希杆菌、青霉菌、酵母菌、毛霉菌	MIC 分别为 0.005, 0.005, 0.01, 0.02, 0.02, 0.02 $\text{mL}\cdot\text{mL}^{-1}$
	紫苏醛	紫苏	橘灰青霉、尖孢镰刀菌	MIC 分别为 0.125, 1 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	-	[23]
酮类	茴香醛	八角茴香	大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、酵母菌、黑曲霉	MIC 分别为 31.25, 15.625, 62.5, 62.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	-	[24]
			香茅醛	山苍子	黑曲霉、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌	MIC 分别为 0.11, 0.47, 0.47 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$
	香芹酮	留兰香	枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌	MIC 分别为 0.5, 1.0, 3.5 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	-	[26]
	薄荷酮	薄荷	大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、表皮葡萄球菌	MIC 分别为 0.05~0.10, 0.05~0.10, 0.10~0.20, 0.20~0.39, 0.10~0.20 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$	-	[27]
苍术酮	白术	鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌、草绿色链球菌	对鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌和草绿色链球菌的抑制作用较明显,抗菌率达 95%以上	-	[28]	

表2 中药挥发油之间的联合应用

Table 2 Joint application of essential oils of traditional Chinese medicine

中药挥发油	作用对象	混合比例	MIC	FICI	作用机制	参考文献
百里香/鼠尾草	李斯特菌	1:1	-	1.00	拮抗作用	[36]
蓝桉/玫瑰	变异链球菌	1:1	0.013/0.025 mg·mL ⁻¹	0.006	协同作用	[37]
百里香/薄荷	大肠埃希菌	1:1	2.8/28.5 mg·mL ⁻¹	0.55	相加作用	[38]
百里香/肉桂	金色葡萄球菌	1:1	4.0/0.2 mg·mL ⁻¹	0.26	协同作用	[38]
香芹酚/肉桂醛	①大肠埃希菌 44102	①1:1	①156.25/312.5 μg·mL ⁻¹	①0.75	①相加作用	[39]
	②大肠埃希菌野毒 078	②1:1	②312.5/312.5 μg·mL ⁻¹	②1	②相加作用	
	③鸡白痢沙门菌	③1:1	③156.25/156.25 μg·mL ⁻¹	③1	③相加作用	
肉桂/八角	①嗜水气单胞菌	1:1	①31.25/125 mg·mL ⁻¹	①0.375	①协同效应	[40]
	②荧光假单胞菌		②62.5/125 mg·mL ⁻¹	②0.625	②累加效应	

表3 中药挥发油及其成分与抗生素的联合作用

Table 3 Synergistic effect of volatile oil of traditional Chinese medicine and its components with antibiotics

挥发油及其成分/ 抗生素	混合比例	作用对象	MIC	FICI	抗菌效应	参考文献
肉桂醛/乳酸链球菌素	-	①金黄色葡萄球菌 ATCC11778; ②金色葡萄球菌 ATCC6538; ③金色葡萄球菌 ATCC29213	-	FICI: 0.262 5~0.375, 其中金色葡萄球菌 ATCC29213 为 0.262 5	协同效应	[44]
①香芹酚/萘啶酸; ②丁香酚/萘啶酸; ③百里酚/萘啶酸	2:1	沙门菌 LT2DT104	①8/4 μg·mL ⁻¹ ; ②8/4 μg·mL ⁻¹ ; ③8/4 μg·mL ⁻¹	-	-	[45]
①香芹酚/萘啶酸; ②丁香酚/萘啶酸; ③百里酚/萘啶酸	2:1	沙门菌 ATCC1408	①8/4 μg·mL ⁻¹ ; ②16/2 μg·mL ⁻¹ ; ③8/4 μg·mL ⁻¹	-	-	[45]
迷迭香/环丙沙星; ①柠檬/阿米卡星;	6:4	肺炎杆菌	8 000/0.33 μg·mL ⁻¹	FIC: 0.28	协同效应	[46]
②肉桂/阿米卡星	-	不动杆菌属	①9.7/19.5 μg·mL ⁻¹ ; ②9.7/19.5 μg·mL ⁻¹	FIC: ①0.037; ②0.045	协同效应	[47]
丁香酚/万古霉素; 丁香酚/β-内酰胺	-	大肠埃希菌、产气杆菌、普通变形杆菌、沙门菌、铜绿假单胞菌	-	-	-	[48]
牛至/林可霉素	-	大肠埃希菌	-	FIC: 0.75	累加效应	[49]
天竺葵/诺氟沙星	-	①枯草芽孢杆菌; ②蜡样芽孢杆菌; ③金色葡萄球菌 ATCC6538; ④金色葡萄球菌 ATCC29213; ⑤大肠埃希菌	①90/0.05 mg·mL ⁻¹ ; ②90/0.13 mg·mL ⁻¹ ; ③180/0.06 mg·mL ⁻¹ ; ④90/0.13 mg·mL ⁻¹ ; ⑤2 320/0.01 mg·mL ⁻¹	FICI: ①0.51; ②0.50; ③0.37; ④0.38; ⑤0.57	①累加效应; ②协同作用; ③协同作用; ④协同作用; ⑤累加效应	[50]
天竺葵/庆大霉素	-	①蜡样芽孢杆菌; ②枯草芽孢杆菌; ③金色葡萄球菌 ATCC29213; ④金色葡萄球菌 ATCC6538p; ⑤大肠埃希菌 ATCC25922; ⑥鲍氏不动杆菌; ⑦黏质沙雷菌; ⑧鼠疫耶尔森菌	①250/0.125 μg·mL ⁻¹ ; ②50/0.06 μg·mL ⁻¹ ; ③60/0.01 μg·mL ⁻¹ ; ④10/0.04 μg·mL ⁻¹ ; ⑤50/0.12 μg·mL ⁻¹ ; ⑥20/0.24 μg·mL ⁻¹ ; ⑦200/0.12 μg·mL ⁻¹ ; ⑧50/0.03 μg·mL ⁻¹	FICI: ①0.30; ②0.34; ③0.28; ④0.35; ⑤0.30; ⑥0.11; ⑦0.45; ⑧0.22	协同作用	[51]

百里酚、香芹酚等疏水性成分可破坏细菌细胞膜,引起大量离子泄漏,最终导致细胞死亡,见图1^[53-54]。SHEN S等^[55]以革兰阴性大肠埃希菌和革兰阳性金黄色葡萄球菌为模型菌,采用扫描电镜和透射电镜观察肉桂醛对细菌形态的影响,发现当肉桂醛质量浓度为 $0.31 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,细胞壁与细胞膜出现裂解,胞质内容物渗出,膜的完整性和通透性受到损伤,且损伤程度与肉桂醛浓度呈正相关。万力等^[56]采用纸片扩散法研究了山苍子油对申克孢子丝菌的作用机制,结果表明山苍子油可使申克孢子丝菌的细胞膜受到破坏,并改变膜的通透性,使渗透压降低,影响其正常代谢。INOUE S等^[57]通过扫描电镜观察牛至、紫苏、茶树、薰衣草、丁香和天竺葵挥发油在密闭条件下对须癣毛癣菌超微结构的影响。在未处理的对照琼脂塞中,幼菌丝生长良好,呈现线性,表面光滑,见图2A;而当用质量浓度为 $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的牛至挥发油处理菌丝4 h,菌丝表面出现褶皱、凸起、凹陷的现象,见图2B;当用质量浓度为 $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的牛至挥发油处理菌丝24 h,菌丝结构变形失去完整性,出现塌陷,菌丝表面有大量小囊泡,甚至菌丝相互粘连在一起。结果表明在一定剂量下,挥发油能使须癣毛癣菌的细胞膜和细胞壁发生凸起而被破坏,进而导致须癣毛癣菌死亡。

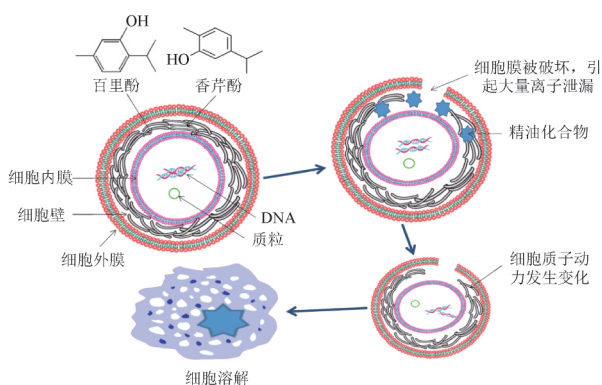
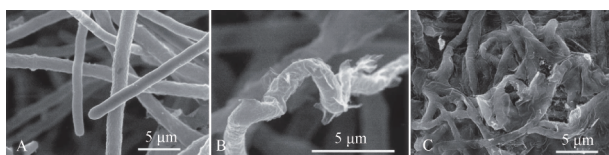


图1 百里酚、香芹酚对细菌细胞膜的影响

Fig.1 Effects of thymol and carvone on bacterial cell membrane



A. 须癣毛癣菌超微结构; B~C. 牛至挥发油引起的须癣毛癣菌超微结构的变化。

图2 牛至挥发油对须癣毛癣菌超微结构的影响

Fig.2 Effect of volatile oil from oregano on ultrastructure of *Trichophyton rubrum*

3.2 对微生物细胞核酸和蛋白质的影响 DNA作为基因复制及转录的模板,当DNA受到破坏或DNA复制受到抑制,

必将影响微生物性状及其生长繁殖。中药挥发油及其活性成分可通过抑制细菌细胞的蛋白质合成过程而达到抗菌作用。

DOMADIA P等^[58]研究发现了肉桂醛通过减少细胞分裂之间的相互作用,影响分裂蛋白的聚合来阻碍细胞分裂。JUVEN B等^[59]研究了百里香挥发油的活性成分百里酚对鼠伤寒沙门菌的抑制作用。结果显示,百里酚通过氢键相互作用影响膜结合蛋白,导致蛋白质外流,从而影响细胞的多种功能。KNOBLOCH K等^[60]采用同位素标记法研究发现中药挥发油能抑制蛋白质、肽聚糖、DNA和RNA的生物合成,使相关基因无法表达,最后导致细胞死亡。

3.3 对呼吸作用及能量代谢的作用 三磷酸腺苷(ATP)是所有生物细胞内的能量来源,不仅在呼吸和代谢中起着重要作用,也是许多酶反应中最重要的能量来源。当ATP合成酶受到抑制,会影响微生物的正常新陈代谢过程,严重则可使生物体死亡。

挥发油可通过破坏细胞膜扰乱细胞内外ATP的平衡,导致ATP损失和细胞死亡。丁香酚对质子泵和ATP酶的影响,见图3^[52]。AHMAD A等^[61]以细胞膜作为作用靶点研究了丁香酚和百里酚对念珠菌的抗菌机制,发现丁香酚和百里酚通过抑制 H^+ -ATP酶,使得细胞内的环境呈酸性,最终导致细胞死亡。牛至挥发油对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌呼吸代谢的抑制作用与碘乙酸、丙二酸和十二水合磷酸三钠三种典型抑制剂相同,并与丙二酸的叠加时抑制率最小,表明丙二酸与牛至挥发油可能抑制同一呼吸代谢途径,即通过三羧酸循环途径抑制耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的呼吸代谢^[62]。罗曼等^[63]通过生物化学方法、扫描电镜研究了柠檬醛对黄曲霉菌的抗菌机制,结果显示真菌细胞内的线粒体呈现不规则,氧化还原反应系统遭到破坏,说明柠檬醛可通过减少真菌细胞内ATP的合成、抑制还原型辅酶II的合成,同时抑制蛋白质、糖、脂类及核酸的合成,最终使细胞死亡。

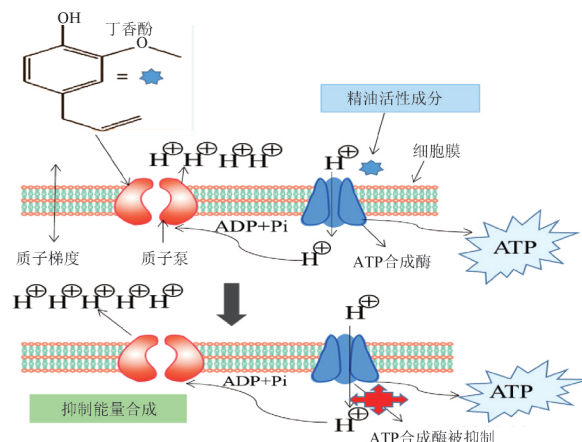


图3 丁香酚对质子泵和ATP酶的影响

Fig.3 Effect of eugenol on proton pump and ATP enzyme

3.4 对脂质层稳定性的影响 脂质作为构成细胞膜的一种材料,为膜上一些生理活性物质提供可流动的支撑环境。亲脂性成分可通过改变不饱和脂肪酸的比例来破坏细胞结构^[64]。挥发油组分对脂肪酸酶具有很强的作用,而脂肪酸酶在降低不饱和脂肪酸的链长和比例方面起着重要作用^[52]。

百里酚、丁香酚可降低不饱和 C₁₈ 脂肪酸的浓度,增加饱和 C₁₆(十六烯酸)和 C₁₈(硬脂酸)脂肪酸的数量^[52-53]。牛至挥发油可促进鼠伤寒沙门菌中不饱和脂肪酸的合成和顺反异构化^[65]。柠檬烯通过改变脂肪酸的组成和细胞结构,使细胞由于大量的离子泄漏而崩解^[66]。BARD M 等^[67]采用差示扫描量热仪、荧光偏振法研究了香茅挥发油中的香叶醇对磷脂囊泡的影响,结果表明香叶醇可降低细胞膜脂质层的相变温度,并影响脂膜的流动性。

3.5 对群体感应(quorum sensing, QS)的影响 群体效应是指微生物群体在其生长过程中,因群体密度的增加,导致其生理和生化特性的变化,显示出少量菌体或单个菌体所不具备的特征。群体感应可调节的生理活动主要有质粒的转移、生物膜形成、毒性因子表达、DNA 转录、胞外蛋白酶产生、色素的生成、次生代谢物的产生等^[9]。现代研究表明,中药挥发油能够通过抑制菌体的群体感应来达到抗菌的效果。自体诱导分子-2(AI-2)是由群体感应基因(LuxS, pfs 基因)表达产生,是种间细胞交流的通用信号分子。

NIU C 等^[68]研究提到低浓度的肉桂醛能够通过抑制大肠埃希菌及哈氏弧菌群体感应中的酰化高丝氨酸内酯(acyl homoserine lactones, AHLs)和 AI-2,从而导致菌体死亡。TAPIA R M R 等^[69]的研究结果表明,香芹酚可以通过抑制铜绿假单胞菌中 LasI 的活性,同时降低 lasR 基因、生物膜和集群运动的表达,进而影响酰基高丝氨酸内酯(AHL)的产生,最终抑制铜绿假单胞菌的群体感应,达到抑制毒力因子的抗菌效果。ARAM S 等^[70]以肺炎链球菌为模型菌,研究发现百里香酚能够通过抑制与群体感应相关基因 LuxS 和 pfs 的表达,从而破坏生物膜,最终导致菌体死亡。

4 结语及展望

我国丰富的芳香植物资源,为研究中药挥发油及其活性抗菌成分、开发新型绿色抗生素奠定了基础。中药挥发油及其抗菌活性成分作为一种有效的天然抗菌剂,与化学抗生素相比具有效果显著、无残留、毒副作用小、不易产生耐药性、抗菌谱广等优势。随着致病菌对大多数化学类抗生素产生耐药性,以天然活性成分为原料的“中药挥发油绿色抗生素”必定会受到国内外市场的青睐,但仍存在一些问题。①中药挥发油的成分复杂多样,物质基础和作用机制的研究是拓展其临床应用的关键,而目前进行抗菌性研究的多数为单方精油或单一活性成分,对其多种成分之间以及不同挥发油之间的相互作用的研究则较少,可凭借药物化学手段进行结构修饰或改造,并对先导化合物进行筛选和分子模拟来确定挥发油成分,最终为单用或联合用药提供更多的药物来源。②目

前大多数研究主要在单一菌株存在及恒定的环境条件下进行的,对于多种菌株共同存在的作用方式研究较少。此外,研究菌种的范围有待扩大,目前主要集中在金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、白色念珠菌、铜绿假单胞菌等,而对于其他致病菌的研究较少。③中药挥发油的抗菌机制研究还不够深入,物质基础不够明确,其明确靶点和作用方式还不清楚,未来需通过现代分子生物学等手段进一步研究抗菌肽与靶位点之间的相互作用。④相关研究大多数在体外进行,对体内的研究,如动物实验和临床试验则较少,挥发油在体内经吸收、分布、代谢、排泄过程中发生了一系列复杂的生化变化,仅凭单纯的体外实验是不能够全面评价挥发油抗菌的临床疗效,因此,在未来的研究中应对体内的抗菌研究进一步考察。随着大多数化学类抗生素的应用越来越受到限制,加之分析和制剂的研究水平不断提高,“中药绿色抗生素”必将迈入一个崭新的时代。

[参考文献]

- [1] MURRAY J C, LOPEZ A D. The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020: summary [R]. 1996.
- [2] KOHANSKI M A, DWYER D J, COLLINS J J. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks [J]. Nat Rev Microbiol, 2010, 8(6): 423.
- [3] 罗讯,徐紫慧,张文劲,等. 欧盟和北美抗生素耐药性监测调查现状比较 [J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(4): 393.
- [4] 钟建勋,程虹. PDCA 循环管理法在抗菌药物管理中的应用 [J]. 中国药事, 2018, 32(2): 250.
- [5] 娄京荣,郑重飞,李莹,等. 花椒属植物抗感染作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(22): 5477.
- [6] 徐灵胎. 神农本草经百种录 [M]. 罗琼校注. 北京: 中国医药科技出版社, 2011: 21.
- [7] KWON H I, JEONG N H, JUN S H, et al. Thymol attenuates the worsening of atopic dermatitis induced by *Staphylococcus aureus* membrane vesicles [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 59: 301.
- [8] TARIQ S, WANI S, RASOOL W, et al. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens [J]. Microb Pathogenesis, 2019, 134: 103580.
- [9] 萨仁高娃,胡文忠,冯可,等. 植物精油及其成分对病原微生物的抗菌机理的研究进展 [J]. 食品科学, 2020, 41(11): 285.
- [10] HAFEEZ A, NNER M K, SCHIEDER C, et al. Effect of supplementation of phyto-genic feed additives (powdered vs. encapsulated) on performance and nutrient digestibility in broiler chickens [J]. Poultry Sci, 2016, 95(3): 622.
- [11] 曾春兰,汤海青,欧昌荣,等. 桉叶精油对水产品中4种微生物的抑菌效果及抑菌机理 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(19): 20.
- [12] 樊梓鸾,张艳东,张华,等. 红松松针精油抗氧化和抑菌活性研究 [J]. 北京林业大学学报, 2017, 39(8): 98.

- [13] 刘松鑫. 紫萸泽兰挥发油的提取分离及抗菌作用初探[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2012.
- [14] 凌玮玮, 张正竹, 凌铁军, 等. 牡荆挥发油的组成及其抑菌活性研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(12): 75.
- [15] 周倩倩, 方士元, 梅俊, 等. 丁香酚对腐败希瓦氏菌和荧光假单胞菌的抑制机理[J]. 食品科学, 2020, 41(9): 1.
- [16] 王娣, 柯春林, 曹珂珂, 等. 百里香抑菌物质的提取工艺优化及活性研究[J]. 中国调味品, 2018, 43(4): 93.
- [17] 陈梦玲, 蓝蔚青, 李函笑, 等. 牛至精油对腐生葡萄球菌抑制作用机制[J]. 食品科学, 2020, 41(7): 46.
- [18] 张全官, 赵杰. 天竺葵精油对四种植物病原菌的抑菌活性研究[J]. 上海农业科技, 2013(1): 116.
- [19] 黄赛金, 尹爱武, 龚灯. 肉豆蔻挥发油抑菌及抗花生油氧化作用研究[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(5): 58.
- [20] 李晓娇, 晏爱芬, 侯洪波, 等. 微波辅助法香茅草精油的提取及抑菌活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(12): 81.
- [21] 牛彪, 金川, 梁剑平, 等. 三种植物精油化学成分分析及体外抑菌活性研究[J]. 动物医学进展, 2019, 40(12): 18.
- [22] 徐蜜. 柠檬草精油成分分析及抑菌活性研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2015.
- [23] 袁康, 胡振阳, 卢臣, 等. 紫苏精油对两种霉菌的抑菌活性效果研究[J]. 粮食科技与经济, 2019, 44(11): 85.
- [24] 付敏东, 李成欢. 八角茴香油的提取工艺及抗菌、抗氧化性作用[J]. 中国医药导报, 2011, 8(34): 29.
- [25] 吴均, 杨钦滢, 赵晓娟, 等. 山苍子油的抑菌活性及机理研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(17): 119.
- [26] 张晓伟, 李青雨, 王德国, 等. 留兰香精油的抗菌活性研究[J]. 食品科技, 2011, 36(4): 227.
- [27] 杨倩. 薄荷挥发油的化学型分析及抑菌、抗炎活性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2017.
- [28] 张雪青, 邵邻相, 吴文才, 等. 白术挥发油抑菌及抗肿瘤作用研究[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2016, 39(4): 436.
- [29] DORMAN H J D, DEANS S G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils[J]. J Appl Microbiol, 2000, 88(2): 308.
- [30] INOUE S, YAMAGUCHI H, TAKIZAWA T. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method[J]. J Infect Chemother, 2001, 7(4): 251.
- [31] DELAQUIS P J, STANICH K, GIRARD B, et al. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils[J]. Int J Food Microbiol, 2002, 74(1): 101.
- [32] DELGADO B, FERNÁNDEZ P S, PALOP A, et al. Effect of thymol and cymene on *Bacillus cereus* vegetative cells evaluated through the use of frequency distributions[J]. Food Microbiol, 2004, 21(3): 327.
- [33] 唐飞, 刘美辰, 张世洋, 等. 广藿香、厚朴配伍前后挥发油化学成分及抗菌活性对比研究[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(4): 478.
- [34] 郝文凤, 田玉红, 董菲, 等. 植物精油协同抑菌的研究进展[J]. 中国调味品, 2020, 45(3): 172.
- [35] 丁华, 黄倩, 王建清. 植物精油复配抑菌性能分析[J]. 包装工程, 2016, 37(21): 63.
- [36] FREIRE J, CARDOSO M, BATISTA L, et al. Essential oil of *Origanum majorana* L., *Illicium verum* Hook. f. and *Cinnamomum zeylanicum* Blume: chemical and antimicrobial characterization[J]. Rev Bras Plantas Med, 2011, 13(2): 209.
- [37] GOLDBECK J C, DO N J E, JACOB R G, et al. Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*[J]. Ind Crops Prod, 2014, 60: 304.
- [38] RAI M, KON K. Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* essential oil alone and in combination with other essential oils[J]. Nusantara Bioscience, 2012, 4(2): 50.
- [39] 涂玉蓉, 李美娣, 陈素珍, 等. 复配植物精油体外抑菌效果的研究[J]. 福建畜牧兽医, 2018, 40(1): 6.
- [40] 汪青青, 李萍, 赵鹏英, 等. 肉桂和八角精油联合抗菌作用研究[J]. 中国调味品, 2019, 44(3): 84.
- [41] YAP P S X, YIAP B C, PING H C, et al. Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance[J]. Open Microbiol J, 2014, 8: 6.
- [42] JARRAR N, ABU-HIJLEH A, ADWAN K. Antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. alone and in combination with cefuroxime against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Asian Pac J Trop Med, 2010, 3(2): 121.
- [43] CHOI J Y, DAMTE D, LEE S J, et al. Antimicrobial activity of lemongrass and oregano essential oil against standard antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* and field isolates from chronic mastitis cow[J]. Int J Food Microbiol, 2012, 4(1): 134.
- [44] SHI C, ZHANG X, ZHAO X, et al. Synergistic interactions of nisin in combination with cinnamaldehyde against *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk[J]. Food Control, 2017, 71: 10.
- [45] MILADI H, ZMANTAR T, KOUIDHI B, et al. Use of carvacrol, thymol, and eugenol for biofilm eradication and resistance modifying susceptibility of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* strains to nalidixic acid[J]. Microb Pathogenesis, 2017, 104: 56.
- [46] VAN V S, SULIMAN S, VIJJOEN A. The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials[J]. Lett Appl Microbiol, 2009, 48(4): 440.
- [47] GUERRA F Q S, MENDES J M, DE S J P, et al. Increasing antibiotic activity against a multidrug-resistant *Acinetobacter* spp by essential oils of *Citrus limon* and *Cinnamomum zeylanicum*[J]. Nat Prod Res, 2012, 26(23): 2235.
- [48] HEMAISWARYA S, DOBLE M. Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against Gram negative bacteria[J]. Phytomedicine, 2009, 16(11): 997.
- [49] SI H, HU J, LIU Z, et al. Antibacterial effect of oregano essential

- oil alone and in combination with antibiotics against extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2008, 53(2) : 190.
- [50] ANTONIO R ,CESARE V ,DE L N ,et al. Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with norfloxacin[J]. Phytomedicine ,2007 ,14(11) : 727.
- [51] ROSATO A ,PIARULLI M ,CORBO F ,et al. *In vitro* synergistic antibacterial action of certain combinations of gentamicin and essential oils[J]. Curr Med Chem ,2010 ,17(28) : 3289.
- [52] FILOMENA N ,FLORINDA F ,DE M L ,et al. Effect of essential oils on pathogenic bacteria[J]. Pharmaceuticals ,2013 ,6(12) : 1451.
- [53] LAMBERT R ,SKANDAMIS P N ,COOTE P J , A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil , thymol and carvacrol [J]. J Appl Microbiol ,2001 , 91(3) : 453.
- [54] MITTAL R P ,RANA A ,JAITAK V. Essential oils: an impending substitute of synthetic antimicrobial agents to overcome antimicrobial resistance[J]. Curr Drug Targets ,2019 ,20(6) : 605.
- [55] SHEN S ,ZHANG T ,YUAN Y ,et al. Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane[J]. Food Control ,2015 ,47: 196.
- [56] 万力 单秀娟. 山苍子油体外抗申克孢子丝菌的实验研究[J]. 中国真菌学杂志 ,2007 3(4) : 207.
- [57] INOUE S ,NISHIYAMA Y ,UCHIDA K ,et al. The vapor activity of oregano , perilla , tea tree , lavender , clove , and geranium oils against a Trichophyton mentagrophytes in a closed box[J]. J Infect Chemother 2006 ,12(6) : 349.
- [58] DOMADIA P ,SWARUP S ,BHUNIA A ,et al. Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde [J]. Biochem Pharmacol ,2007 ,74(6) : 831.
- [59] JUVEN B ,KANNER J ,SCHVED F ,et al. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents [J]. J Applied Bacteriol ,1994 ,76(6) : 626.
- [60] KNOBLOCH K ,WEIS N ,WEIGAND H. Mechanism of antimicrobial activity of essential oils [J]. Planta Med ,1986 ,doi: 10.1055/s-2007-969370.
- [61] AHMAD A , KHAN A , YOUSUF S , et al. Proton translocating ATPase mediated fungicidal activity of eugenol and thymol [J]. Fitoterapia ,2010 ,81(8) : 1157.
- [62] SONG Z ,SUN H ,YANG Y ,et al. Enhanced efficacy and anti-biofilm activity of novel nanoemulsions against skin burn wound multi-drug resistant MRSA infections [J]. Nanomedicine ,2016 ,12: 1543.
- [63] 罗曼 蒋立科. 柠檬醛损伤黄曲霉线粒体生化机理的研究[J]. 微生物学报 ,2002 42(2) : 226.
- [64] DI P R ,GAIL B ,NIKKI H ,et al. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils [J]. J Agri Food Chem ,2007 ,55(12) : 4863.
- [65] DE S E L. The effects of sublethal doses of essential oils and their constituents on antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance among food-related bacteria: a review [J]. Trends Food Sci Technol ,2016 ,6: 1.
- [66] HYLDGAARD M ,MYGIND T ,MEYER R L. Essential oils in food preservation: mode of action , synergies , and interactions with food matrix components [J]. Front Microbiol ,2012 ,3: 1.
- [67] BARD M ,ALBRCHT M R ,GUPTA N ,et al. Geraniol interferes with membrane functions in strains of *Candida* and *Saccharomyces* [J]. Lipids ,1988 ,23: 534.
- [68] NIU C ,AFRE S ,GILBERT E. Subinhibitory concentrations of cinnamaldehyde interfere with quorum sensing. [J]. Lett Appl Microbiol ,2006 ,43(5) : 489.
- [69] TAPIA R M R ,BERNAL M A T ,GUTIERREZ P M M et al. Virulence of *Pseudomonas aeruginosa* exposed to carvacrol: alterations of the Quorum sensing at enzymatic and gene levels [J]. J Cell Commun Signal ,2019 ,13(4) : 531.
- [70] ARAM S ,ALI A ,ABDOLMAJID M. Streptococcus pneumoniae quorum sensing and biofilm formation are affected by *Thymus daenensis* , *Satureja hortensis* , and *Origanum vulgare* essential oils [J]. Acta Microbiol Imm H ,2018 ,65(3) : 345.

[责任编辑 丁广治]