

何学文,戴雨芸,李欣越,等.肉桂醛体外对鼠伤寒沙门氏菌的抑菌机制[J].江西农业大学学报,2020,42(1):150-156.



肉桂醛体外对鼠伤寒沙门氏菌的抑菌机制

何学文,戴雨芸,李欣越,何泾正,李超,程娇,尹立子*

(四川农业大学 动物医学院,四川 成都 611130)

摘要:【目的】探究肉桂醛体外对鼠伤寒沙门氏菌的抑制效果及作用机制。【方法】通过微量倍比稀释法测定肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC);通过生长曲线探究肉桂醛对沙门氏菌增殖的影响;通过SDS-PAGE观察肉桂醛对菌体蛋白质的影响;通过扫描电镜观察肉桂醛对菌体形态的影响;测定电导率和DNA渗出量,观察肉桂醛对细菌细胞膜和细胞壁通透性的影响。【结果】肉桂醛具有一定的抑菌作用,MIC为128 $\mu\text{g/mL}$,MBC为512 $\mu\text{g/mL}$,MIC及以下浓度的药物对细菌增殖无明显影响,但可抑制菌体蛋白质代谢,破坏菌体正常形态,增加细胞膜和细胞壁通透性。【结论】肉桂醛对沙门氏菌具有一定的抑菌效果,可作用于菌体细胞膜和细胞壁,抑制菌体蛋白质代谢。

关键词:肉桂醛;鼠伤寒沙门氏菌;抑菌机制

中图分类号:S853.7 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2020)01-0150-07

Antibacterial Mechanism of Cinnamaldehyde on *Salmonella typhimurium* in vitro

HE Xue-wen, DAI Yu-yun, LI Xin-yue, HE Jing-zheng,
LI Chao, CHENG Jiao, YIN Li-zi*

(College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to investigate the inhibitory effect and mechanism of cinnamaldehyde on *Salmonella typhimurium* in vitro. [Method] Microdilution method was used to detect the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of cinnamaldehyde against *S. typhimurium*; the growth ability was detected by growth curve; the effects of cinnamaldehyde on the protein metabolism of *S. typhimurium* was analyzed using sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE); the effect of cinnamaldehyde on the morphology of bacteria was observed by scanning electron microscope; the conductivity and DNA leakage of supernatant were measured to observe the effect on membrane and cell wall. [Result] Cinnamaldehyde has certain bacteriostatic effect. The results showed that the MIC of cinnamaldehyde against *S. typhimurium* was 128 $\mu\text{g/mL}$, and MBC was 512 $\mu\text{g/mL}$. At sub-inhibitory and MIC concentrations, cinnamaldehyde had no effect on growth of *S. typhimurium*, but had inhibitory effect on protein metabolism, and increased permeability of membrane and cell wall. [Conclusion] Cinnamaldehyde can restrain

收稿日期:2019-06-10 修回日期:2019-07-18

基金项目:国家自然科学基金项目(31702284)和四川农业大学双支计划(03571444)

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (31702284) and Double Support Plan of Sichuan Agricultural University (03571444)

作者简介:何学文, orcid.org/0000-0003-4635-3330, xuewen-he@hotmail.com; *通信作者:尹立子, 博士, 副教授, 主要从事兽医药理学研究, orcid.org/0000-0001-8893-9538, yinlizi@sicau.edu.cn。

S. typhimurium growth, alter the permeability of cell membrane and cell wall, and suppress protein metabolism.

Keywords: cinnamaldehyde; *Salmonella typhimurium*; antibacterial mechanism

【研究意义】沙门氏菌属革兰氏阴性的肠杆菌科,为兼性厌氧细菌。沙门氏菌可利用葡萄糖、麦芽糖、甘露醇、山梨醇、不发酵乳糖和蔗糖在普通培养基上生长形成无色半透明、光滑、边缘整齐的菌落。菌体抗原已经被公认为沙门氏菌血清型分型的基础,沙门氏菌的抗原种类多且结构非常复杂,目前全世界已发现的血清型约有2 500种,我国已发现292个血清型^[1]。沙门氏菌可引起人和动物的败血症、胃肠炎和局部感染。沙门氏菌还可以导致怀孕母畜流产,严重影响动物的经济价值和生产性能^[2-4]。肉类、蛋类等动物制品在加工过程中容易被沙门氏菌污染,人类食用被沙门氏菌污染的食品后易患病,临床症状表现为腹泻、肠热病、菌血症^[5-6]。沙门氏菌的防治具有重要的公共卫生意义。【前人研究进展】肉桂醛也称桂皮醛,为中药桂枝和肉桂中的主要成分^[7-9]。肉桂醛可用于心脑血管病、糖尿病、高血压、胃溃疡等疾病的治疗和预防。此外,肉桂醛气味芳香怡人,且对细菌、真菌具有一定的杀灭作用,也常用来作为食用香精和饲料防腐添加剂,目前已被广泛应用于多个领域。王帆等^[10]从生长、结构和生理指标3方面探究肉桂醛对大肠杆菌和绿脓杆菌的抑制作用,结果显示肉桂醛能抑制细菌的增殖,并损伤大肠杆菌和绿脓杆菌的细胞膜,测定生理指标发现大肠杆菌内活性氧含量明显升高,说明肉桂醛可能通过氧化胁迫来损伤细胞膜,杀灭细菌。Karumathil等^[11]发现反式肉桂醛可破坏鲍曼不动杆菌的生物膜,其作用机制为下调鲍曼不动杆菌生物膜相关的基因转录表达。据研究表明,肉桂醛可降低黄曲霉菌胞内活性氧(ROS)代谢水平,并且引起菌丝细胞氧化损伤、增加细胞膜通透性^[12]。王贵强等^[13]发现肉桂醛可损伤耐药白色念珠菌细胞膜,抑制细胞膜麦角甾醇的合成。此外还有研究表明肉桂醛能下调金黄色葡萄球菌毒力因子的表达^[14]。【本研究切入点】已有的研究表明,肉桂醛对细菌和真菌都具有一定的抑制作用,但其作用机制并不相同,包括氧化损伤、下调基因转录水平、增加细胞膜通透性等,但肉桂醛对沙门氏菌的作用机制尚未完全明确。本文将在前人的研究基础上,进一步探究肉桂醛的抑菌机制。【拟解决的关键问题】本研究以鼠伤寒沙门氏菌为实验菌株,通过观察肉桂醛对沙门氏菌增殖速率、蛋白质、细胞膜通透性和细胞形态等方面的影响,探究肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌的体外抑菌机制,为肉桂醛应用于临床抗沙门氏菌感染提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 菌株

鼠伤寒沙门氏菌(ATCC14028)由四川农业大学动物医学院药学实验室保存,将沙门氏菌活化后涂布于胰蛋白胨大豆琼脂培养基,置37℃恒温静置培养24 h,挑取单菌落接种于胰蛋白胨大豆肉汤培养液,37℃,震荡培养过夜,然后稀释成 $OD_{600\text{nm}}=0.2$ 的菌悬液备用。

1.2 试剂和仪器

肉桂醛(HPLC≥98%)购于成都瑞芬思生物科技有限公司;胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB)和胰蛋白胨大豆琼脂培养基(TSA)购于杭州微生物试剂有限公司;考马斯亮蓝R-250、二甲基亚砜、无水葡萄糖、无水乙醇购于成都浩博优科技有限公司;SDS-PAGE凝胶配置试剂盒、5×蛋白上样缓冲液和双色预染蛋白Marker购于成都罗宁生物有限公司;磷酸盐缓冲液粉末(PBS)购于成都好校友生物科技有限公司;BCA试剂盒购于南京建成生物科技有限公司。

SM530C 高压蒸汽灭菌锅、低温恒温培养箱(成都盛德先华科贸有限公司);高速冷冻离心机ST16R(美国Thermo Fisher Scientific公司);电子分析天平J-SKY(昆山巨天仪器设备有限公司);超声波细胞粉碎机SM-650A(南京舜玛仪器设备有限公司);全功能凝胶成像系统仪(美国Bio-Rad公司);电导率仪DDS-307(上海仪电科学仪器股份有限公司);超净工作台SW.CJ.1D(成都市宜邦科析仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 MIC和MBC的测定 MIC的测定参照CLSI,采用微量肉汤稀释法。向96孔板中加入TSB和肉桂

醛,通过倍比稀释法使药物终质量浓度为512,256,128,64,32,16,8,4,2 $\mu\text{g/mL}$,然后加入菌悬液。另外设置阳性对照组(加TSB和菌悬液),阴性对照组(加TSB和药物),空白对照组(加TSB)。96孔板在37 $^{\circ}\text{C}$ 静置培养24 h后,阳性对照组应浑浊,空白对照组和阴性对照组应澄清透明。观察每组实验结果,培养液澄清透明的最小药物浓度为MIC。

在MIC的基础上,取药物组澄清的培养基100 μL 均匀涂布于TSA平板,37 $^{\circ}\text{C}$ 静置培养24 h。然后肉眼观察,培养基上菌落不超过5个视为杀灭细菌的最小药物浓度为MBC。

1.3.2 肉桂醛对沙门氏菌生长曲线的影响 向TSB培养基中加入菌悬液,使培养基中细菌的终浓度 $OD_{600\text{nm}}$ 为0.2左右。然后加入肉桂醛,使肉桂醛最终浓度为 $1/8\text{MIC}$ 、 $1/4\text{MIC}$ 、 $1/2\text{MIC}$ 、 MIC 、 2MIC 和 4MIC 。同时设置空白对照组(不加肉桂醛)。37 $^{\circ}\text{C}$ 震荡(150 r/min)培养,分别于0,1,2,3,4,6,8,10,12,24 h时吸取出培养液测定 $OD_{600\text{nm}}$ 的数值。以时间为横坐标,吸光光度值为纵坐标,绘制肉桂醛作用后沙门氏菌的生长曲线并确定沙门氏菌的对数生长期。

1.3.3 肉桂醛作用鼠伤寒沙门氏菌的SDS-PAGE分析 沙门氏菌接种于TSB培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养过夜,将菌液稀释至 $OD_{600\text{nm}}$ 为0.2左右,分别加入不同浓度的肉桂醛药液,使肉桂醛的终浓度为 $1/2\text{MIC}$ 、 $1/4\text{MIC}$ 、 $1/8\text{MIC}$,并设置空白对照组(不加肉桂醛),37 $^{\circ}\text{C}$ 震荡培养至对数生长后期。将菌液稀释至相同OD值后,取等体积菌液离心(6 000 r/min,10 min),弃上清,PBS清洗沉淀,重复3次后,将沉淀重悬于1 mL PBS缓冲液中。用超声破碎仪破碎菌体,设定程序为破碎2 s,停顿2 s,75%功率,破碎时间为10 min。破碎后6 000 r/min离心取上清液。用BCA试剂盒测定上清液中的蛋白含量。取等量4倍体积上清液加入1倍体积 $5\times$ 上样缓冲液,98 $^{\circ}\text{C}$ 变性处理5 min,各取15 μL 样品进行电泳,电泳结束后凝胶用考马斯亮蓝R250染色过夜,然后脱色4~8 h,用凝胶成像仪拍照。

1.3.4 扫描电子显微镜观察肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌形态的影响 沙门氏菌接种于TSB培养基中,加入肉桂醛药液,使肉桂醛最终浓度为 $1/8\text{MIC}$ 、 $1/4\text{MIC}$ 、 $1/2\text{MIC}$,并设置空白对照组(不加肉桂醛),37 $^{\circ}\text{C}$ 震荡培养至对数生长后期。取细菌悬液离心,弃上清,用灭菌的PBS缓冲液洗涤3次至上清液透明无色为止,弃上清。2.5%戊二醛溶液固定菌体后,4 $^{\circ}\text{C}$ 放置过夜,然后用PBS缓冲液轻柔洗涤3遍,经过30%、50%、70%、90%、100%浓度的乙醇脱水,每个浓度各处理5 min,随后室温晾干、喷金,在扫描电子显微镜下观察细菌形态。

1.3.5 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌细胞膜的影响 沙门氏菌接种于TSB培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养至对数生长后期,离心弃上清液,用无菌5%葡萄糖溶液洗涤3次,然后将菌体重悬于无菌5%葡萄糖溶液中,使其浓度为 1×10^7 CFU/mL,设置药物处理组和空白对照组(不加肉桂醛),处理组加入MIC浓度的肉桂醛药液,空白组不加药液。将菌液于37 $^{\circ}\text{C}$ 震荡培养(150 r/min),分别于0,0.5,1,1.5,2,2.5,3 h取上清液测量电导率,以时间为横坐标、电导率为纵坐标作图。

1.3.6 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌DNA外渗量的影响 将沙门氏菌培养至对数生长后期,用无菌PBS缓冲液洗涤3次后重悬,制成 1×10^7 CFU/mL的菌悬液,设置药物处理组和空白对照组(不加肉桂醛),处理组加入肉桂醛药液,使其浓度为MIC,将菌液于37 $^{\circ}\text{C}$ 震荡培养(150 r/min),分别于0,0.5,1,1.5,2,2.5,3 h取上清液测量260 nm处的吸光光度值,并以时间为横坐标、OD值为纵坐标作图。

1.3.7 数据分析 每个实验均重复3次,用GraphPad Prism6.0软件处理并分析电导率实验和DNA外渗实验的数据,组间进行 t 检验, $P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 MIC和MBC的测定

肉桂醛对沙门氏菌的MIC为128 $\mu\text{g/mL}$,MBC为512 $\mu\text{g/mL}$ 。结果表明肉桂醛具有一定的抑菌效果。

2.2 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌生长曲线的作用

不同浓度肉桂醛与沙门氏菌共培养的生长曲线见图1。培养6 h后细菌达到对数生长后期,12 h后细菌达到平台期。与空白对照组相比, $1/8\text{MIC}$ 、 $1/4\text{MIC}$ 、 $1/2\text{MIC}$ 浓度的肉桂醛对沙门氏菌生长没有明显

的影响;*MIC* 和 *2MIC* 浓度的肉桂醛在沙门氏菌生长前期有抑制作用,随着培养时间增加,抑制作用减弱;*4MIC* 浓度的肉桂醛能完全抑制沙门氏菌的生长。因此可以得出结论,肉桂醛属于浓度依赖型的抗菌药物,随着药物浓度升高,其抗菌效果逐渐增强。

2.3 肉桂醛作用于鼠伤寒沙门氏菌的 SDS-PAGE 分析

肉桂醛作用沙门氏菌后的蛋白质图谱见图 2。图中的蛋白条带分离良好,较清晰,条带主要分布于 20~250 ku。随着肉桂醛浓度升高,蛋白条带由深变浅甚至消失。结果表明肉桂醛在低于 *MIC* 的浓度下能影响沙门氏菌蛋白质的合成,且药物浓度越高,对蛋白质的影响越明显。

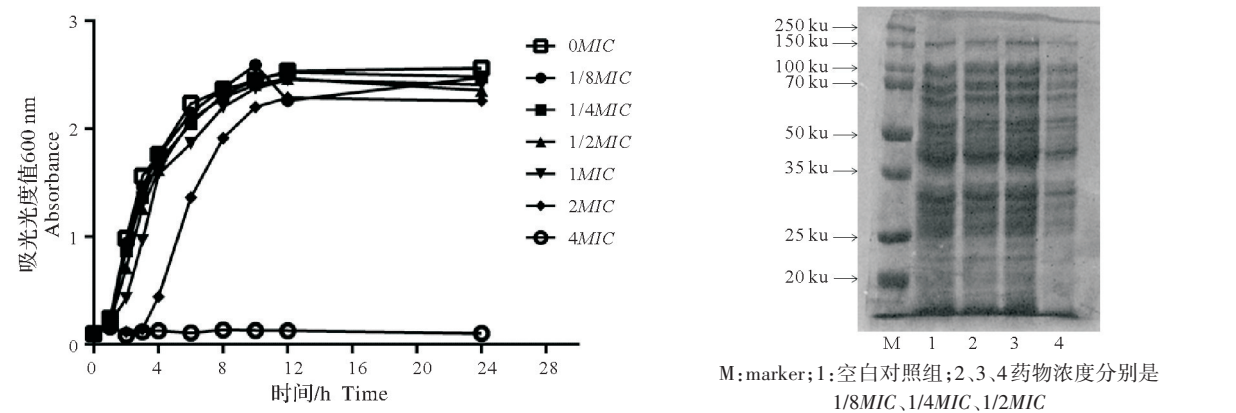
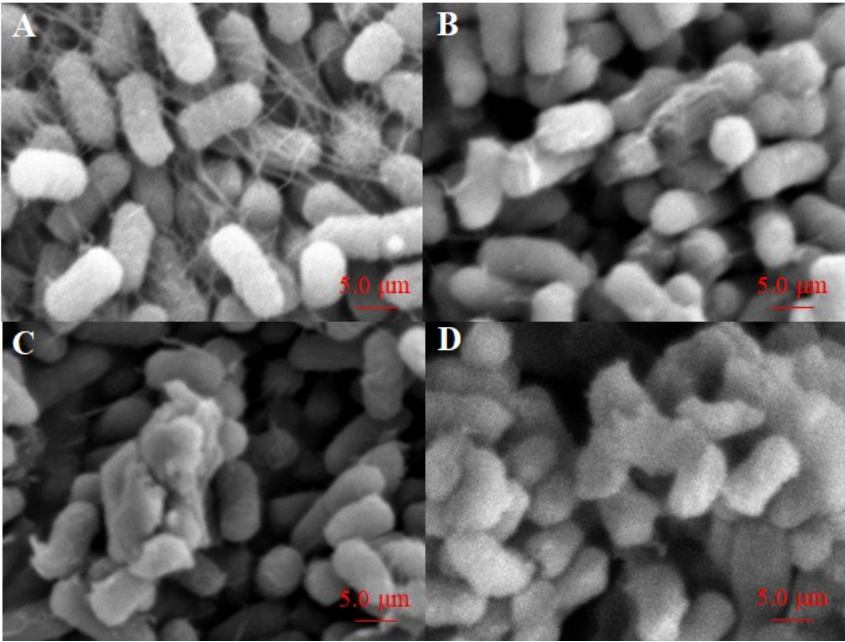


图 1 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌的生长曲线
Fig.1 The growth curve of cinnamaldehyde against *Salmonella typhimurium*

M: marker; 1: 空白对照组; 2、3、4 药物浓度分别是 1/8*MIC*、1/4*MIC*、1/2*MIC*
M: marker; 1: control group; 2, 3, 4 are electrophoresis bands co-cultured with 1/8*MIC*, 1/4*MIC*, 1/2*MIC* cinnamaldehyde respectively
图 2 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌的 SDS-PAGE 电泳图谱
Fig.2 SDS-PAGE protein atlas of *Salmonella typhimurium* co-cultured with cinnamaldehyde

2.4 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌形态的影响

不同浓度的肉桂醛作用于沙门氏菌后,扫描电子显微镜结果见图 3。空白对照组(图 3A),沙门氏菌为短杆状,细胞膜无明显皱褶,细胞之间有丝状蛋白质连接。1/8*MIC* 处理组(图 3B)中丝状蛋白质显著减少,沙门氏菌细胞形态无明显变化;1/4*MIC* 处理组(图 3C)中沙门氏菌的细胞膜发生坍塌,细胞黏连,不能保持正常形态;1/2*MIC* 处理组(图 3D)中沙门氏菌的结构被破坏,细胞破碎,界限模糊,细胞形态发



A: 阳性对照组; B: 1/8*MIC* 组; C: 1/4*MIC* 组; D: 1/2*MIC* 组
A: control group; B: 1/8 *MIC* treated; C: 1/4*MIC* treated; D: 1/2*MIC* treated

图 3 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌形态的影响
Fig.3 Effect of cinnamaldehyde on morphology of *Salmonella typhimurium*

生明显变化。扫描电镜结果表明肉桂醛可破坏沙门氏菌的细胞膜,影响细胞形态,且药物浓度越高,对细菌影响越明显。

2.5 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌细胞膜的影响

肉桂醛作用于沙门氏菌的电导率曲线见图4。由图可知,空白对照组的电导率变化不明显,只有轻微的升高,可能是细菌正常的代谢过程导致电导率上升。 $1MIC$ 组的电导率在0~30 min处与对照组上升幅度相同,在30~60 min处迅速上升,表明肉桂醛对沙门氏菌的细胞膜造成破坏,细胞膜通透性增加,引起细胞质外泄,电导率升高。电导率曲线说明肉桂醛可能作用于沙门氏菌的细胞膜,使细胞内容物外流,最终导致细菌死亡。

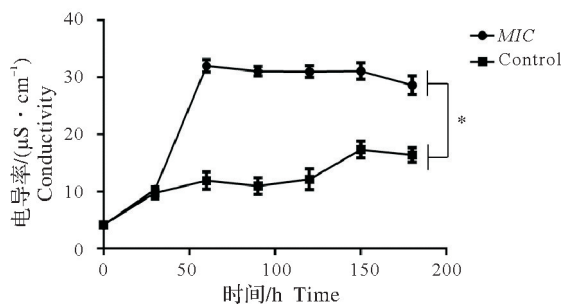


图4 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌电导率的影响($P<0.05$)

Fig.4 Effect of cinnamaldehyde on conductivity of *Salmonella typhimurium*

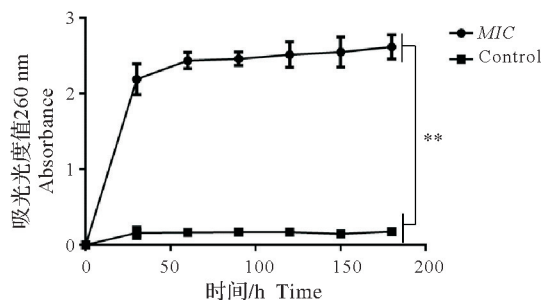


图5 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌DNA外渗量的影响($P<0.05$)

Fig.5 Effect of cinnamaldehyde on DNA exosmosis amount of *Salmonella typhimurium*

2.6 肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌DNA外渗量的影响

肉桂醛作用于鼠伤寒沙门氏菌后的DNA外渗量见图5。空白对照组在260 nm处的吸光光度值没有明显上升, MIC 浓度的肉桂醛作用后,吸光光度值明显上升,30 min后达到峰值,说明DNA外渗严重。结果表明,肉桂醛对细胞膜的通透性产生影响,引起DNA外渗,与电导率实验结果一致。

3 结论与讨论

桂枝在伤寒病的治疗中占据重要地位,而肉桂醛是桂枝的主要有效成分,因此本实验探究了肉桂醛对鼠伤寒沙门氏菌的体外抑菌机制。肉桂醛的 MIC 为128 $\mu\text{g/mL}$, MBC 为512 $\mu\text{g/mL}$,在体内几乎不能达到有效的抑菌浓度,但是临床上桂枝对伤寒病具有良好的治疗效果,提示肉桂醛或许不是通过抑菌或杀菌来治疗沙门氏菌的感染。近年来,中药的作用机制研究越来越深入,许多研究表明中药提取物对细菌的作用机制与传统抗生素不同,中药提取物对细菌的细胞形态、毒力因子、生长代谢等具有抑制作用^[15-17]。

与 MIC 浓度的肉桂醛共同培养后,沙门氏菌的细胞膜被破坏,细胞膜通透性升高,细胞内容物外流,电导率和DNA渗出量上升,与对照组相比差异显著。扫描电子显微镜的图片同样说明随着药物浓度升高,沙门氏菌的细胞形态和细胞膜受到影响。低浓度下沙门氏菌的菌体表面发生坍塌皱缩,1/2 MIC 组的菌体破碎、变形的现象最明显。该现象与其他研究者的实验结果一致,可以推测肉桂醛的作用靶点是细胞膜,使细胞不能维持正常的生理过程,扰乱代谢途径,进而引起沙门氏菌死亡^[18-20]。

聚丙烯酰胺凝胶的分子筛效应可将蛋白质分离,加入SDS后,蛋白质的二级和三级结构被破坏,消除了电荷差异,因此电泳迁移率主要取决于蛋白质或亚基的分子量大小。本实验取等量菌体进行SDS-PAGE,分析肉桂醛对沙门氏菌胞内总蛋白的影响,结果显示亚抑菌浓度的肉桂醛作用于沙门氏菌后,蛋白质条带变浅甚至部分条带消失,说明肉桂醛可以抑制沙门氏菌蛋白质的代谢。李正文^[21]发现盐酸小檗碱降低了猪胸膜肺炎放线菌蛋白质表达,药物处理后SDS-PAGE中部分条带消失,推测盐酸小檗碱可能作用于44.3 ku以下的蛋白质。百里香酚作用于金黄色葡萄球菌后,菌体蛋白质的含量显著降低^[22]。蛋白质作为生命活动的主要承担者,细菌的各种生命活动都离不开蛋白质的参与,因此肉桂醛对蛋白质的具体作用机制有待深入研究。

肉桂醛能抑制鼠伤寒沙门氏菌的增殖, MIC 为128 $\mu\text{g/mL}$, MBC 为512 $\mu\text{g/mL}$,亚抑菌浓度的肉桂醛

可作用于细胞膜,破坏菌体正常形态,增加细胞膜通透性,使细胞内容物外流,同时对菌体蛋白质的代谢具有抑制作用。由于SDS-PAGE无法确定受到影响的蛋白质种类,因此肉桂醛对蛋白质的抑制机制还需要深入探究。

参考文献:

- [1] 彭海滨,吴德峰,孔繁德,等.我国沙门菌污染分布概况[J].中国国境卫生检疫杂志,2006,29(2):125-128.
Peng H B, Wu D F, Kong F D, et al. Distribution of *Salmonella* contamination in China [J]. Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine, 2006, 29(2): 125-128.
- [2] 刘志科.鸡沙门氏菌病检测方法的建立及初步应用[D].石河子:石河子大学,2018.
Liu Z K. Establishment and application for determination of the chicken *Salmonellosis* [D]. Shihezi: Shihezi University, 2018.
- [3] 阚刘刚,赵丽杰,李秀业,等.鸡沙门氏菌病的生物预防和控制研究进展[J].动物营养学报,2018,30(9):3432-3443.
Kan L G, Zhao L J, Li X Y, et al. Progress on biological prevention and control strategies in avian *Salmonellosis* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2018, 30(9): 3432-3443.
- [4] 房莉莉,柳松柏.母牛流产的病因及防控[J].畜牧兽医科技信息,2018(3):67.
Fang L L, Liu S B. Causes and prevention of cow abortion [J]. Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2018(3): 67.
- [5] 肖兴宁,汪雯,张巧艳,等.次氯酸钠对肉鸡屠宰预冷清洗中沙门氏菌交叉污染的控制效果[J].食品工业科技,2019,40(12):206-210.
Xiao X N, Wang W, Zhang Q Y, et al. Cross-contamination of *Salmonella* on broiler in chilling processes at slaughter house [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(12): 206-210.
- [6] 邱颖,王宇卓,张丽敏,等.2015—2018年河北省廊坊市食源性沙门氏菌分子分型及耐药监测的研究[J].医学动物防制,2019,35(3):217-221.
Qiu Y, Wang Y Z, Zhang L M, et al. Molecular classification and drug resistance surveillance of food-borne *Salmonella* from 2015 to 2018 in Langfang City, Hebei Province [J]. Journal of Medical Pest Control, 2019, 35(3): 217-221.
- [7] 韩真真,邵长森,张元元,等.HPLC法同时测定桂枝加芍药汤中8种成分的含量[J].中国药房,2019,30(6):784-788.
Han Z Z, Shao C S, Zhang Y Y, et al. Simultaneous determination of 8 ingredients in Guizhijiaoshao decoction by HPLC [J]. China Pharmacy, 2019, 30(6): 784-788.
- [8] 龚正,龚亮,胡丽玲,等.桂枝和肉桂挥发油成分比较研究[J].辽宁中医杂志,2014,41(10):2199-2201.
Gong Z, Gong L, Hu L L, et al. Comparative study on volatile oil components of *Rimulus cinnamon* and cinnamon [J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 41(10): 2199-2201.
- [9] 陈玉环,万春鹏,彭旋,等.桂枝主要抑菌活性成分对柑橘青霉病菌的作用机制研究[J].现代食品科技,2016,32(10):45-51.
Chen Y H, Wan C P, Peng X, et al. Study on the antifungal mechanisms of the main active ingredients of *Ramulus cinnamomi* against *Penicillium italicum* [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(10): 45-51.
- [10] 王帆,杨静东,王春梅,等.肉桂醛对大肠杆菌和绿脓杆菌的作用机制[J].江苏农业学报,2011,27(4):888-892.
Wang F, Yang J D, Wang C M, et al. Inhibitory effect of cinnamaldehyde against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2011, 27(4): 888-892.
- [11] Karumathil D P, Surendran-Nair M, Venkitanarayanan K. Efficacy of trans-cinnamaldehyde and eugenol in reducing *Acinetobacter baumannii* adhesion to and invasion of human keratinocytes and controlling wound infection in vitro [J]. Phytotherapy Research, 2016, 30(12): 2053-2059.
- [12] 孙琦.肉桂醛对黄曲霉菌生长和产毒的影响机制研究[D].北京:中国农业科学院,2016.
Sun Q. The study on the mechanism for the cinnamaldehyde-caused inhibition of fungal growth and aflatoxin biosynthesis of *Aspergillus flavus* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016.
- [13] 王贵强,孙莎莎,范开,等.柠檬醛肉桂醛丁香酚抑制耐氟康唑白色念珠菌机理的试验[J].中国兽医杂志,2013,49(1):69-71.
Wang G Q, Sun S S, Fan K, et al. Mechanism study of citral, cinnamaldehyde and eugenol on restraining *Candida albicans* [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2013, 49(1): 69-71.

- [14] 夏礼杰. 亚抑菌浓度的桂皮醛对金黄色葡萄球菌的 α -溶血素, 肠毒素A和B的抑制作用及其机制的初步研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2010.
- Xia L J. Study on the inhibition effect and mechanism of subinhibitory concentrations of *Cinnamaldehyde* on the productions of α -toxin, Staphylococcal enterotoxin A/B in *Staphylococcus aureus* [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2010.
- [15] 袁中伟, 吴秦慧美, 邓嘉强, 等. 毛兰素缓解金黄色葡萄球菌腹膜炎的作用机制[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2018, 44(5): 553-558.
- Yuan Z W, Wu Q H M, Deng J Q, et al. The mechanism of erianin relieving peritonitis caused by *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2018, 44(5): 553-558.
- [16] 谢思露, 赵茂吉, 杨朝国. 水飞蓟宾对表皮葡萄球菌的抑菌机制研究[J]. 中药药理与临床, 2018, 34(6): 58-64.
- Xie S L, Zhao M J, Yang Z G. Antibacterial mechanism of silibinin on *Staphylococcus epidermidis* [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2018, 34(6): 58-64.
- [17] 钱卫东, 刘婵婵, 王婷, 等. 丁香酚对多重耐药大肠杆菌的抑菌活性及其作用机制研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(1): 31-36.
- Qian W D, Liu C C, Wang T, et al. Antibacterial activity and mechanism of eugenol against multidrug-resistant *Escherichia coli* [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(1): 31-36.
- [18] 石超, 郭都, 张文婷, 等. 反式肉桂醛对阪崎克罗诺杆菌抑制作用的研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(10): 58-66.
- Shi C, Guo D, Zhang W T, et al. Inhibitory activity of trans-cinnamaldehyde against *Cronobacter sakazakii* [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(10): 58-66.
- [19] 何靖柳, 张清, 陈洪, 等. 肉桂精油对植物病原菌抑制作用的研究进展[J]. 分子植物育种, 2017, 15(9): 3723-3730.
- He J L, Zhang Q, Chen H, et al. Review on antifungal activity of cinnamon essential oil in plant pathogen fungi [J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(9): 3723-3730.
- [20] 卢杨柳. 肉桂醛对食源性致病菌的抑制动力学模型及其作用机制[D]. 郑州: 河南农业大学, 2016.
- Lu Y L. Inhibition kinetic model and mechanism of cinnamaldehyde against food-borne pathogens [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University.
- [21] 李正文. 盐酸小檗碱对猪胸膜肺炎放线杆菌作用机制的研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2016.
- Li Z W. The mechanism of berberine on *Actinobacillus pleuropneumoniae* [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2016.
- [22] 袁中伟, 陈志英, 甘盈盈, 等. 百里香酚对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抑菌作用机制[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(6): 18-23.
- Yuan Z W, Chen Z Y, Gan Y Y, et al. Antibacterial mechanism of thymol to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of South China Agricultural University, 2018, 39(6): 18-23.