

中药挥发油抑菌活性的研究进展^Δ

陈海鹰*,范正达(常州市第三人民医院,江苏常州 213001)

中图分类号 R969.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)14-2011-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.14.47

摘要 目的:为中药挥发油抑菌活性的研究与临床应用提供参考。方法:参阅近年来相关文献,对具有抑菌活性的中药挥发油的中药材分布、提取方法、抑菌活性评价方法、抑菌机制和存在问题进行归纳和总结。结果:中药挥发油具有一定程度的抑菌活性,不同提取方法萃取的中药挥发油的色泽、化学成分及含量、抑菌活性可能存在差异,其通过多个环节产生抑菌作用,但在提取和抑菌活性评价中还存在问题。结论:通过改进中药挥发油的提取、贮存方法,深入研究其抑菌机制,可提高中药挥发油的萃取率和抑菌活性,为其进一步的研究、开发和临床应用提供参考。

关键词 中药;挥发油;抑菌活性;抑菌试验

挥发油又称精油,多具有香气,在常温下可挥发,可随水蒸气蒸馏,为与水不相混溶的油状液体,具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、止咳平喘祛痰、解热镇痛抗炎、驱虫等功效,其源于自然,对人体相对安全。中药挥发油主要源于芳香类中药,具有的气味芳香、药源广泛、抑菌但不易产生耐药性等优点。传统中医理论认为,中药挥发油具有芳香走窜的性质,可快速发挥疗效;现代药物研究表明,其分子质量小,脂溶性强,易透过体内生物膜,生物利用度高^[1-2]。本文查阅近年来相关文献,对具有抑菌活性的中药挥发油的分布、提取方法、抑菌活性评价方法、抑菌机制和存在问题等方面作一综述,以期对中药挥发油抑菌活性的研究与临床应用提供参考。

1 中药材分布

中药挥发油多以油滴状态存在于中药材的腺毛、油细胞、油管或油室中,菊科(如青蒿、艾叶、苍术、大蓟、菊花、野菊花、千里光、佩兰、漏芦)、姜科(如草豆蔻、干姜、高良姜、莪术、益智仁、砂仁)、芸香科(如佛手、花椒、青皮、吴茱萸、枳实、枳壳)、唇形科(如藿香、香薷、紫苏)、樟科(如肉桂、桂枝、胡椒)、伞形科(如柴胡、小茴香)、桃金娘科(如丁香)、三白草科(如鱼腥草)、马兜铃科(如细辛、青木香)、木兰科(如厚朴、八角)中药均含有丰富的挥发油^[3-22]。含有抑菌活性挥发油的中药材见表1,多为具有辛味的解表药、化湿药、温里药、理气药以及具有清热解毒功效的清热药。

表1 含有抑菌活性挥发油的中药材

功效	中药材
解表	香薷 ^[3] 、紫苏 ^[4] 、生姜 ^[5] 、桂枝 ^[6] 、薄荷、柴胡 ^[7] 、菊花 ^[8] 、麻黄、细辛
清热	金银花、连翘、鱼腥草 ^[9] 、紫花地丁、千里光、竹叶、野菊花、漏芦、青蒿 ^[10]
化湿	藿香 ^[11] 、佩兰、苍术 ^[12] 、厚朴 ^[13] 、砂仁、益智仁、草豆蔻
温里	肉桂 ^[14] 、花椒 ^[15] 、丁香 ^[16] 、小茴香 ^[17] 、八角 ^[18] 、干姜、高良姜、吴茱萸、胡椒
理气	青皮、枳实、枳壳、青木香、佛手 ^[19] 、玫瑰花
止血	艾叶 ^[20] 、大蓟、侧柏叶、紫草、槐花
活血	姜黄、郁金、莪术 ^[21]
开窍	石菖蒲
补虚	当归、玉竹
收涩	桑螵蛸、肉豆蔻
杀虫、止痒	大蒜 ^[22]

2 提取方法

Δ 基金项目:常州四药临床药学科研基金项目(No.2014280)

* 中药师,硕士。研究方向:医院制剂质量标准。电话:0519-83016926。E-mail:609776361@qq.com

中药挥发油主要包括萜类化合物、芳香族化合物、脂肪族化合物和含硫/氮化合物,提取方法包括传统提取方法和新提取方法。传统提取方法如水蒸气蒸馏法、同时蒸馏萃取法、压榨法、油脂吸收法、索氏提取法、溶剂提取法;新提取方法如超临界CO₂萃取法、亚临界水提取法、超声波辅助提取法;微波辅助提取法、微胶囊-双水相萃取法、酶法辅助提取法、固相微萃取法、分子蒸馏技术等^[23-24]。

唐裕芳等^[25]分别采用水蒸气蒸馏法、微波辅助提取法和索氏提取法提取苍术挥发油。结果显示,索氏提取法得到的苍术挥发油为黏稠状深红棕色油状液体,提取率为8.936%;微波辅助提取法得到的苍术挥发油为黏稠状红棕色油状液体,提取率为4.260%;水蒸气蒸馏法得到的苍术挥发油为浅红色澄清油状液体,提取率为2.014%,且对供试菌的抑制作用最强。

岳红坤等^[26]比较了超临界CO₂萃取法和水蒸气蒸馏法提取的桂枝挥发油中桂皮醛的含量,分别为1.3718%和0.1646%,含量相差7.33倍。

张丽勇等^[27]比较了索氏提取法、直接蒸馏法提取的青蒿挥发油化学成分和抗菌活性的差异。结果显示,直接蒸馏法提取的青蒿挥发油对北京棒状杆菌、枯草芽孢杆菌、四联球菌、变形杆菌的抑菌率分别为0.023%、0.023%、0.059%和3.750%;索氏提取法得到的青蒿挥发油对这4种供试菌的抑菌率分别为2.50%、1.25%、2.50%和5.00%。表明直接蒸馏法提取的青蒿挥发油抑菌效果强于索氏提取法。通过气质联用(GC-MS)法分析,直接蒸馏法提取的青蒿挥发油烯类含量高于索氏提取法。

杨日福等^[28]比较了超声强化亚临界水提取法、超声波辅助提取法、水蒸气蒸馏法提取的紫草挥发油的差异。结果显示,水蒸气蒸馏法提取的紫草挥发油萃取率最低(0.62%),但是对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除能力、还原能力以及对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌效果最强;超声强化亚临界水提取法对紫草挥发油的萃取率最高(2.39%),但活性最差。

徐响等^[29]比较了水蒸气蒸馏法和超临界CO₂萃取法提取的蜂胶挥发油成分和抑菌作用。结果显示,水蒸气蒸馏法萃取蜂胶时主要萃取出二甲基丁酸、苯甲醛、柠檬烯、桉叶油醇、苯甲醇、苯乙醇、乙酸苯甲酯、苯甲酸、2-甲氧基-4-乙炔苯酚、愈创醇、甘菊环族化合物等;超临界CO₂萃取法主要萃取出苯

甲醇、甘菊环族、萘甲醇类化合物、愈创醇、癸醛、烃类(十六烷、十九烷、1-二十二烯、二十四烯等)、异香橙烯环氧化物、肉桂酸肉桂酯等。两种方法提取的蜂胶挥发油均对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好,但超临界CO₂萃取法提取的蜂胶挥发油对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的抑菌圈较大,最低抑菌浓度(MIC)均为1.25 mg/ml;水蒸气蒸馏法提取的蜂胶挥发油对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的MIC分别为20、10 mg/ml。表明超临界CO₂萃取法提取的蜂胶挥发油的抑菌效果强于水蒸气蒸馏法提取的蜂胶挥发油。

不同提取方法提取的中药挥发油的色泽、萃取率、化学成分及含量、活性均有差异,研究者可根据中药挥发油的用途选择合适的提取方法。

3 抑菌活性评价方法

中药挥发油常用的抑菌活性评价方法有体内和体外方法,体外抑菌活性研究是直接评价药物抑菌效果的重要环节。近年来,中药挥发油抑菌活性评价多集中于体外抑菌活性评价,分定性和定量两种方法^[30]。定性的琼脂扩散法操作简便,以抑菌圈直径作为指标,可初步判断药物对测试菌的抑制作用,包括滤纸片扩散法、牛津杯法、打孔法等,其中滤纸片法载样量较小,牛津杯法杯碟易滑动,打孔法对操作技术要求较高,应根据挥发油理化性质等选择合适的方法。

祝瑞雪等^[31]分别采用滤纸片扩散法和打孔法测定水蒸气蒸馏法提取的汉源花椒挥发油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、侧孢芽孢杆菌、蜡状芽孢杆菌的抑菌作用。两种方法测定的结果均显示对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好,但在相同试验条件下,打孔法测定的抑菌效果强于滤纸片扩散法,可能在培养过程中,注入小孔比吸附于滤纸片的花椒挥发油更易渗透入培养基,从而导致打孔法测出的抑菌效果比滤纸片扩散法明显。

唐裕芳等^[32]将含公丁香挥发油的滤纸片分别贴于含菌平板中央和培养皿盖中央,考察其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌等测试菌的固体平板扩散和气相扩散抑菌作用。结果表明,公丁香挥发油经平板扩散后和经气相扩散后对测试菌均有抑菌作用,虽然经气相扩散后对测试菌的抑菌作用较弱,但公丁香挥发油具有以气体形式与菌体接触到抑制菌体生长的潜力。

定量稀释法可定量测定药物对测试菌的MIC、最小杀菌浓度(MBC),包括液体稀释法和固体稀释法。其中,常量液体稀释法采用肉眼观察接种测试菌的含药试管内是否有菌生长,而微量液体稀释法常参用比浊仪来观察接种测试菌的微孔内是否有菌生长,两种液体稀释法均可进一步通过将试管或微孔中液体转种到琼脂平板经培养后观察菌落数。固体稀释法采用含药琼脂平板或斜面,接种测试菌后采用平板菌落计数,肉眼观察是否有菌生长。虽制备含药平板或斜面较为烦琐,但结果和重复性优于液体稀释法,且易发现耐药突变株或污染^[33]。

4 抑菌机制

中药挥发油的抑菌活性物质基础和机制均不明确,其抑菌机制可能与中药挥发油中多种成分的协同作用破坏菌体细胞壁和细胞膜通透性、影响细菌物质和能量代谢、影响细菌蛋

白质和核酸合成等有关。

万峰等^[34]研究表明,广藿香挥发油对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和对甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌均有明显抑制作用,其抑菌机制与损伤细胞膜、破坏细胞结构完整性、影响细胞壁和细胞膜通透性、改变膜蛋白构象有关。

钱静漪等^[35]研究表明,亚抑菌浓度的茅苍术挥发油能抑制金黄色葡萄球菌标准菌株 ATCC 25923 以及多株临床耐药金黄色葡萄球菌的生长,抑制凝固酶的分泌,减弱菌株的黏附能力,抑制金黄色葡萄球菌毒力因子如 α -溶血素等表达。

张赞彬等^[36]测定八角茴香挥发油及其主要单体成分大茴香醛、柠檬烯、反式茴香脑作用于大肠杆菌后菌液中还原糖含量、蛋白质含量和电导率的变化,推测八角茴香挥发油的抑菌作用可能为所含的多种抑菌成分协同作用,抑菌机制与破坏细菌组织结构使菌体损伤有关。

5 存在问题

5.1 提取存在的问题

中药挥发油的提取方法是影响其萃取率的关键因素,不同提取方法制备的中药挥发油的色泽、化学成分及含量、活性均可能存在差异。目前,有关中药挥发油提取的报道常以挥发油的萃取率、指标性成分含量、指纹图谱或药效作用等作为考察指标,优选最佳提取方法。不考虑中药挥发油的活性,单纯以萃取率结合指标性成分含量作为指标考察,存在一定的片面性,但综合指标的量效融合方法则存在操作复杂的问题。因此,快速、简便、有效的指标选择是推进中药挥发油提取工艺的重要部分。

药材的粉碎粒度也是影响中药挥发油萃取率的重要因素。根据菲克扩散定律,粒度直径大将降低挥发油萃取率,直径小则可能在粉碎过程中造成挥发油的损耗,故不同药材应根据用药部位和质地选择适宜的粉碎粒度。苍术、川芎、当归、柴胡等药用部位为根、根茎、茎木类的药材,质地较重,宜粉碎成粗粉后提取;野菊花、荆芥、紫苏、香薷、薄荷和藿香等药用部位为花、全草类药材,质地较轻,市购时已切成小段的可直接提取;连翘、八角茴香、佛手等果实、种子类药材,宜捣碎后提取。

5.2 贮存存在的问题

中药挥发油成分复杂,含多种易氧化基团,易被紫外线和氧气破坏,常温易挥发,稳定性不佳,且化学成分、萃取率和抑菌活性与中药材的产地、品种、用药部位、采收期、加工方法、贮存、提取方法等相关,给中药挥发油的研究带来困难,故中药挥发油抑菌活性研究需考虑以上因素,选择合适的研究方法,对提取得到的中药挥发油宜装于棕色瓶中,避光低温密闭保存,并建立合适的方法来考查其质量可控性和稳定性。

5.3 抑菌活性评价存在的问题

评价中药挥发油体外抑菌活性的方法较多,可根据试验需要和中药挥发油特点选择。中药挥发油的水溶性较小,经灭菌、增溶、助溶、稀释等处理后的溶解性、pH、渗透压等可能通过非特异性理化因素影响细菌的生长,从而干扰试验结果,故中药挥发油的抑菌活性评价宜采用两种或两种以上不同类型的体外抑菌试验,结合体内试验对结果进行验证^[37-38]。

另外,中药挥发油对不同的菌株表现出不同的抑菌活性,

如金黄色葡萄球菌和黑曲霉菌对藿香挥发油高度敏感,大肠杆菌则对其不敏感;紫花地丁挥发油对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、福氏痢疾杆菌均有明显的抑制作用,而对大肠杆菌无抑制作用。抑菌试验测试菌的选择也对中药挥发油抑菌活性研究存在影响。

6 结语

综上所述,中药挥发油是中药发挥药效的重要物质基础,诸多科属的中药挥发油可通过多个环节发挥抑菌作用,通过改进中药挥发油的提取、贮存方法,深入抑菌机制的研究,可提高中药挥发油萃取率和抑菌活性,为其进一步研究、开发和临床应用提供参考。

参考文献

[1] 黄罗生,顾燕飞,李红.中药挥发油及芳香性药物的研究进展[J].中国中药杂志,2009,34(12):1605.

[2] 于赞,陈川.中药挥发油提取技术及生物活性的研究进展[J].上海中医药大学学报,2014,28(2):75.

[3] 葛冰,卢向阳,蒋红梅,等.石香薷挥发油体外抗菌作用研究[J].中兽医学杂志,2005(2):8.

[4] 林硕,邵平,马新,等.紫苏挥发油化学成分GC/MS分析及抑菌评价研究[J].核农学报,2009,23(3):477.

[5] 刘瑜,张卫明,单承莺,等.生姜挥发油抑菌活性研究[J].食品工业科技,2008,30(3):88.

[6] 万里江,范正达,唐风雷,等.桂枝挥发油的提取及抗菌试验的考察[J].海峡药学,2008,20(12):32.

[7] 刘泽坤,陈海霞,李兵兵,等.烟台柴胡挥发油的GC/MS分析及抑菌活性研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(21):123.

[8] 孙玲,张婧.红心菊和黄菊挥发油抑菌效果的分析比较[J].现代中药研究与实践,2013,27(6):64.

[9] 伍贤进,李胜华,卢红梅,等.鱼腥草不同部位挥发油组分分析及其抗菌活性研究[J].中国抗生素杂志,2014,39(9):646.

[10] 高志玲,陈艳,谢英辉.黄花蒿挥发油的体外抑菌活性研究[J].食品科学,2010,31(19):209.

[11] 熊运海,冉烈,王玫.藿香与青蒿挥发油及其复合物抑菌活性及化学成分研究[J].食品科学,2010,31(7):135.

[12] 郭金鹏,王萍,孙如宝,等.苍术挥发油化学成分及其抗菌活性的研究[J].时珍国医国药,2011,22(3):566.

[13] 胡旭光,戴王强,韩彬,等.三种中药挥发油抑菌和抗疲劳作用实验研究[J].现代中西医结合杂志,2012,21(8):816.

[14] 赵丹,孙扬,陈光.肉桂精油的抑菌作用[J].吉林农业大学学报,2013,35(4):402.

[15] 唐裕芳,唐小辉,张妙玲,等.花椒挥发油化学组成及抑菌活性研究[J].湘潭大学自然科学学报,2013,35(2):64.

[16] 刘晓丽,钟少枢,吴克刚,等.丁香和肉桂精油气相抑菌活性研究[J].食品与发酵工业,2010,36(1):21.

[17] 马强,何璐,王玉龙,等.小茴香挥发油超声波提取工艺优化及抗菌活性研究[J].安徽农业科学,2007,35(7):1912.

[18] 刘昭明,黄翠姬,田玉红,等.八角挥发油成分分析与抑菌活性研究[J].中国调味品,2009,34(10):52.

[19] 郭卫东,郑建树,邓刚,等.佛手挥发油抑菌活性的研究[J].中国粮油学报,2009,24(8):103.

[20] 刘先华,周安,刘碧山,等.艾叶挥发油体内外抑菌作用的实验研究[J].中国中医药信息杂志,2006,13(8):25.

[21] 李业荣,桂蜀华,李翠平,等.莪术挥发油主要成分莪术醇的体外抗真菌活性研究[J].广州中医药大学学报,2011,28(1):46.

[22] 程桂林,徐淑芳,刘凤华,等.大蒜挥发油对猪鸡四种常见致病菌的抗菌效果[J].动物营养学报,2009,21(4):554.

[23] 伍振峰,王赛君,杨明,等.中药挥发油提取工艺与装备现状及问题分析[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(14):224.

[24] 范群红,刘芳,周丹,等.超临界流体萃取技术在中药挥发油提取中的应用[J].中国药房,2014,25(31):2964.

[25] 唐裕芳,张妙玲,陶能国,等.苍术挥发油的提取及其抑菌活性研究[J].西北植物学报,2008,28(3):588.

[26] 岳红坤,韩明会.桂枝挥发油不同萃取方法的比较研究[J].安徽农业科学,2010,38(15):7848.

[27] 张丽勇,林秀梅,战月,等.不同方法提取青蒿挥发油成分分析及抗菌活性比较[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(22):60.

[28] 杨日福,黄萍萍,丘泰球,等.不同方法萃取紫草中挥发油的比较[J].中药材,2011,34(2):289.

[29] 徐响,董捷,丁小宇,等.不同方法萃取蜂胶挥发油组成及抑菌作用的研究[J].食品科学,2010,31(3):60.

[30] 张学沛,朱盛山,刘静,等.评价中药体外抑菌法的研究进展[J].药物评价研究,2014,37(2):188.

[31] 祝瑞雪,曾维才,赵志峰,等.汉源花椒精油的化学成分分析及其抑菌作用[J].食品科学,2011,32(17):85.

[32] 唐裕芳,张妙玲,张有毫,等.公丁香挥发油化学组成及抑菌活性研究[J].湘潭大学自然科学学报,2008,30(4):101.

[33] 曾祥吉,李东霞.中药抑菌实验方法的研究[J].现代中西医结合杂志,2011,20(4):518.

[34] 万峰,彭成,曹小玉,等.广藿香精油对金黄色葡萄球菌的抑菌活性及机制研究[J].中成药,2014,36(7):1376.

[35] 钱静漪,王梦茹,张宁宁,等.亚抑菌浓度茅苍术挥发油对金黄色葡萄球菌毒力因子的表达的抑制作用的初步研究[J].中国病原生物学杂志,2014,9(5):408.

[36] 张赟彬,郭媛,江娟,等.八角茴香精油及其主要单体成分抑菌机理的研究[J].中国调味品,2011,36(2):28.

[37] 陆继梅,孟建华,安立,等.中药体外抗菌作用实验方法初探[J].中国药物经济学,2012,7(2):24.

[38] 张涓,张晶晶,程江雪,等.清热药体外抗菌作用的文献再评价[J].川北医学院学报,2013,28(1):23.

(收稿日期:2015-07-05 修回日期:2016-04-01)

(编辑:陶婷婷)