

儿茶素改性的研究进展

白 艳^{1,2,3}, 江用文^{1,2}, 江和源^{1,2,*}, 张建勇^{1,2}, 黄永东^{1,2,3}, 王 斌^{1,2,3}

(1. 中国农业科学院茶叶研究所 农业部茶及饮料作物产品加工与质量控制重点实验室, 浙江 杭州 310008;

2. 浙江省茶叶加工工程重点实验室, 浙江 杭州 310008; 3. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081)

摘 要: 儿茶素是茶叶中的主要活性物质, 但由于较低的溶解性、稳定性及生物利用率使其在食品、医药、化工等领域的应用受到限制, 因此通过改性可以提高儿茶素的应用特性。综述儿茶素改性的主要物理、生化方法以及改性后儿茶素的理化性质和生物活性, 并展望儿茶素改性的发展方向。

关键词: 儿茶素; 改性; 理化性质; 生物活性

Research Advances in Catechin Modification

BAI Yan^{1,2,3}, JIANG Yong-wen^{1,2}, JIANG He-yuan^{1,2,*}, ZHANG Jian-yong^{1,2}, HUANG Yong-dong^{1,2,3}, WANG Bin^{1,2,3}

(1. Key Laboratory of Tea and Beverage Crops Processing and Quality Control, Ministry of Agriculture, Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008, China; 2. Key Laboratory of Tea Processing Engineering of Zhejiang Province, Hangzhou 310008, China; 3. Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Catechins are major bioactive substances in tea. However, the low solubility, poor stability and reduced bioavailability *in vivo* restrict their application. In this review, the current major methods for catechin modification and the physico-chemical properties and bioactivity of modified catechins are summarized. Meanwhile, future trends in the development of catechin modification are also proposed.

Key words: catechins; modification; physico-chemical properties; bioactivity

中图分类号: TS272

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)17-0312-06

茶叶中的儿茶素(catechins), 属于黄烷醇类化合物, 是茶叶中化学成分的主体, 占茶叶中茶多酚类物质的70%~80%、茶干质量的12%~24%, 主要包括表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)等, 其中以EGCG为主^[1]。国内外大量研究表明儿茶素具有抗氧化作用, 属于高效低毒的天然抗氧化剂, 同时还具有防癌抗癌^[2]、抗突变^[3]、广谱抑菌作用和保护神经系统作用^[4], 其中酯型儿茶素可以预防和治疗Ⅱ-糖尿病^[5], 因此, 儿茶素在食品、医药、精细化工等领域具有广泛的应用价值。

然而, 从儿茶素的分子结构来看, 疏水性的苯环和5个以上亲水性的羟基使儿茶素既有亲水性又有亲油性, 但在水相和油相中的溶解度都不高; 在高温、光照、潮湿等条件下, 儿茶素易发生氧化、聚合、缩合等反应, 在中性和碱性生理环境下也易降解^[6]; 在生

物体中, 儿茶素由食道进入胃和小肠, 通过心脏输送到全身各个器官发挥作用, 但是儿茶素进入体内后半衰期较短, 一般仅为0.5~4h, 90%以上的儿茶素在体内发生代谢转化或由粪便或尿液排出, 在生物体中的利用率极低, 从而降低抗氧化活性及其他生物学功能^[7]。

近年来国内外大量研究致力于儿茶素改性, 以期提高儿茶素的溶解性、稳定性和生物利用率, 主要改性的方法包括溶剂法、乳化法、微胶囊化等物理方法及甲基化、酰基化、糖苷化等生化方法。因此, 就儿茶素改性的物理和生化方法及改性后儿茶素的性质展开综述, 旨在为今后儿茶素改性的相关研究和应用提供参考。

1 儿茶素改性的物理方法

物理方法与生化方法的本质区别是不改变儿茶素分子结构, 仅通过媒介物质增加儿茶素的溶解性、稳定性, 进而提高抗氧化性等生物活性, 根据媒介

收稿日期: 2011-08-15

基金项目: 浙江省重大农业科技专项(2010C12023-2); 浙江省自然科学基金项目(Y3100036)

作者简介: 白艳(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物化学。E-mail: baisangyeer@yahoo.cn

* 通信作者: 江和源(1974—), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为天然产物化学。E-mail: jianghy@mail.tricaas.com

物质的不同分为乳化法、溶剂法和包埋法,具体工艺如图1所示。

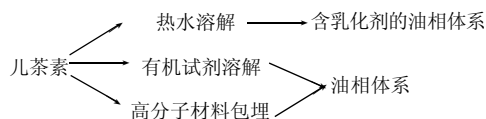


图1 儿茶素改性的物理方法示意图

Fig.1 Schematic diagram of catechin modification by physical methods

1.1 乳化法

乳化法是利用不同类型表面活性剂的乳化作用将儿茶素溶于油相体系中,增加儿茶素的油溶性和抗氧化性。早在1996年徐向群等^[8]将茶多酚热水溶解后搅拌加入含乳化剂的油中制成油溶性茶多酚,添加100mg/L油溶性茶多酚于豆油调和油中,(98±1)℃恒温箱中加速氧化,过氧化值达到20meq/kg的诱导时间为15h,而水溶性粉剂的诱导时间为8h,空白对照为3.5h,油溶性茶多酚在油脂中有更好的分散能力,从而比水溶性粉剂有更强抗氧化能力。李清禄等^[9]研究了不同亲水亲油平衡值(HLB)的多醇类非离子表面活性剂对茶多酚的增溶作用,发现HLB值为4~6的表面活性剂对茶多酚增溶效果好,且复配的两种具有不同HLB值的表面活性剂Span40和Span80较单一的表面活性剂能更好地将茶多酚溶于食用油中,使其抗氧化性能明显优于合成抗氧化剂二丁基羟基甲苯(BHT)、特丁基对苯二酚(TBHQ),在使用质量分数范围内,茶多酚的氧化产物不影响植物油的色泽和清亮度。戴彦韵^[10]用两亲性的磷脂包埋茶多酚(TP90),磷脂的亲水头部与茶多酚结合,疏水长链则使包埋后的茶多酚脂溶性增加,包埋后的TP90在氯仿-水两相溶剂中的表观油水分配系数K值由0.00037增加到115.9,在非极性有机溶剂中质量浓度为10mg/mL时溶液透明,对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)的抑制作用增强,抗脂质过氧化能力显著提高,优于VE和迷迭香。

乳化法可以间接将儿茶素溶解于油脂等油相体系中,但加热或搅拌条件下会出现破乳、分层以及沉淀等现象,筛选适合的乳化剂以及优化复配乳化剂的比例尤为重要。

1.2 溶剂法

溶剂法是将儿茶素溶解于有机溶剂中,以有机溶剂为载体将儿茶素应用于油相体系中,发挥其抗氧化作用。但是,所选用的溶剂要求无毒无害、可食用、挥发性低,以便长期维持儿茶素的油溶性。Hara^[11]用乙醇类溶剂作为茶多酚载体添加到油脂中。傅冬和等^[12]将茶多酚溶于可食性溶剂短链脂肪醇LAU中,儿茶素在该溶剂中的溶解度可达8%左右,再添加到食用油脂中,

其抗氧化效力强于BHT、TBHQ和VE等合成抗氧化剂,但这种脂溶性液体茶多酚在植物油中很快出现混浊、沉淀,需添加有机酸增效剂加以改善。

1.3 微胶囊技术

儿茶素微胶囊化是利用天然或合成的高分子材料(壁材)把儿茶素(芯材)包覆,经过喷雾干燥形成具有半透性或密封囊膜的微型胶囊的技术,该技术能最大限度地保存儿茶素的生物活性,并通过对儿茶素的控制释放,减少儿茶素的使用量,提高其稳定性^[13]。目前儿茶素微胶囊化采用的壁材有甲壳糖^[14]、乙基纤维素^[15]、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯(HPMCP)^[16]、β-环糊精^[17]、壳聚糖^[18]等,且添加十二烷基硫酸钠(SDS)等乳化剂可以提高包封率,使包封率可达96.3%^[16]。

1999年陈红梅等^[14]利用油相分离法以天然高分子材料甲壳糖包裹茶多酚,微胶囊化后的茶多酚瞬时释放在4h达最大值,随后缓慢释放可持续12h以上,累积释放在90%左右。

肖红波^[15]以乙基纤维素为壁材,喷雾干燥法制得56.5%的儿茶素微胶囊,研究了儿茶素微胶囊的毒理学、药物动力学及其对动物免疫功能的调节作用,发现儿茶素微胶囊属实际无毒级,未见长期毒性反应,临床使用安全,对正常及免疫功能低下小鼠的特异性和非特异性免疫具有增强作用,儿茶素制成胶囊后,药物动力学发生了明显的改变,半衰期延长。

车春波^[17]以β-环糊精、乙基纤维素作为复合壁材,单甘酯为乳化剂,通过物理改性将茶多酚制成油溶性的微胶囊,其最佳微胶囊化工艺条件为芯、壁材质量比1:6,β-环糊精与乙基纤维素质量比为4:1,最佳乳化剂单甘酯添加质量分数为0.3%,此时包埋率高达92.18%。茶多酚微囊在不同极性的介质中均有缓慢释放的特性,在油溶性介质中的持续释放时间最长,正己烷中5h达到溶出平衡,28d后完全溶出。茶多酚微囊的形成使其抗氧化活性大大提高,添加质量分数为0.02%的微胶囊茶多酚,对大豆油的保护系数高达5.27,抗氧化活性与茶多酚相比提高了18.2%。

胶囊化的结果一方面改善了儿茶素的油溶性,另一方面对儿茶素具有较好的缓释效果,延长了其抗氧化性能,并有效地提高儿茶素的稳定性,减缓其自身氧化速率。在实际应用中,微胶囊化的儿茶素呈粉末状,可直接添加,方便快捷,具有较好发展前景。

2 儿茶素改性的生化方法

目前,儿茶素改性以生化方法为主,该方法是在儿茶素的分子结构上直接引入一些基团以修饰儿茶素。根据修饰儿茶素的基团可以分为酰基化、甲基化、糖苷化。

2.1 酰基化

酰基化是通过化学、生物方法在儿茶素的分子结构上引入非极性的脂肪烃链增加儿茶素脂溶性的方法。根据儿茶素被脂肪链烃修饰的部位,可以分为羟基修饰和非羟基修饰。

2.1.1 羟基修饰

羟基修饰是在儿茶素的酚羟基上引入酰基,从而形成酯。目前儿茶素羟基酰化所连接的基团包括饱和、不饱和的C2至C18的直链或支链的碳链,通常采用的酰化剂有酰氯、酸酐、羧酸,C6以上的碳链以酰氯为酰化剂,C2至C4的短链则以相应的酸酐为酰化剂。

长链脂肪酸对儿茶素羟基修饰的相关研究较早,1999年沈生荣等^[19]用丙酮溶解EGCG,通过缓慢加入油酸酰氯对水溶性的EGCG进行酰化,发现1分子EGCG中有2个羟基被油酸酰氯酯化的产物油溶性较好,对食用大豆色拉油的过氧化有明显的抑制作用,与VE、TBHQ接近,且抗氧化作用稳定。王巧娥等^[20]发现茶多酚、癸酰氯、催化剂对甲苯磺酸质量比1:2.3:0.05,氮气保护、100℃条件下反应4h,合成的脂溶性茶多酚LTP抗油脂氧化作用与BHT相当;并制备了C6至C18一系列含不同脂肪链的脂溶性茶多酚,考察了在色拉油中的溶解性,除LTP-6 < 0.1g/L以及LTP-8为1.36g/L外,LTP-10、LTP-12、LTP-14、LTP-16、LTP-18的油溶性很好,均大于200g/L,是茶多酚的2000倍,其中以等质量添加或等TP添加的LTP-10、LTP-12抗氧化作用最强,与TBHQ、VE等合成抗氧化剂相当^[21]。聂芊等^[22]以油酸、亚油酸、硬脂酸为主要成分的豆油脂肪酸与茶多酚质量比为1:1.25、在氮气保护下、80℃反应5h制备了豆油脂肪酸茶多酚酯,具有较好的油溶性,抗氧化活性优于茶多酚和BHT。

长链脂肪酸酰化的儿茶素油溶性增加,可以发挥其抗油脂过氧化能力,并且与细胞膜的亲和力增加使生物活性提高。Uesato等^[23]在EGC和C的3-OH引入C4至C18碳链,并研究了儿茶素衍生物的抗癌作用,其中C8至C12能提高细胞膜的渗透性,最终显著抑制巴尔病毒在淋巴细胞中早期的抗原活性,减少淋巴瘤等恶性肿瘤和癌症的发生。Lin Shufu等^[24]以EGCG为前体,也在3-OH引入一系列碳链,发现随着脂肪酸碳链的增加其抑制5- α -还原酶的活性增强,C16达到最大值(IC₅₀ = 0.53 μ mol/L),是EGCG(IC₅₀ = 6.29 μ mol/L)活性的12倍,在生物体内有稳定的抗癌作用。

2004年Lam等^[25]首先尝试短链脂肪酸羟基酰化儿茶素,用吡啶催化EGCG和乙酸酐,过夜得到8个羟基完全被取代的乙酰化EGCG,得率为82%。刘晓辉^[26]优化了全乙酰化EGCG衍生物的合成工艺,当两底物间的比例达到1:84.8以上时,其产率达到98.43%。全乙酰化EGCG

由于所有羟基受到保护,其稳定性是EGCG的6倍,在有代表性的酯、卤代烃、酮和醇及中性和弱酸弱碱溶液中稳定^[25-26]。Lambert等^[27]合成并研究了乙酰化的EGCG的细胞吸收率,通过给老鼠喂食等量的乙酰化EGCG和EGCG,观察到服用乙酰化EGCG的小鼠小肠、大肠和血液中EGCG分别是服用EGCG的2.4、2.8、2.4倍,且乙酰化的EGCG在生物体细胞内被酯酶逐渐水解为双酯、单酯、EGCG,能有效抑制蛋白酶体活性诱导癌细胞程序死亡,对肿瘤细胞抑制作用大于EGCG。Utenova等^[28]在二氯乙烷溶剂中分别用硫酸二甲酯、乙酸酐、丙酸酐和丁酸酐对EGCG进行酰化,在4-二甲氨基吡啶催化下合成甲基化、乙酰化、丙酰化和丁酰化的EGCG,并考察了甲基化、乙酰化、丙酰化和丁酰化EGCG抑制兔子的网状红细胞中15-LO活性,发现酰化产物能有效抑制动物体的15-LO活性,从而起到抗肿瘤的作用。

2.1.2 非羟基修饰

非羟基修饰是苯环上的氢原子被酰基取代,属于Friedel-Crafts酰基化反应,即酰氯或酸酐在AlCl₃的催化下进攻芳环,形成碳-碳键,是亲电取代反应,产物是具有R-COR型结构的酮类化合物。

Tanaka等^[29]以EGCG为前体,与过量的硫醇化物反应,经Sephadex LH-20分离,得到6,8-二(正辛基硫亚甲基)-EGCG、6,8-二(正辛基硫亚甲基)-4- β -(2-氢乙基硫代)-EGCG和EGC-3-O-[4-O-(N-八烷基氨基甲基)没食子酸],该反应的实质是硫醇化物取代了A环C6位和C8位上的氢原子,合成的产物具有两亲性,对由脂溶性和水溶性自由基引起的油脂过氧化均有强的抑制作用。

卢聪聪等^[30]在低温下将路易斯酸或质子酸与脂肪酰氯溶于反应溶剂中,使脂肪酰氯与Lewis酸或质子酸形成络合物,再逐渐加入固体儿茶素原料与逐渐释放脂肪酰氯反应,缓慢升温至反应温度,反应持续8~9h,反应结束后反应体系产生大量固体,经水洗、乙酸乙酯提取、浓缩、干燥得到碳酰化的儿茶素。与氧酰化反应相比,碳酰化LTP有更强的脂溶性,但碳酰化反应改性成本高,抗氧化能力不如氧酰化持久,因此在实际生产中应根据需要,仔细评价并考虑具体采用何种方法。

酶法对儿茶素分子进行脂酰化修饰最先是Tobiason从研究儿茶素的3-O-酰化衍生物的分子轨道开始的^[31],1994年Sakai等^[32]通过从链霉菌属和曲霉菌属中分离的羧酸酯酶的酯基转移作用,方便有效地获得了一系列脂溶性较高的3-O-儿茶素酰基衍生物,分离纯化后用于油脂抗氧化领域,发现100mg/L质量浓度时儿茶素与酰化儿茶素衍生物对油脂过氧化的诱导时间没有显著差异,即C环酰化不影响抗氧化能力。Mori等^[33]在N,N-二甲基甲

酰胺和乙腈中用酯基转移酶催化分别合成 EGCG-C4、EGCG-C8、EGCG-C12、EGCG-C16 和 EGCG-C20 一系列的 EGCG 脂肪酸单酯衍生物, 得率较传统化学方法高 12% 以上, 其中 EGCG-C16 抗病毒活性最强, 且比较了酶法合成的 EGCG-C16 和化学方法合成的 EGCG-C16 的抗病毒活性, 前者取代以 B 环为主, 后者以 D 环为主, 发现两者没有显著性差异。

化学方法对儿茶素羟基脂酰化的相关研究比较系统, 但是, 化学方法合成的脂酰化儿茶素其酰化位点并不确定, 所得产物是混合物需进一步分离纯化, 且合成工艺复杂、温度高、时间长、需要氮气保护儿茶素, 脂肪酸酰化所用三氯化磷、氯化亚砷或五氯化磷等试剂毒性强, 存在残留以及污染环境等问题。而非羟基修饰儿茶素的相关研究较少, 羟基修饰和非羟基修饰的优劣也有待进一步研究。

2.2 甲基化

甲基化儿茶素是儿茶素羟基被甲基取代, 是茶叶中新发现的一类稀有的儿茶素衍生物, 哺乳动物服用儿茶素后, 经肝脏、肾脏及胃肠道中儿茶酚氧甲基转移酶 (COMT) 作用也会产生甲基化儿茶素^[34]。

1999 年 Sano 等^[35]首先从台湾冻顶乌龙茶中发现并分离出了 2 种甲基化儿茶素, 表没食子儿茶素 3-O(3-O-甲基)没食子酸酯(3'-Me-EGCG)和表没食子儿茶素 4-O(4-O-甲基)没食子酸酯(4'-Me-EGCG), 发现甲基化儿茶素具有更强的抗过敏和消炎药效, 其中 3'-Me-EGCG 在血液中的稳定性较高, 口服吸收率是 EGCG 的 8 倍^[36]。

早期甲基化儿茶素通过从茶叶中提取、分离获得, 毕竟茶叶中甲基儿茶素的天然资源十分有限, 只有极少数的茶树品种中的甲基儿茶素的含量在 1% 以上^[37]。Aihara 等^[38]研究了用化学方法合成甲基化儿茶素, 以 EGC 为前体, 通过用 2-硝基苯磺酰基保护酚羟基, 重氮甲烷为甲基化试剂, 有选择性地合成了 B 环和 D 环单甲基化衍生物 3'-Me-EGCG、4'-Me-EGCG、3''-Me-EGCG、4''-Me-EGCG 及二甲基衍生物 3',3''-diMe-EGCG, 此合成工艺也适用于 EC、C、GC 等儿茶素。吕海鹏等^[39]以碘甲烷作为甲基供体, 非选择性地合成了甲基化 EGCG, 产物通过 HPLC-MS 和 NMR 等进行结构分离鉴定出 5 个 EGCG 甲基化衍生物, 分别为 4''-Me-EGCG、4',4''-di-Me-EGCG、5,3',4',5',3'',4'',5''-hepta-Me-EGCG、5,7,3',4',3'',4'',5''-hepta-Me-EGCG、5,7,3',4',5',3'',4'',5''-octa-Me-EGCG, 得率分别为 0.36%、0.27%、0.49%、0.76% 和 0.42%。伍妍俊等^[40]用硫酸二甲酯甲基化 EGCG, 硫酸二甲酯与 EGCG 的物质的量比 1:1, 在 60℃ 水浴条件下回流反应 5h 后经乙酸乙酯萃取, 再经硅胶柱、凝胶柱和反相硅胶柱分离得到 EGCG 的甲基化衍生物, 经 ESI-MS、MS/MS 和 ¹H-NMR 鉴定, 最

后得到纯度为 93.86% 的单甲基化产物 4''-Me-EGCG 242mg, 得率约为 9%; 并利用高效液相色谱技术测定分离到的甲基化 EGCG 和 EGCG 在人工模拟体胃液与肠液中的变化, 结果表明, 在人工模拟胃液中, 4''-Me-EGCG 脱去甲基生成 EGCG, 起到缓释作用; 而在人工模拟肠液中, EGCG-4''-Me 由于甲基化, 稳定性提高。这 3 种体外合成方法均可以有效获得多种自然界稀有的甲基化儿茶素衍生物, 将有利于减少人类因花粉、异体蛋白、化学物质、紫外线等过敏原引起的过敏反应。

2.3 糖苷化

从分子结构来看, 儿茶素的酚羟基使其具有一定的亲水性, 研究表明儿茶素在热水中溶解度较高, 但在冷水中的溶解度仅为 5mmol/L^[41]。区别于酰基化增加儿茶素的脂溶性, 糖苷化是在儿茶素分子的羟基上接上一个或多个亲水性的单糖分子基团, 使修饰后的儿茶素水溶性提高。

酶法对儿茶素糖苷化修饰的研究较化学方法早, 主要采用糖基转移酶和糖苷酶两类具有转糖基作用的酶。Kitao 等^[41]通过蔗糖磷酸化酶催化得到了 2 种 EGCG 糖苷化合物, 分别是(-)-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。Moon 等^[42]从肠膜明串珠菌 B-1299CB 中提取蔗糖-6-葡萄糖基转移酶, 催化蔗糖和 EGCG 反应, 分离纯化后得到 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 种产物, 产率依次是 9.1%、19.9%、8.7%, 水溶性随着取代度的增加而增加, 分别是 EGCG 的 49、55、114 倍; 紫外线照射糖苷化 EGCG 和 EGCG 溶液, 发现前者清亮, 后者变成褐色, 所以糖苷化 EGCG 具有更强的抗褐变能力。

与糖基转移酶相比, 糖苷酶来源广泛、比较稳定、产率也较高, Sato 等^[43]等在黄单孢菌 WU-9701 发现并成功提取出糖苷酶, 以麦芽糖作为糖基供体对儿茶素中的(+)-C 进行糖苷化, 生成单一的产物 3'-O- α -D-吡喃葡萄糖苷(α -C-G), 产率是 57.1%, 20℃ 条件下, α -C-G 在纯水中的溶解度达 450mg/mL, 大约是(+)-C 的 100 倍。

有关糖苷化儿茶素化学合成的报道比较少, Kawamoto 等^[44]研究了 EC 的糖苷化分子修饰, 为了生成的产物单一, 首先分别有选择性地保护 EC 和糖的羟基, 然后将保护后的 EC 与糖反应, 生成带有保护基的 EC 糖苷, 再用甲醇钠溶液脱保护基, 生成 3-O- α -D-G, 与儿茶素相比, 微甜, 没有儿茶素本身的苦涩味, 所以糖苷化的儿茶素非常适合作为食品添加剂, 特别是甜食。陈义^[45]用化学合成方法合成 EGCG 糖苷, 通过单因素实验得出合成 EGCG 糖苷的最佳条件是: EGCG、四乙酰基-1-溴葡萄糖、无水 K₂CO₃ 的物质的量比为 1:2:2, 丙酮作为反应溶剂, 在 55℃ 水浴条件下反应 8h; 最佳脱保

护条件:碱性条件下,分别量取等体积的四氢氟呋喃和甲醇,0.5mol/mL 氢氧化钾甲醇为催化剂,在室温下搅拌反应 13h;反应体系过阳离子交换树脂柱、甲醇冲洗、收集液真空旋转浓缩干燥得到 EGCG 葡萄糖苷,其抗氧化能力比 EGCG 低,不过仍然高于 VC,在人工胃液和肠液中,EGCG 糖苷的稳定性也高于 EGCG,并且具有缓慢释放的效果。

2.4 其他

Chan 等^[46]通过分别删除 EGCG 没食子酸环(D 环)上 4'' 和 5''、3'' 和 5''、3'' 羟基合成 EGCG 的 3 种类似物 2、3、4,并将这 3 种类似物的全部羟基乙酰化得到 2a、3a、4a;结果显示,受乙酰化保护的 2a、3a、4a 在细胞内通过酯酶分解转化为相应的前体,在白血病细胞株、固态瘤细胞株和变异细胞株中,更能有效抑制蛋白酶体从而诱导细胞死亡,SARS 统计分析显示这些乙酰化产物活性的顺序为:2a = 4a > 3a > 1 > EGCG,说明乙酰化的 EGCG 和 EGCG 的类似物均比 EGCG 更有潜力作为蛋白酶体抑制剂减少肿瘤细胞生长。

Osanai 等^[47]对绿茶提取物 EGCG 的 D 环的对位进行氨基取代,取代产物通过作用于癌细胞的蛋白酶体,诱导癌细胞凋亡;且对氨基苯甲酸基团是叶酸的基本组成部分,无毒,所以通过对氨基取代的儿茶素的研究为新型抗癌药物的开发提供可能性。

Furuta 等^[48]在 EGCG 的 C3 引入酮基得到双脱氧的 EGCG(DO-EGCG),产物具有抗流感病毒活性,并发现 A 环对抗流感病毒的活性无影响。

Song 等^[49]以儿茶素 C 和 EGCG 为前体合成了一系列的(+)-C 和(-)-EGC 的衍生物,分别在 3-OH 位置接上不同的芳香族和脂肪族的碳链,并比较了其抗人类流感病毒和禽流感病毒的活性,发现 3-O-酰化-(+)-C 和 3-O-酰化(-)-EGC 衍生物在 300~1000 μmol/L 浓度范围内有显著的抗病毒活性($P < 0.05$),而(+)-C 和(+)-EGC 没有抗病毒作用;且脂肪族衍生物的抗病毒活性是芳香族的 1.5~2 倍,与药物奥司他韦比较,儿茶素衍生物的体内稳定性更强,从而有更长效的抗禽流感作用。

3 结 语

儿茶素改性的物理方法不仅简单易操作、成本低,而且保留了儿茶素的所有活性羟基。改性后儿茶素脂溶性增加,主要用于油脂抗氧化;其中微胶囊法对儿茶素的缓释作用增加了儿茶素的稳定性,使儿茶素在食品、医药应用中更充分地发挥其抗氧化性等作用。

生化方法对儿茶素分子结构进行脂酰化、甲基化、糖苷化等修饰,改变了儿茶素的分子结构。从理论上讲,分子修饰后的儿茶素其溶解性、稳定性和抗氧化性及生物利用率与取代基、取代位点、取代度和取代

基释放度等因素有关。从目前的研究结果来看,儿茶素羟基脂酰化后的儿茶素,活性羟基减少,但在油相体系的应用中由于溶解性增加,可高达儿茶素的 2000 倍,所以抗氧化性比儿茶素高;与羟基酰化的儿茶素相比,非羟基酰化的儿茶素脂溶性更强,但改性成本高,羟基未受到保护,抗氧化能力时效短。甲基化儿茶素和糖苷化儿茶素的抗氧化能力均低于儿茶素本身,且成本高、得率低,但是,糖苷化使儿茶素在水中的溶解性增加,是儿茶素的 100 倍左右,且甲基化和糖苷化提高了儿茶素的稳定性,在胃液等环境中可分别脱去甲基和糖苷,缓慢释放出活性羟基,从而增加儿茶素抗氧化作用的时效性,提高儿茶素在生物体中的利用率。

儿茶素作为一种天然抗氧化剂,具有“三抗、三降”等多种生物活性,根据需要有针对性地对儿茶素进行改性,可以充分发挥儿茶素的应用价值。今后,如何提高物理方法改性后的儿茶素在应用体系中的稳定性、化学方法实现定向修饰、减少有毒有害试剂的应用及残留是儿茶素改性的重要研究方向。同时化学方法合成糖苷化儿茶素和酶法合成甲基化儿茶素的相关研究较少,也是今后的研究重点。随着生物技术的发展,菌种筛选分离提取得到儿茶素改性所需的相关酶之后,通过固定化酶技术,可以稳定酶的活性使工艺易于控制和实现规模化,且反复多次使用可以降低成本,所以酶法合成儿茶素衍生物也具有诱人的应用前景。

参考文献:

- [1] 宛晓春. 茶叶生物化学 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2003: 9-15.
- [2] YANG C S, LAMBERT J D, SANG Shengmin. Antioxidative and anti-carcinogenic activities of tea polyphenols[J]. Arch Toxicol, 2009, 83(1): 11-21.
- [3] LIU Qing, WANG Yue, CRIST K A, et al. Effect of green tea on p53 mutation distribution in ultraviolet B radiation-induced mouse skin tumors[J]. Carcinogenesis, 1998, 19(7): 1257-1262.
- [4] CHAO Jianfei, LAU W K W, HUIE M J. A pro-drug of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate(EGCG) prevents differentiated SH-SY5Y cells from toxicity induced by 6-hydroxydopamine[J]. Neuroscience Letters, 2010, 469(3): 360-364.
- [5] KAMIYAMA O, SANA E F, IKEDA K. *in vitro* inhibition of α -glucosidases and glycogen phosphorylase by catechin gallates in green tea[J]. Food Chemistry, 2010, 122: 1061-1066.
- [6] ZHU Qinyan, ZHANG Anqi, TSANG D, et al. Stability of green tea catechins[J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(12): 4624-4628.
- [7] SANG S, LAMBERT J D, YANG C S. Bioavailability and stability issues in understanding the cancer preventive effects of tea polyphenols [J]. J Sci Food Agric, 2006, 86(14): 2256-2265.
- [8] 徐向群, 程启坤, 王华夫. 茶多酚油溶剂型的抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 1996, 17(5): 7-9.
- [9] 李清禄, 林新华. 增效脂溶性茶多酚溶液的制备及其在食用植物油中的抗氧化性能[J]. 福建农业大学学报, 2001, 30(2): 244-249.
- [10] 戴彦韵. 茶多酚磷脂复合物的制备和抗氧化性能检测方法探究[D].

- 上海: 上海交通大学, 2009.
- [11] HARA Y. Process for the production of the catechins: Japan, US4613672 [P].1986-09-23. <http://www.patnap.com/patents/view/US4613672.html>.
- [12] 傅冬和, 刘仲华, 黄建安, 等. 儿茶素在食用植物油中的抗氧化应用效果[J]. 茶叶科学, 1999, 19(1): 61-66.
- [13] 张可达, 徐冬梅, 王平. 微胶囊化方法[J]. 功能高分子学报, 2001(4): 474-480.
- [14] 陈红梅, 周长忍, 邹翰, 等. 茶多酚微胶囊的制备及其性质研究[J]. 广东化工, 1999(2): 55-56.
- [15] 肖红波. 儿茶素微胶囊的毒理学、药物动力学及其对动物免疫功能调节作用的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2004.
- [16] 孟祥, 李保国. 茶多酚微胶囊化的试验研究[J]. 茶叶科学, 2006, 26(4): 275-279.
- [17] 车春波. 茶多酚微胶囊对油脂自动氧化的抑制活性[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2010, 26(4): 400-403.
- [18] 烟利亚, 乔小瑞, 王萍, 等. 茶多酚微胶囊化包埋工艺研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(7): 251-255.
- [19] 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.
- [20] 王巧娥, 唐安斌, 石碧, 等. 脂溶性茶多酚的合成及其抗油脂自动氧化特性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(4): 12-15.
- [21] 王巧娥, 唐安斌, 马志红, 等. 含不同脂肪链脂溶性茶多酚的合成及其抗氧化活性研究[J]. 精细化工, 2002, 19(2): 86-89.
- [22] 聂芊, 孔琪, 沈春艳. 豆油脂肪酸茶多酚酯的制备及其在油脂中的抗氧化性能[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(3): 93-95.
- [23] UESATO S, TANIUCHI K, KUMAGAI A, et al. Inhibitory effects of 3-O-acyl-(+)-catechins on Epstein-Barr virus activation[J]. Chem Pharm Bull, 2003, 51(12): 1448-1450.
- [24] LIN Shufu, LIN Y H, LIN Mengju, 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.
- [25] LAM W H, KAZI A, CHOW L M, et al. A potential prodrug for a green tea polyphenol proteasome inhibitor: evaluation of the peracetate ester of (-)-epigallocatechins gallate [(-)-EGCG][J]. Bioorganic & Medicine Chemistry, 2004, 12(21): 5587-5593.
- [26] 刘晓辉. 乙酰化 EGCG 的衍生物的合成、纯化及应用特性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [27] LAMBERT J D, SANG Shengmin, HONG J, et al. Peracetylation as a means of enhancing *in vitro* bioactivity and bioavailability of epigallocatechin-3-gallate[J]. Metab Dispos, 2006, 34(12): 2111-2116.
- [28] UTENOVA B T, MALTERUD K E, RISE F. Antioxidant activity of O-protected derivatives of (-)-epigallocatechin-3-gallate: inhibition of soybean and rabbit 15-lipoxygenases[J]. ARKIVOC, 2007(ix): 6-16.
- [29] TANAKA T, KUSANO R, KOUNO I. Synthesis and antioxidant activity of novel amphipathic derivatives of tea polyphenol[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1998, 8(14): 1801-1806.
- [30] 卢聪聪, 邵卫梁, 姚晓敏, 等. 两种茶多酚化学改性制备的脂溶性茶多酚抗氧化性能研究[J]. 安徽医药, 2008, 12(3): 201-204.
- [31] TOBIASON F L. MNDO and AMI molecular orbital and molecular mechanics analyses of (+)-catechin, (-)-epicatechin, and their 3-O-acetyl derivatives[J]. Basic Life Science, Plant Polyphenols, 1992, 59: 459-478.
- [32] SAKAI M, SUZUKI M, NANJO F, et al. 3-Acylated catechins and method of producing same: Japan, EP0618203A1[P]. 1994-10-05. <http://www.freepatentsonline.com/EP0618203>.
- [33] MORI S, MIYAKE S, KOBET T, et al. Enhanced anti-influenza A virus activity of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate fatty acid mono-ester derivatives: effect of alkyl chain length[J]. Bioorganic & Medicine Chemistry Letters, 2008, 18(14): 4249-4252.
- [34] LU Hong, MENG Xiaofeng, YANG C S. Enzymology of methylation of tea catechins and inhibition of catechol-O-methyl-transferase by (-)-epigallocatechin gallate [J]. Drug Metabolism and Disposition, 2003, 31(5): 572-579.
- [35] SANO M, SUZUKI M, MIYASE T, et al. Novel anti-allergic catechin derivatives isolated from oolong tea[J]. J Agric Food Chem, 1999, 47(5): 1906-1910.
- [36] MENG Xiaofeng, SANG Shengmin, ZHU Nanqun, et al. Identification and characterization of methylated and ring-fission metabolites of tea catechins formed in humans, mice, and rats[J]. Chemical Research in Toxicology, 2002, 15(8): 1042-1050.
- [37] WANG Dongmei, LU Jiali, MIAO Aiqing, et al. HPLC-DAD-ESI-MS/MS analysis of polyphenols and purine alkaloids in leaves of 22 tea cultivars in China[J]. J Food Compos Anal, 2008, 21: 361-369.
- [38] AIHARA Y, YOSHIDA A, FURUTA T, et al. Regioselective synthesis of methylated epigallocatechin gallate via nitrobenzenesulfonyl (Ns) protecting group[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009, 19(15): 4171-4174.
- [39] 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.
- [40] 伍妍俊, 汪小钢, 宛晓春. 甲基化 EGCG 的合成及其在人工模拟胃肠液中的稳定性[J]. 安徽农业大学学报, 2010, 37(4): 688-691.
- [41] KITAO S, AFIGA T, MATSUDO T, et al. The syntheses of catechinglycosides by transglycosylation with *Leuconostoc* sucrose phosphorylase[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1993, 57: 2010-2015.
- [42] MOON Y H, LEE J H. Synthesis, structure analyses and characterization of novel epigallocatechin gallate(EGCG) glycosides using the glucanase from *Leuconostoc mesenteroides* B-1299CB[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(4): 1230-1237.
- [43] SATO T, NAKAGAWA H, KUROSU J. α -Anomer-selective glucosylation of (+)-catechin by the crude enzyme, showing glucosyl transfer activity, of *Xanthomonas campestris* WU-9701[J]. J Bios & Bioe, 2000, 90(6): 625-630.
- [44] KAWAMOTO H, NAKATSUBO F, MURAKAMI K. O-benzoylation of phloroglucinol via phloroglucinol triacetate synthetic communication [J]. Synthetic Communications, 1996, 26(3): 531-534.
- [45] 陈义. 表没食子儿茶素没食子酸酯的富集提取、分离与改性[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2007.
- [46] CHAN T H, LAM W H, CHOW L M C. (-)-Epigallocatechin gallate derivatives for inhibiting proteasome: Hong Kong, US 007, 544, 816B2 [P]. 2009-06-09. <http://www.wikipatents.com/US-Patent-7544816/-/epigallocatechin-gallate-derivatives-for-inhibiting-proteasome>.
- [47] 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.
- [48] FURUTA T, HIROOKA Y, ABE A, et al. Concise synthesis of dideoxy-epigallocatechin gallate (DO-EGCG) and evaluation of its anti-influenza virus activity[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17(11): 3095-3098.
- [49] SONG J M, PARK K D, LEE K H, et al. Biological evaluation of anti-influenza viral activity of semi-synthetic catechin derivatives[J]. Antiviral Research, 2007, 76(2): 178-185.