

表没食子儿茶素没食子酸酯分子修饰及抗癌研究进展

刘 飞¹, 熊政委², 李春华¹, 张 娟¹, 王小萍¹, 唐晓波¹, 王 云^{1,*}

(1.四川省农业科学院茶叶研究所, 四川 成都 610066; 2.重庆第二师范学院生物与化学工程系, 重庆 400067)

摘 要: 表没食子儿茶素没食子酸酯((-)-epigallocatechin-3-gallate, EGCG)是茶叶中的一类重要儿茶素,在体内外实验中被证实具有广泛的抗癌活性。研究发现,其抗癌机理包含诱导细胞凋亡、抗血管生成、调控细胞周期、阻滞细胞转移、协同抗癌等,但由于多羟基的化学结构使其在中性或碱性介质中极不稳定,最终导致其生物活性利用率降低,限制了临床应用范围。已有研究表明,分子修饰能显著改善EGCG分子活性,增强其稳定性,并使其表现出较强的抗癌活性。本文首先概述EGCG分子修饰的方法,然后对EGCG及其衍生物的抗癌实例和作用机理进行归纳总结。

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯; 分子修饰; 衍生物; 抗癌机理; 纳米材料

Progress in Molecular Modification and Anticancer Activity of (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)

LIU Fei¹, XIONG Zhengwei², LI Chunhua¹, ZHANG Juan¹, WANG Xiaoping¹, TANG Xiaobo¹, WANG Yun^{1,*}

(1. Tea Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China;

2. School of Biological and Chemical Engineering, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, China)

Abstract: (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), one of the important catechins in tea, has been demonstrated to have anticancer activity both *in vitro* and *in vivo*. The anticancer mechanism has been confirmed to be associated with cell apoptosis, resistance to angiogenesis, regulation of cell cycles, retardation of cell transfer, and collaborative anticancer effects. Unfortunately, EGCG has limited clinical applications due to its unstable characteristics in neutral or alkaline environment, which stems from its “polyhydroxyl” structure. Previous studies have demonstrated that the anticancer activity and stability of EGCG can be remarkably improved by molecular modification. The review summarizes the methods used for molecular modification of EGCG and the anticancer effects and mechanisms of EGCG and its derivatives.

Key words: (-)-epigallocatechin-3-gallate; molecular modification; derivatives; anticancer mechanism; nanometer materials

中图分类号: TS272.2; TS272.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2015) 23-0321-08

doi:10.7506/spkx1002-6630-201523058

表没食子儿茶素没食子酸酯((-)-epigallocatechin-3-gallate, EGCG)是茶叶中特有的儿茶素,含量约占绿茶儿茶素总量的50%~80%,且生物活性最高^[1]。究其原因发现,EGCG诸多生物活性源于其分子结构中含有大量的活性酚羟基,但正是由于其结构中的A环、B环、D环上共连接了8个酚羟基,使其存在脂溶性差、生物利用率低、在中性或碱性介质中结构不稳定、体内吸收缓慢等缺点,这都严重制约EGCG的应用和开发^[2]。随着研究的不断深入发现,经结构修饰获得的EGCG衍生物生物利用率明显提高,且在某些方面表现出较天然EGCG更强的生物活性,如乙酰化EGCG具有更强的抑制蛋白酶活性^[3]、

棕榈酰化EGCG能更强抑制PRRSV细胞毒性^[4]等,新官能团的引入在保留原有生物活性的前提下改善或提高了EGCG的利用效率,从而拓展了EGCG的适用范围。

随着现代分子生物技术和检测手段的发展,儿茶素类所表现出的抗氧化^[5]、抗突变^[6]、抗衰老^[7]、防辐射^[8]、降脂减肥^[9]、神经保护^[10]、护心健脑^[11]等生物活性及机理被逐一被揭示,尤其是EGCG抗癌作用更是被大量研究。临床研究证实,EGCG及其衍生物具有广泛的抗癌作用,且对正常细胞活性无毒副作用,这也在早期研究中得以证实^[12]。本文概述EGCG现有的分子修饰方法,并对EGCG及其衍生物的抗癌机理和实例研究进行综述。

收稿日期: 2015-02-28

基金项目: 国家现代农业(茶)产业技术体系建设专项(CARS-23); 国家现代农业产业技术体系四川省茶叶技术创新团队建设专项

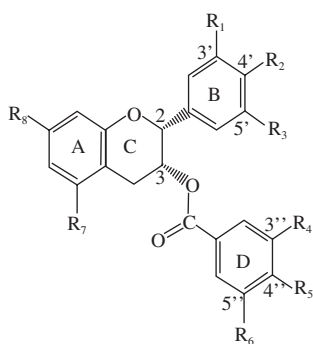
作者简介: 刘飞(1988—),男,实习研究员,硕士,主要从事茶叶加工与质量控制研究。E-mail: lifierswu@163.com

*通信作者: 王云(1963—),男,研究员,学士,主要从事茶叶加工与质量控制研究。E-mail: scteawl@163.com

1 EGCG分子修饰法

1.1 醚化修饰

醚化修饰即酚羟基酯化法,是将具有脂溶性的脂肪烃链接入到EGCG的苯环羟基部位,用以提高EGCG的脂溶性或稳定性。目前,醚化修饰研究较多的是EGCG甲基化修饰,即将EGCG的酚羟基部分或全部转化成甲基醚,而后生成一系列甲基化衍生物。目前,甲基化EGCG化学修饰合成法主要包含重氮甲烷合成法^[13]、碘甲烷合成法^[14]、硫酸二甲酯合成法^[15]、苄基保护基团合成法^[16]、硝基苯磺酰基保护基团合成法^[17],其中前3种为一步合成反应,但反应产物较多不利于分离提纯,而后两种方法是在苯环上的羟基进行保护,反应的步骤较多但目标成分更加精细;而甲基化EGCG生物修饰(酶法修饰)大多是从天然茶叶中分离出O-甲基转移酶基因后经基因克隆、转导和体外表达获得O-甲基转移酶促使EGCG体外甲基化^[18-19]。化学修饰和生物修饰所得甲基化EGCG化合物共计16种(图1),其中单甲基化EGCG有4种,二甲基化EGCG有5种,三甲基化EGCG有3种,六甲基化EGCG有1种,七甲基化EGCG有2种,八甲基化EGCG有1种。此外,长链脂肪烃的引入旨在增强EGCG的脂溶性效果,如通过油酸氯酰化改性天然EGCG生成的脂溶性EGCG对大豆色拉油的过氧化表现明显的抑制作用^[20]等。



- 1) $R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=R_8=OH$; $R_1=OCH_3$
- 2) $R_1=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=R_8=OH$; $R_2=OCH_3$
- 3) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=OH$; $R_8=OCH_3$
- 4) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=OH$; $R_8=OCH_3$
- 5) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=OH$; $R_8=OCH_3$
- 6) $R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=OH$; $R_1=R_8=OCH_3$
- 7) $R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=OH$; $R_1=R_8=OCH_3$
- 8) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=OH$; $R_8=OCH_3$
- 9) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=OH$; $R_8=OCH_3$
- 10) $R_1=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=OH$; $R_2=R_8=OCH_3$
- 11) $R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=OH$; $R_1=R_8=OCH_3$
- 12) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=OH$; $R_7=R_8=OCH_3$
- 13) $R_7=R_8=OH$; $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=OCH_3$
- 14) $R_8=OH$; $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=OCH_3$
- 15) $R_8=OH$; $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=OCH_3$
- 16) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=R_7=OCH_3$

图1 甲基化EGCG的结构式

Fig.1 Chemical structures of methylated EGCG

1.2 酰化修饰

酰化修饰按照修饰部位不同分为C-酰化修饰和O-酰化修饰,前者是在EGCG芳环碳原子上引入酰基而形成芳酮类化合物,后者是在芳环氧原子上引入酰基而形成酯类化合物。早期儿茶素的酰化修饰主要为O-酰化修饰,即生成EGCG酯类衍生物,如EGCG与棕榈酰氯^[21]、硬脂酰氯^[22]、月桂酰氯^[23]、肉豆蔻酰氯^[24]等长链脂肪链反应生成相应的EGCG酯类衍生物。但后续研究发现,长碳链的引入对周围酚羟基产生的屏蔽作用使其空间位阻增大,同时长碳链还会造成聚集而达不到增溶效果^[25],因此后续研究多集中在引入小分子酰基进行酰化反应,如乙酰基^[26-27]、丁酰基^[28],并通过控制反应物浓度比、催化剂、反应溶剂及时间的方式来调控EGCG乙酰化程度^[29-31],如采用脂肪酶LipzymeRMIM(催化剂)制备乙酰化EGCG,当催化剂添加量为2.1%(质量分数,以底物计)、乙腈和异丙醇(质量比1:1)为反应溶剂体系、40℃反应12h、EGCG与乙酸乙酯底物物质的量比为1:1时,可有效催化EGCG B环5'位和D环3'、5'位取代,生成5'-O-乙酰基-EGCG、3'',5''-2-O-乙酰基-EGCG和5',3',5''-乙酰基-EGCG^[32]。

1.3 糖苷化修饰

由分子结构的多羟基结构可看出EGCG具有一定的亲水性,但其在冷水中的溶解性远低于在热水中的溶解性,因此可在EGCG羟基上引入一个或多个亲水性的单糖分子基团,使得修饰后的EGCG水溶性提高。较之于化学方法,酶法催化EGCG糖苷化研究相对较早,多涉及糖基转移酶和糖苷酶两类转糖基作用酶,如Kitas等^[33]通过蔗糖磷酸化酶催化EGCG得到(-)-EGCG-4'-O- α -D-吡喃葡萄糖苷和(-)-EGCG-4',4''-O- α -D-二吡喃葡萄糖苷两种EGCG糖苷化合物、Moon等^[34]利用蔗糖-6-葡萄糖基转移酶催化蔗糖和EGCG反应得到EGCG-7-O- α -D-吡喃葡萄糖苷、EGCG-4'-O- α -D-吡喃葡萄糖苷和EGCG-7,4'-O- α -D-吡喃葡萄糖苷3种EGCG糖苷化产物。

2 EGCG抗癌研究进展

2.1 EGCG抗癌机理

2.1.1 诱导细胞周期阻滞

通常细胞周期分为间期(G₁期、S期、G₂期)和分裂期,并受细胞生长因子和内源性调节因子控制。目前,EGCG对癌症细胞的周期调控主要表现在对间期的阻滞上。研究发现,EGCG可通过下调血红素氧合酶(heme oxygenase-1, HO-1)蛋白、上调肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)蛋白和白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)等炎症信号分子表达,从而阻滞细胞停留在G₂/M期,最终导致肝癌细胞凋亡^[35];可通

过上调p27细胞周期素依赖性激酶抑制物的表达,从而影响G₁期细胞周期蛋白-细胞周期素依赖性激酶复合物(cyclinE-CDK2、cyclinD-CDK4/CDK6)的活性,诱导细胞G₁期阻滞,实现对胰腺癌PANC-1细胞增殖抑制作用^[36];可通过下调口腔上皮癌KB细胞的细胞周期蛋白cyclin A和cyclin E表达,实现G₁期阻滞,从而抑制KB细胞增殖^[37]。

2.1.2 调节关键酶活性

癌细胞的恶性增殖依托于胞内多种酶类的控制,其中包含端粒酶(telomerase)、脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS)、蛋白激酶、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)等^[38]。端粒酶由端粒酶RNA(human telomerase RNA, hTR)、端粒酶相关蛋白(hTPI)、端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)等组成,杨金亮等^[39]认为,EGCG可通过下调胃癌SGC-7901细胞c-myc和hEST2/hTERT表达来抑制端粒酶活性达到抗癌目的;Mittal等^[40]使用不同剂量EGCG诱导乳腺癌MCF-7细胞凋亡过程中发现,EGCG处理可使癌细胞hTERT mRNA表达下降,hTERT在蛋白水平的表达被显著抑制,且存在剂量依赖性。

FAS是维持细胞活性的内源性脂肪酸的重要生物合成酶,而脂肪酸分解受肉碱转移酶-1(carnitine Palmitoyltransferase-1, CPT-1)引导,已有研究证明多种化合物对肿瘤细胞的FAS代谢途径均有抑制作用但其特异性较差,Teresa等^[41]研究EGCG对乳腺癌细胞脂肪酸代谢发现,EGCG和CPT-1以一种非耦合的形式抑制FAS的活性,且对CPT-1的体内降脂作用无明显影响;Yeh等^[42]对乳腺癌细胞MCF-7血清饥饿24 h处理后,加入表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)后可使FAS蛋白表达水平呈两倍增长,但先加入EGCG后加入EGF则可明显抑制FAS蛋白和mRNA的表达。

此外,EGCG对胰腺癌细胞代谢途径影响研究发现,EGCG和乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDHA)抑制物草氨酸盐均能通过多种细胞代谢途径抑制LDHA表达,并显著改变细胞代谢类型^[43];EGCG也可通过调控丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路和聚ADP-核聚糖和酶抑制肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)诱导的Met磷酸化,即下游激酶Akt和ERK的磷酸化、细胞生长入侵和基质金属蛋白酶-2(matrix metallo-proteinase-2, MMP-2)与MMP-9的表达,实现对HGF诱导进程的抑制,达到抗癌目的^[44];还可通过己糖激酶2调控糖酵解作用实现对舌癌细胞的抑制作用^[45]。

2.1.3 阻滞细胞血管生成

癌症细胞的恶性增殖势必会导致新血管的生成,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可以诱导和促进癌细胞的血管生成,诸多研

究证实EGCG具有抑制癌细胞新血管生成活性。目前已知EGCG可通过可明显抑制低氧诱导的HIF-1 α /VEGF-A蛋白表达^[46]、抑制转录活化因子(state3)实现VEGF-A mRNA表达下调^[47]、螯合二价金属阳离子阻滞ERK-1和ERK-2的激活、抑制VEGF的表达^[48]等方式实现对癌细胞血管生成抑制。

2.1.4 诱导细胞凋亡

细胞凋亡是由多基因控制的细胞自主有序死亡,通常细胞凋亡途径可通过胞外信号激活细胞内的凋亡酶Caspase和线粒体释放凋亡酶激活因子激活Caspase最终引起胞内重要蛋白降解,诱发细胞凋亡。在凋亡早期,位于胞浆中的Caspase-3被激活,活化后的Caspase-3裂解以多聚(ADP-核糖)聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)为主的胞核底物,并将其剪切成两个片段从而引起细胞凋亡^[49-50]。此外,研究发现EGCG可增加核转录因子- κ B(nuclear factor, NF- κ B)抑制物I κ B表达实现水孔蛋白AQP5和p56抑制,最终诱导卵巢癌细胞系SKOV3凋亡^[51];可通过增加细胞Caspase-3活性、下调Bcl-2基因的表达及上调Bax基因^[52]、通过p53下调趾融合同源蛋白mRNA表达^[53]等方式抑制宫颈癌细胞增殖并诱导其凋亡;可通过促进组织因子途径抑制物-2(tissue factor pathway inhibitor-2, TFPI-2)过表达抑制肾癌细胞增长和诱导其凋亡^[54]。EGCG能使T24细胞Caspase-3和PARP激活,分别表现出PARP 89 kD裂解片段出现并呈浓度依赖性增加,而proCaspase-3的表达量随EGCG浓度增大而减少,同时EGCG能明显降低T24细胞中p-Akt(Thr308)和p-Akt(Ser473)等磷酸化蛋白的表达,实现膀胱癌T24的凋亡^[55]。有学者研究证实了EGCG抗胃癌作用机制:可通过下调Bcl-2表达、活化Caspase-3,降低线粒体跨膜电位($\Delta\psi_m$),促进细胞色素c释放从而激活Caspase-9,进而调控线粒体凋亡^[56],诱导人胃癌细胞凋亡。

2.1.5 阻滞细胞转移

癌细胞除了具有无限生长、转化的特点外,还可在体内实现微转移,从而挤走正常细胞,破坏器官功能,最终导致机体死亡。Li Yajun等^[57]研究发现,EGCG可通过调节p65细胞定位和降低p65的转录调控水平来调控p65活性,进而抑制鼻咽肿瘤干细胞自我更新、转移及间质转化的逆转;还可通过诱导核因子E2p45相关因子2(nuclear factor erythroid 2 p45(NF-E2)-related factor, Nrf2)、II相代谢酶尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(uridine diphosphate-glucuronosyltransferase, UGT)1A、1A8和1A10的基因表达,抑制2-氨基-3-甲基咪唑[4,5-f]喹啉诱导的裸鼠结肠癌前病变-畸变隐窝形成^[58],可诱导Nrf2-UGT 1A信号通路,抑制结肠原位肿瘤的生长和转移^[59]。

2.1.6 抗氧化作用

由于EGCG的B环上含有活性羟基氢,能清除体外活性氧自由基、螯合金属离子,从而减少活跃金属离子破坏,激活某些酶及相关活性因子从而提高谷胱甘肽过氧化物酶、NAD(P)H:醌氧化还原酶等内源抗氧化酶活性,从而赋予了EGCG抵御机体氧化应激、诱导癌细胞凋亡等功效^[60]。Nrf2是一种转录因子蛋白质,在氧化应激过程中调控蛋白酶和蛋白酶体调节因子PA28的生成^[61],Kweon等^[62]研究表明,EGCG能抑制Nrf2和HO-1-ARE启动子核小体定位,进而诱导肺腺癌A549细胞凋亡,并呈现一定的浓度-剂量关系。

2.1.7 促氧化作用

越来越多的研究证实,EGCG不仅通过抗氧化作用诱导癌症细胞凋亡,还可通过促氧化作用达到这一目的。研究发现,培养基呈弱中性或弱碱性的环境中,EGCG通过金属离子催化,被O₂氧化成EGCG聚合物与醌类物质,同时伴随过氧化氢(H₂O₂)、超氧阴离子自由基(O₂⁻·)、半醌类自由基等活性氧(reaction oxygen species, ROS)物质产生^[63-64],从而形成一种氧化应激环境,最终导致细胞损伤或凋亡。而在胞内环境中,EGCG可引起胞内ROS和线粒体ROS水平增加,这在添加过氧化氢酶(catalase, CAT)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)可部分清除,而添加N-乙酰-半胱氨酸(N-acetyl-cysteine, NAC)可完全清除EGCG引起H2199癌细胞线粒体氧化损伤中得以证实,同时采用8-OH-2-脱氧鸟苷(8-OH-2-deoxyguanosine, 8-OHdG)和磷酸化组蛋白2A变体X标记检测EGCG诱导肺癌细胞凋亡和DNA损伤也证实,EGCG处理后导致肺癌细胞产生的胞内ROS和线粒体ROS是诱导细胞凋亡的主要原因^[65-66]。此外,EGCG产生的低浓度ROS还可以作为第二信息参与下游信号通路,如EGCG通过损伤线粒体诱导应激信号,激活人类胰腺癌细胞MIA PaCa-2中的c-Jun氨基末端激酶(c-jun-N-terminal kinase, JNK)从而引起细胞凋亡^[67],而同一低氧化应激环境对正常细胞和癌变细胞的不同作用结果,则可能是由于不同细胞对氧敏感度不同而造成。

2.1.8 抗炎作用

早在20世纪60年代,已有研究人员在肿瘤细胞中发现存在白细胞,故将炎症和癌症联系起来^[68]。炎症发生时,活化的巨噬细胞和淋巴细胞将分泌细胞因子,介导一系列炎症反应,其中致炎细胞因子包括NF-κB、IL-1、TNF-α、NO、趋化因子IL-8及巨噬细胞趋化因子等,而EGCG抗炎作用机制则主要是减少这些细胞因子的生成^[69]。环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)和诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)是炎症发生过程中重要的两个酶类,慢性炎症发生过程中该

酶被激活,并已证实癌症组织中COX-2和iNOS具有较高程度的表达^[70]。研究证实,EGCG可通过抑制NF-κB活化来下调COX-2及iNOS表达,激活Caspase-9和Caspase-3进而诱导癌细胞凋亡^[71-72]。此外,吴琪^[73]研究发现,EGCG能抑制炎症刺激人肺癌细胞A5949的增殖,其作用机理可能是EGCG干扰CUGBP1(一种RNA结合蛋白)基因的表达实现脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)(炎症启动因子)抑制完成。对于EGCG抗炎症与抗癌关联的机理研究相对较少,有待进一步深入揭示其中的相关关系。

2.1.9 协同抗癌作用

研究发现,EGCG协同抗癌作用可降低用药剂量、减少出现耐药性的可能、扩大治疗范围等。对EGCG协同抗癌效应的研究发现,NAC能增强EGCG的稳定性,同时提高其在细胞内的浓度,作用机理可能是EGCG在活性氧化酶的作用下转化成醌或半醌类物质,并与NAC的硫醇基团发生加成反应生成EGCG-2'-NAC复合物,从而发挥对肺癌细胞的抑制作用^[74];EGCG与长春新碱(vincristine, VCR)合用可使因耐药而不出现VCR促凋亡作用的口腔表皮样癌细胞KBV200出现细胞毒性增敏作用^[75];EGCG可在肿瘤细胞和正常细胞之间形成不同的氧化环境从而区别对待,也可以逆转白血病细胞对阿霉素的耐药性^[76-77]。与外源药物协同抗癌不同,EGCG还可以通过与细胞内源离子结合而实现抗癌作用,如EGCG促进胞内ROS生成,从而促进内源性Cu²⁺转移,引发淋巴细胞DNA链断裂,最终导致细胞凋亡^[78];EGCG-Cu²⁺络合物联合作用于结肠癌RKO细胞能显著增加胞内ROS水平,且随络合物浓度增加,癌细胞周期主要停滞在G₂/M期,另外胞内黄嘌呤氧化酶活性呈降低趋势^[79];EGCG加速了Zn²⁺在细胞线粒体和细胞质中的累积,并引起前列腺细胞形态学改变和细胞膜流动性的降低,导致前列腺癌细胞死亡^[80]。

2.2 EGCG衍生物抗癌研究进展

由于EGCG的多羟基结构效应,使其在碱性或中性介质中存在不稳定和吸收效率较低的缺点,从而严重制约其生物活性和利用效率^[81]。为改善其结构效应、增强其利用效率,学者们对EGCG进行分子修饰后发现,其衍生物不仅结构稳定,且在后续研究中被证实其抗癌活性较修饰前有所增强,并表现出部分特异性抗癌效果。

Kazuaki等^[82]利用脂肪酶催化酯基转移作用对EGCG进行分子修饰,得到EGCG-C4(丁酰基)、EGCG-C8(辛酰基)、EGCG-C16(棕榈酰基)3种衍生物,通过连续喂养小鼠30 d观察其对结肠癌细胞的作用发现,EGCG-C16对小鼠的结肠癌细胞具有明显的抑制作用且存在剂量依赖性,其中给药剂量为50 mg/kg EGCG-C16的小鼠癌细胞存活率明显小于给药剂量为10 mg/kg的小鼠。在对EGCG-C16进行的后续研究也发现,酯化型EGCG-C16

对乳腺癌细胞株具有特异性促凋亡作用,且凋亡机制与天然EGCG并不完全相同^[83]。Lam等^[84]在EGCG羟基上引入过乙酸基团得到EGCG的过乙酸酯类衍生物(Pro-EGCG),通过色谱分析发现其稳定性为天然EGCG的6倍,在之后的研究中发现修饰后的EGCG虽然对20S蛋白酶体活性没有抑制作用,但对白血病细胞系中蛋白酶体的抑制作用优于天然EGCG。同时,小鼠体内研究显示,Pro-EGCG较之于天然EGCG对乳腺肿瘤的增长具有明显的抑制作用,而该种抑制机制被认为与Pro-EGCG对蛋白酶抑制作用的增加进而诱导肿瘤细胞凋亡有关^[85]。

有学者采用碘甲烷合成法对EGCG进行甲基化修饰得到12种烷基化衍生物,并研究它们对肝癌细胞的毒性发现,EGCG烷基化数目越多,对肝癌细胞Bel-7402和肝癌多重耐药细胞Bel-7402/5-FU的细胞毒性越大,同时衍生物对肝癌耐药逆转效应存在一定构效关系,如EGCG甲基化衍生物对肝癌耐药细胞株Bel-7402/5-FU的多药耐药(multidrug resistance, MDR)逆转作用均比天然EGCG弱,但EGCG乙基化和丙基化衍生物7,4',3'',4''-四-O-丙基-EGCG、3',5',3''-三-O-乙基-EGCG、3',5',3''-三-O-丙基-EGCG对Bel-7402/5-FU有较强的逆转作用^[86]。

Osana等^[87]对EGCG分子D环的对位进行氨基取代,取代产物可作用于癌细胞的蛋白酶体,诱导其死亡;Chan等^[88]通过删除EGCG分子D环上的4''和5''、3''和5''、3''羟基得到3种EGCG类似物,然后将这3种类似物的全部羟基乙酰化后作用于白血病细胞、固态瘤细胞株和变异细胞株中,结果显示在乙酰化保护下3种EGCG乙酰化衍生物通过酯酶分解转化成相应前体,并能更有效抑制蛋白酶体,从而诱导细胞死亡;Lin等^[89]在EGCG的3-OH引入一系列碳链后发现,随着引入碳链的增加,其抑制5 α -还原酶的活性增强,并在引入C16时达到最大值(IC₅₀=0.53 μ mol/L),为EGCG(IC₅₀=6.29 μ mol/L)活性的12倍。

3 结 语

近年来,茶叶活性成分及其改性衍生物的功能性评价已经从传统的理化分析跨越到细胞生物学和分子生物学领域,作为茶叶儿茶素中活性最强的组分,EGCG以其强抗氧化性和抗癌作用已经成为食品、医学等领域的研究重点。EGCG分子改性能够获得既定的目标产物,但是空间结构改变与功效的内在联系阐明还有待深入研究。此外,虽然对EGCG体内外转化及产物活性有广泛的研究^[90],但EGCG衍生物作为合成产物在体内的代谢转化及相关信号转导的基础研究还相对缺乏。

目前,针对EGCG的药理研究大多为体外药效实验,倘若用于人体临床治疗,其在机体内环境中的消化、吸

收和转化就显得复杂得多,这需要构造更加全面的模拟环境。除此之外,临床肿瘤治疗主要是以切除为主,但患者通常会在第一阶段的放、化疗即出现耐药且通常为多重耐药,那么针对EGCG及其衍生物靶向定位和抗多重耐药性的研究就显得尤为重要。

在对EGCG抗癌机理的研究过程中还发现,金属离子与EGCG协同作用后会明显改变EGCG单体理化性质,如溶解度、亲脂性、药理活性等^[91],而EGCG及其衍生物对抗癌药物的协同作用也已初见成效,如与阿霉素(adriamycin, ADM)联合使用能增强ADM对食管癌CaEs-17细胞的化疗敏感性^[92];与卡莫司汀联用能增强对人肺癌细胞A549造成的DNA损伤^[93];与塞来昔布联用能促进鼻咽癌CNE-2细胞凋亡^[94]等,这些都为EGCG功能性的改善和抗癌药物的研发提供了潜在的研究方向。

此外,除EGCG分子修饰外,研究发现采用 β -环状糊精包埋能有效增强分子水溶性利用率和潜在抗氧化能力^[95],而采用纳米技术获得的纳米EGCG比游离EGCG高出10倍的剂量优势^[96],因为纳米粒子介导的传递可将EGCG药效持续释放,使EGCG对靶向细胞或组织保持相对稳定的剂量,从而避免瞬时过高带来的感知毒性,口服纳米EGCG后其在体内的生物利用率也较游离EGCG高出2倍之多^[97]。那么,针对EGCG及其衍生物受体内代谢快、易氧化等缺点带来的抗癌效应缺陷,纳米材料所具有的缓释药物、靶向输送、延长药物作用时间以及减轻毒副作用等优点正好弥补这一缺陷,但纳米EGCG及其衍生物功能性食品或药品的开发和应用必须经过长期的、充足的体内外实验及安全性评估才能得以实现。

参考文献:

- [1] WANG Xi, HAO Miaowang, DONG Ke, et al. Apoptosis induction effects of EGCG in laryngeal squamous cell carcinoma cells through telomerase repression[J]. Archives of Pharmacal Research, 2009, 32(9): 1263-1269.
- [2] SANG S, LAMBERT J D, YANG C S. Bioavailability and stability issues in understanding the cancer preventive effects of tea polyphenols[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 86(14): 2256-2265.
- [3] LANDIS-PIWOWAR K R, HUO C, CHEN D I, et al. A novel prodrug of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate as a potential anticancer agent[J]. Cancer Research, 2007, 67(9): 4303-4310.
- [4] 刘帅华. EGCG棕榈酸酯抗PRRSV活性研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2013: 25-34.
- [5] 刘晓慧, 揭国良, 林康, 等. EGCG和茶氨酸对细胞氧化损伤的协同保护和修复作用研究[J]. 茶叶科学, 2014, 34(3): 239-247.
- [6] HAZA A I, MORALES P. Effects of (+) catechin and (-) epicatechin on heterocyclic amines-induced oxidative DNA damage[J]. Journal of Applied Toxicology, 2011, 31(1): 53-62.
- [7] MAURYA P K, RIZYI S I. Protective role of tea catechins on erythrocytes subjected to oxidative stress during human aging[J]. Nature Product Research, 2009, 23(12): 1072-1079.

- [8] LIU Meili, WEN Jianqiang, FAN Yubo. Potential protection of green tea polyphenols against 1800 MHz electromagnetic radiation-induced injury on rat cortical neurons[J]. Neurotoxicity Research, 2011, 20(3): 270-276.
- [9] CICHELO S, LIU P S, JOIS M. The anti-obesity effects of EGCG in relation to oxidative stress and air-pollution in China[J]. Natural Products and Bioprospecting, 2013, 3(6): 256-266.
- [10] ZHANG Yong, WANG Shaoxiang, MA Jiwei, et al. EGCG inhibits properties of glioma stem-like cells and synergizes with temozolomide through downregulation of P-glycoprotein inhibition[J]. Journal of Neuro-Oncology, 2015, 121(1): 41-52.
- [11] LARS V, WIELINGA P Y, WIM D V, et al. A dietary mixture containing fish oil, resveratrol, lycopene, catechins, and vitamins E and C reduces atherosclerosis in transgenic mice 1-3[J]. Journal of Nutrition, 2011, 141(5): 863-869.
- [12] AHMAD N, FEYES D K, NIEMINEN A L, et al. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells[J]. Journal of the National Cancer Institute, 1997, 89: 1881-1886.
- [13] YANAS E, MATSUMOTO E, SHINODA Y, et al. Synthesis of methyl derivatives of epigallocatechin gallate (EGCG) and their stabilities[J]. ITE Letters on Batteries, New Technologies and Medicine, 2005, 6(1): 34-37.
- [14] 吕海鹏, 孙业良, 林智, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯的甲基化分子修饰[J]. 食品科学, 2010, 31(15): 139-142.
- [15] UTENPYA B, MALTERUD K, RISE F. Antioxidant activity of *O*-protected derivatives of (-)-epigallocatechin-3-gallate: inhibition of soybean and rabbit 15-lipoxygenases[J]. Archive for Organic Chemistry, 2007(9): 6-16.
- [16] WAN Shengbiao, PING D Q, CHAN T H. Regiospecific and enantioselective synthesis of methylated metabolites of tea catechins[J]. Tetrahedron, 2006, 62(25): 5897-5904.
- [17] AIHARA Y, YOSHIDA A, FUYUTA T, et al. Regioselective synthesis of methylated epigallocatechin gallate via nitrobenzenesulfonyl (NS) protecting group[J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2009, 19(15): 4171-4174.
- [18] KIRITA M, HONMA D, TANAKA Y. Cloning of novel *O*-methyltransferase from camellia sinensis and synthesis of *O*-methylated EGCG and evaluation of their bioactivity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(12): 7196-7201.
- [19] 费冬梅. 甲基EGCG的酶法合成研究[D]. 杭州: 中国农业科学院, 2010: 24-34.
- [20] 沈生荣, 金超芳, 杨贤强. 儿茶素的分子修饰[J]. 茶叶, 1999, 25(2): 76-79.
- [21] 陈平, 孙东, 郑小明. EGCG棕榈酸酯的制备、结构及其抗氧化活性[J]. 浙江大学学报: 理学版, 2003, 30(4): 422-425.
- [22] 申雷. 茶多酚分析修饰改性及其对中式培根抗氧化作用的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011: 19-31.
- [23] 张健希, 张玉军, 晁燕, 等. 茶多酚脂溶性改性条件的确定及其抗氧化性能的研究[J]. 河北工业大学学报: 自然科学版, 2008, 29(3): 15-19.
- [24] 孙东, 陈平. EGCG肉豆蔻酸酯的制备、结构及其抗氧化活性[J]. 温州医学院学报, 2006, 36(3): 225-227.
- [25] 朱晋萱, 金青哲, 张士康, 等. 脂溶性儿茶素类化合物的制备研究进展[J]. 中国茶叶加工, 2012(1): 43-47.
- [26] 白艳. 不同取代度乙酰化儿茶素的合成及应用研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012: 10-19.
- [27] 朱媛, 张雪松, 黄小忠. 脂溶性茶多酚制备工艺的研究[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(6): 74-78; 92.
- [28] SHUICHI M, SHINYA M, TAKAYOSHI K, et al. Enhance anti-influenza A virus activity of (-)-epigallocatechin-3-*O*-gallate fatty acid monoester derivatives: effect of alkyl chain length[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2008, 18(14): 4249-4252.
- [29] 李哲, 朱松, 王洪新. 酶法酰化儿茶素EGCG及其产物在大豆油中的抗氧化性[J]. 食品科学, 2013, 34(8): 1-5.
- [30] 刘晓辉, 江和源, 张建勇, 等. 乙酰化EGCG的制备研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(24): 11360-11363.
- [31] 江和源. 表没食子儿茶素没食子酸酯全取代乙酰化物的制备方法: 中国, 101519395[P]. 2009-09-02.
- [32] 朱松. 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)酶法乙酰化分子修饰及其产物的抗氧化性能研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014: 37-51.
- [33] KITAO S, ARIGA T, MATSUDO T, et al. The syntheses of catechin-glucosides by transglycosylation with *Leuconostoc mesenteroides* sucrose phosphorylase[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1993, 57(12): 2010-2015.
- [34] MOON Y H, LEE J H, AHN J S, et al. Synthesis, structure analyses, and characterization of novel epigallocatechin gallate (EGCG) glycosides using the glucanase from *Leuconostoc mesenteroides* B-1299CB[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(4): 1230-1237.
- [35] 张勇, 沈筱芸, 冯雁, 等. EGCG对人肝癌细胞的抑制作用及其可能的机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2014, 21(1): 38-43.
- [36] 肖华, 时开网, 曹红勇. EGCG对胰腺癌细胞PANC-1生长的抑制作用及机制[J]. 实用临床医药杂志, 2010, 14(7): 26-29.
- [37] 江穗, 陈锡林, 丁咏, 等. 没食子儿茶素没食子酸酯诱导口腔上皮癌细胞G₁期阻滞[J]. 南方医科大学学报, 2009, 29(7): 1381-1383.
- [38] SPENCER L, MANN C, METCALFE M, et al. The effect of omega-3 FAs on tumour angiogenesis and their therapeutic potential[J]. European Journal of Cancer, 2009, 45(12): 2077-2086.
- [39] 杨金亮, 房殿春, 杨仕明, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对胃癌细胞端粒酶活性的抑制作用[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(8): 931-933.
- [40] MITTAL A, PATA M S, WYLIE R C, et al. EGCG down-regulates telomerase in human breast carcinoma MCF-7 cells, leading to suppression of cell viability and induction of apoptosis[J]. International Journal of Oncology, 2004, 24: 703-710.
- [41] TERESA P, ALEJANDRO V M, JOANA R, et al. Fatty acid metabolism in breast cancer cells: differential inhibitory effects of epigallocatechin gallate (EGCG) and C75[J]. Breast Cancer Research and Treatment, 2008, 109: 471-479.
- [42] YEH C W, CHEN W J, CHIANG C T, et al. Suppression of fatty acid synthase in MCF-7 breast cancer cells by tea and tea polyphenols: a possible mechanism for their hypolipidemic effects[J]. Pharmacogenomics Journal, 2003, 3(5): 267-276.
- [43] LU Qingyi, ZHANG Lifeng, YEE J K, et al. Metabolic consequences of LDHA inhibition by epigallocatechin gallate and oxamate in MIA PaCa-2 pancreatic cancer cells[J]. Metabolomics, 2015, 11: 71-80.
- [44] KOH Y, CHOI E, KANG S, et al. Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits HGF-induced progression in oral cavity cancer through suppression of HGF/c-Met[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2011, 22(11): 1047-1083.
- [45] GAO Feng, LI Ming, LIU Wenbin, et al. Epigallocatechin gallate inhibits human tongue carcinoma cells via HK2-mediated glycolysis[J]. Oncology Reports, 2015, 33(3): 1533-1539.
- [46] 姚静静, 王琪, 齐晓光, 等. EGCG对低氧诱导下胃癌SGC-7901细胞增殖及凋亡的影响[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2010, 30(10): 1199-1203.

- [47] ZHU Baohe, CHEN Huayun, ZHAN Wenhua, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits VEGF expression induced by IL-6 via Stat3 in gastric cancer[J]. World Journal of Gastroenterology, 2011, 17(18): 2315-2325.
- [48] 程春旭, 高颜茹. 抗肿瘤药物作用机制的研究进展[J]. 吉林医学, 2009, 30(23): 3080-3083.
- [49] GERMAIN M, AFFAR E B, D'AMOURS D, et al. Cleavage of automodified poly (ADP-ribose) polymerase during apoptosis, evidence for involvement of caspase-7[J]. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274: 28379-28384.
- [50] SCOVASSI A I, DIEDERICH M. Modulation of poly (ADP-ribosylation) in apoptotic cells[J]. Biochemical Pharmacology, 2004, 68(6): 1041-1047.
- [51] YAN Chunxiao, YANG Jjianhua, SHEN Lan, et al. Inhibitory effect of epigallocatechin gallate on ovarian cancer cell proliferation association with aquaporin 5 expression[J]. Archives of Gynecology and Obstetrics, 2012, 285: 459-467.
- [52] 秦婧, 洪莉. 表没食子儿茶素没食子酸酯对人宫颈癌细胞系Hela细胞凋亡及bcl-2/bax表达的影响[J]. 中国医药导报, 2014, 11(24): 29-32; 40.
- [53] MUTHUSAMI S, PRABAKARAN D S, AN Z Z, et al. EGCG suppresses Fused Toes Homolog protein through p53 in cervical cancer cells[J]. Molecular Biology Reports, 2013, 40: 5587-5596.
- [54] GU Bin, DING Qiang, XIA Guowei, et al. EGCG inhibits growths and induces apoptosis in renal cell carcinoma through TFPI-2 overexpression[J]. Oncology Reports, 2009, 21: 635-640.
- [55] 秦杰, 郑祥毅, 王云彬, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对人膀胱癌T24细胞凋亡的影响[J]. 杭州师范学院学报: 医学版, 2008, 28(1): 5-8.
- [56] 刘晓萍, 文小玲, 邹少娜, 等. EGCG活化线粒体途径诱导人为癌细胞凋亡[J]. 南华大学学报: 医学版, 2007, 35(4): 499-502.
- [57] LI Yajun, WU Shunlong, LU Songmie, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits nasopharyngeal cancer stem cell self-renewal and migration and reverses the epithelial-mesenchymal transition via NF- κ B p65 inactivation[J]. Tumor Biology, 2015, 36(4): 2747-2761.
- [58] YUAN Junhua, LI Yanqing, YANG Xiaoyun, et al. Protective effects of epigallocatechin gallate on colon preneoplastic lesion induced by 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f]quinoline in mice[J]. Molecular Medicine, 2008, 14: 590-598.
- [59] YUAN Junhua, LI Yanqing, YANG Xiaoyun. Inhibition of epigallocatechin gallate on orthotopic colon cancer by upregulating the Nrf2-UGT1A signal pathway in nude mice[J]. Pharmacology, 2007, 80: 269-278.
- [60] CHU K O, CHAN S O, PANG C P, et al. Pro-oxidative and antioxidative controls and signaling modification of polyphenolic phytochemicals: contribution to health promotion and disease prevention?[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(18): 4026-4038.
- [61] PICKERING A M, LINDER R A, ZHANG H Q, et al. Nrf2-dependent induction proteasome and Pa28 α regulator are required for adaptation to oxidative stress[J]. Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(13): 10021-10031.
- [62] KWEON M H, ADHAMI V M, LEE J S, et al. Constitutive overexpression of Nrf2-dependent hemoxygenase-1 in A549 cells contributes to resistance to apoptosis induced by epigallocatechin-3-gallate[J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281: 33761-33772.
- [63] ISHII T, MORI T, TANAKA T, et al. Covalent modification of proteins by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate through autoxidation[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2008, 45(10): 1384-1394.
- [64] CHEN Rong, WANG Jianbo, ZHANG Xianqing, et al. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG) induced intermolecular cross-linking of membrane proteins[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2011, 507(2): 343-349.
- [65] LI Guangxun, CHEN Yukuo, HOU Zhe, et al. Pro-oxidative activities and dose-response relationship of (-)-epigallocatechin-3-gallate in the inhibition of lung cancer cell growth: a comparative study *in vivo* and *in vitro*[J]. Carcinogenesis, 2010, 31(5): 902-910.
- [66] DASHWOOD W M, ORNER G A, DASHWOOD R H. Inhibition of β -catenin/Tcf activity by white tea, green tea, and epigallocatechin-3-gallate (EGCG): monitor contribution of H₂O₂ at physiologically relevant EGCG concentrations[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2002, 296(3): 584-588.
- [67] QANUNGO S, DAS M, HALDAR S, et al. Epigallocatechin-3-gallate induces mitochondrial membrane depolarization and caspase-dependent apoptosis in pancreatic cancer cells[J]. Carcinogenesis, 2005, 26(5): 958-967.
- [68] BAKLKWILL P F, MANTOYANI P M. Inflammation and cancer: back to Virchow?[J]. Lancet, 2001, 357: 539-545.
- [69] 龚裕强, 李雷清, 施小燕. 茶多酚抗炎作用研究进展[J]. 中国急救医学, 2006, 26(7): 540-542.
- [70] SANO H, KAWAHITO Y, WILDER R L, et al. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer[J]. Cancer Research, 1995, 55: 3785-3789.
- [71] YOUNG J S, KYUNG S C, HYUN H C. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF- κ B activation[J]. Mutation Research, 2001, 480/481: 243-268.
- [72] 陈锡林, 汪谦, 曹良启, 等. 没食子儿茶素没食子酸酯诱导人肝癌细胞凋亡[J]. 中华医学杂志, 2008, 88(36): 2524-2528.
- [73] 吴琪. EGCG对LPS刺激人肺腺癌A549细胞凋亡及CUGBP1蛋白表达的影响[D]. 青岛: 青岛大学, 2013: 7-12.
- [74] LAMBERT J D, SANG S, YANG C S. N-acetylcysteine enhances the lung cancer inhibitory effect of epigallocatechin-3-gallate and forms a new adduct [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2008, 44: 1069-1074.
- [75] 张肃, 梁钢, 黄志明, 等. 儿茶素对耐药人口腔表皮样癌细胞KBV200凋亡的影响[J]. 中国药理学报, 2004, 20(2): 188-191.
- [76] YMAMOTO T, HSU S, LEWIS J. Green tea polyphenol causes differential oxidative environments in tumor versus normal epithelial cells[J]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2003, 307(1): 230-236.
- [77] SADZUKA Y, SUGIYAMA T, SONOBE T. Efficacies of tea components on doxorubicin induced antitumor activity and reversal of multidrug resistance[J]. Toxicology Letters, 2000, 114(1/2/3): 155-162.
- [78] HUSAIN Y K, HASEEB Z, MOHD F, et al. Oral administration of copper to rats leads to increased lymphocyte cell DNA degradation by dietary polyphenols: implications for a cancer preventive mechanism[J]. Biometals, 2011, 24: 1169-1178.
- [79] 涂云飞, 杨秀芳, 张士康, 等. EGCG铜离子络合物对结肠癌细胞活性氧水平的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25: 1197-1200.
- [80] YANG Junguo, YU Haining, SUN Shili, et al. Epigallocatechin-3-gallate affects the growth of LNCaP cells via membrane fluidity and distribution of cellular zinc[J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2009, 10(6): 411-421.

- [81] CHEN D, WAN S B, YANG H, et al. EGCG, green tea polyphenols and their synthetic analogs and prodrugs for human cancer prevention and treatment[J]. *Advances in Clinical Chemistry*, 2011, 53: 155-177.
- [82] KAZUAKI M, KUNIHIRO K, SHUICHI M, et al. Enhanced antitumor activities of (-)-epigallocatechin-3-*O*-gallate fatty acid monoester derivatives *in vitro* and *in vivo*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, 337(4): 1118-1122.
- [83] 昌丽静, 王晶, 王鹏程, 等. 酯化型表没食子儿茶素没食子酸酯对乳腺癌细胞凋亡的影响[J]. *中国生物制品学杂志*, 2014, 27(6): 764-769.
- [84] LAM W H, KAZI A, KUHN D J, et al. A potential prodrug for a green tea polyphenol proteasome inhibitor: evaluation of the peracetate ester of (-)-epigallocatechin gallate [(-)-EGCG][J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2004, 12(21): 5587-5593.
- [85] KUHN D, LAM W H, KAZI A, et al. Synthetic peracetate tea polyphenols as potent proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human cancer cells[J]. *Front Bioscience*, 2005, 10: 1010-1023.
- [86] 廖作庄. 表没食子儿茶素没食子酸酯衍生物的合成与逆转人肝癌细胞MDR作用研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2011: 30-45.
- [87] OSANAI K, LANDIS-PIWOWAR K R, DOU Q P, et al. A para-amino substituent on the D-ring of green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate as a novel proteasome inhibitor and cancer cell apoptosis inducer[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2007, 15: 5076-5082.
- [88] CHAN T, LAM W H, CHOW M. (-)-Epigallocatechin gallate derivatives for inhibiting proteasome: US, 007, 544, 816B2[P]. 2009-06-09.
- [89] LIN S F, LIN Y H, LIN M, et al. Synthesis and structure activity relationship of 3-*O*-acylated (-)-epigallocatechins as 5 α -reductase inhibitors[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, 45(12): 6068-6076.
- [90] 李博, 吴媛媛, 屠幼英. 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)体内外转化及产物活性研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2010, 22: 351-355; 318.
- [91] TANG D S, SHEN S R, CHEN X, et al. Interaction of catechins with aluminum *in vitro*[J]. *Journal of Zhejiang University Science*, 2004, 5(6): 668-675.
- [92] 张润华, 王贤和, 陈萍, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯增强食管癌细胞对阿霉素化疗敏感性[J]. *中华临床医师杂志*, 2013(22): 10144-10147.
- [93] 黄秀华, 张丹, 郝津, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯增强卡莫司汀抗肿瘤作用的体外研究[J]. *茶叶科学*, 2007, 27(4): 302-306.
- [94] 余盛富, 李谨, 朱普堂, 等. EGCG协同塞来昔布抑制鼻咽癌细胞增殖和下调COX-2表达[J]. *中国误诊学杂志*, 2010, 10(28): 6898-6899.
- [95] FOLCH-CANO C, GUERRERO J, SPEISKY H, et al. NMR and molecular fluorescence spectroscopic study of the structure and thermodynamic parameters of EGCG/ β -cyclodextrin inclusion complexes with potential antioxidant activity[J]. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2014, 78(1/2/3/4): 287-298.
- [96] SIDDQUI I A, ADHAMI V M, BHARALI D J, et al. Introduction nanochemoprevention as a novel approach for cancer control: proof of principle with green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate[J]. *Cancer Research*, 2009, 69: 1712-1716.
- [97] SMITH A, GIUNTA B, BICKFORD P C, et al. Nanolipidic particles improve the bioavailability and α -secretase inducing ability of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2010, 389: 207-212.