

提高 EGCG 生物利用度应用技术的进展

许丽遐

(石家庄职业技术学院 管理系, 河北 石家庄 050081)

摘要: 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是茶叶中特有的儿茶素类物质。EGCG 特殊的化学结构使其同时具有强抗氧化活性和低生物利用度特征,深度应用受到限制。近年来,随着结构修饰及递送体制备技术等新方法的发展,不仅提高了经改良的 EGCG 的稳定性、脂溶性和生物利用度,而且还保留了其原有的抗氧化、抗肿瘤、降血脂、降血糖及免疫调节等活性,但也存在一定的问题,有待进一步研究。

关键词: EGCG;稳定性;生物利用度;结构修饰;递送体制备

中图分类号: TS 971.21 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-8730(2020)04-0074-05

茶,作为一种天然饮料,因其独特的风味和保健功效,深受世界人民的喜爱。^[1,2] 茶叶中以表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)为主的儿茶素类物质是茶叶的主要功能成分,在预防心血管疾病、抗辐射、防癌抗癌、抗菌杀菌和抗氧化方面发挥重要作用。^[3]

EGCG 是 2-连苯酚基苯并吡喃与没食子酸形成的酯,具有酚类抗氧化剂的共性。因结构中有 6 个邻位酚羟基(图 1),EGCG 在许多性质上优于其他儿茶素。虽然 EGCG 已被广泛应用于食品、医药和日用化工领域,但在实际应用中仍存在一定的局限性。LAIPNSKI 等^[4] 提出生物利用度低的化合物具有以下化学结构特征:(1)化合物的相对分子质量 > 500, CLogP > 5;(2)化合物中的 -OH 或 -NH 数量 ≥ 5;(3)化合物中可形成氢键的 N 基或 O 基数 ≥ 10。如表 1 所示,EGCG 的 3 项指标均高于其他儿茶素类物质,如表没食子儿茶素(EGC)和表儿茶素(EC),所以其生物利用度低于 EGC 和 EC。^[4] 特殊化学结构还使得 EGCG 遇到光照、高温、碱性等外界环境因素易发生氧化聚合反应;生物体内的 pH、酶等生理环境因素会影响其稳定性。^[5] 另外,EGCG 在生物体内的吸收率极低,体内 90% 以上的 EGCG 会通过粪便或尿液排出体外。^[6] 由此可见,EGCG 的化学性质以及在生物体内的稳定性,均对其生物利用度

造成影响,使其无法在人体发挥更好的作用。^[7,8] 目前,主要采用结构修饰的方法和递送体制备工艺改善 EGCG 的脂溶性和稳定性,从而提高 EGCG 进入人体后的生物活性和可利用度。

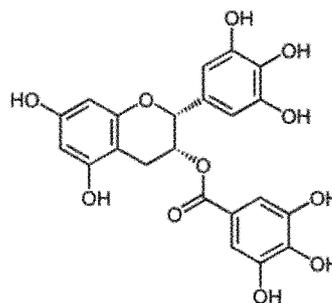


图 1 EGCG 的化学结构式

表 1 茶叶中的几种活性化合物生物利用度比较

化合物名称	相对分子质量	-OH 和 -NH 数量 ^a	N 和 O 基数量 ^b	生物利用度次序 ^c
EC	290	5	6	1
EGC	304	6	7	1
EGCG	458	8	11	2

注:a 表示 -OH 和 -NH 的总和;b 表示 O 和 N 基数的总和;c 数字越大,生物利用度越低。

1 结构修饰方法

结构修饰方法包括化学结构修饰和微生物转化修饰。化学结构修饰法是对 EGCG 的 8 个酚羟

收稿日期:2020-07-10

基金项目:河北省自然科学基金面上项目(H20206532)

作者简介:许丽遐,女,石家庄职业技术学院管理系副教授,从事食品营养研究。

基进行修饰,使其全部或部分发生甲基化、酰基化或糖苷化;微生物转化修饰是一种生化反应,主要是利用微生物代谢过程中产生的酶对 EGCG 进行结构修饰。^[9-12]经修饰的 EGCG 衍生物比 EGCG 有更好的稳定性和生物利用度。^[13]

1.1 甲基化修饰法

甲基化修饰是将 EGCG 部分或全部的酚羟基转化成甲氧基的分子修饰方法。SAIJO^[14]首次从茶树鲜叶中分离出 EGCG 3''Me,但是它在茶树中的含量少且分离困难。因此,科研工作者利用化学合成法将 EGCG 苯环上的酚羟基进行甲基化修饰,从而提高 EGCG 的稳定性。MENG 等^[9]以 CH₃I 为溶剂与 EGCG 一同加入丙酮溶液中,在碳酸钾的催化下,水浴超声 3 h 合成得到 3 种甲基化的 EGCG 衍生物。吕海鹏团队^[15]用同样的方法合成了 5 种甲基化的 EGCG 衍生物,并发现 EGCG 的 4' 位最易被甲基化。研究表明 EGCG 的羟基被更稳定的甲氧基取代后,其稳定性及脂溶性得到提升,进而提高衍生物的生物利用度并改善生物活性。^[13]甲基化的 EGCG 在抗过敏、消炎等方面表现出比 EGCG 更强的药理作用。最近还发现 EGCG 3''Me 和 EGCG 4''Me 具有抗氧化、保护肝细胞、降血压等功能。^[16]此外,EGCG''Me 的口服吸收率要比 EGCG 高 9 倍,而且它在动物血液中的稳定性明显高于 EGCG。^[16]甲基化修饰的缺点是试剂多为剧毒化学物质,在化学反应过程中产生较多的副产物,增加了分离和纯化的难度。

1.2 酰基化修饰法

酰基化修饰是将长链或短链脂肪链选择性地接在 EGCG 分子的 8 个酚羟基上形成酯键的修饰方法。该法主要以酸酐和酰氯为酰基供体,用 N,N-二甲氨基吡啶(DMAP)或吡啶为催化剂,得到一系列酰化衍生物。LAM 等^[10]用酰基修饰方法得到了 8 个全乙酰化的 EGCG,酚羟基被酰基保护的 EGCG 的稳定性比 EGCG 提高 6 倍,抑制蛋白酶体和诱导 MCF7 乳腺癌细胞凋亡的生物活性也随之增强。杜亚俊^[17]证实经乙酰化修饰后,EGCG 的稳定性、脂溶性和生物利用度都大幅提高。另外,全乙酰化 EGCG 在 HeLa 细胞中表现出的抗癌活性高于 EGCG,并且与阿霉素联用还可以明显提高阿霉素对癌细胞的抑制作用。^[18]但是酰基化修饰存在的缺点也是不容忽视的。合成线路单一和酰化位点不确定导致难以实现定点修

饰;合成的 EGCG 衍生物的酰化程度不一致,增加了后期分离纯化的难度;酰基化修饰造成 EGCG 酚羟基数目的减少,对其生物活性和生物利用度均有影响;有毒溶剂的添加也限制了 EGCG 在药品和食品领域的应用。

1.3 糖苷化修饰

糖苷修饰是将亲水性的单糖分子选择性地接到 EGCG 分子上的修饰方法,以此提高 EGCG 的水溶性及其在人体内的代谢活性。EGCG 经糖苷化修饰后,其水溶性提高了 50~100 倍,葡萄糖苷元的甜味可减轻 EGCG 的涩味,其抗氧化能力未受影响并提升了稳定性,表现出更强的清除细胞质内的自由基的能力。^[19]MOON 等^[11]用酶的糖苷化修饰方法在 C-4' 位和 C-7 位引入 α -D-吡喃葡萄糖基,分离纯化后得到 3 种微生物产物,紫外线照射实验发现糖苷化的 EGCG 具有比 EGCG 更强的抗褐变能力,稳定性和生物利用度明显改善。张盼^[20]采用化学合成法,即 Click 反应所合成的糖苷化的 EGCG 衍生物表现出更好的稳定性和抗肿瘤活性。化学合成法成本较低,在糖苷化 EGCG 的工业化生产中应用较多,但化学合成法合成路线复杂,对反应条件比较苛刻。相比而言,酶法温和,反应过程高效,而且底物专一,反应路线也较为简单,但酶法合成成本过高,不利于工业化生产。

1.4 微生物转化修饰法

微生物转化修饰是一种生化反应。主要是利用微生物代谢过程中的某一种或一系列酶对 EGCG 进行结构修饰。其原理是:在肠道微生物的作用下 EGCG 可发生水解、环裂解、脱羟基或内酯化等酶促反应,最终降解转化成 EGC、三羟基苯-异丙醇、戊酸类化合物、 γ -丙戊内酯等一系列小分子酚酸代谢产物。^[12]目前,人肠道细菌、鼠肠道菌群、乳酸菌及各种真菌是 EGCG 进行转化的主要微生物媒介。真菌或乳酸菌可水解 EGCG 生成 EGC 和 GA,^[21]并且真菌黑曲霉和烟曲霉可将 EGCG 转化为 EGC 等儿茶素类氧化物,^[22]而 EGC 可进一步转化产生其他衍生物或代谢产物。其中,EGC 不仅具有更高的生物利用度,而且还保留了 EGCG 原有的抗氧化、抗肿瘤和免疫调节活性。^[12]已证实经微生物转化修饰的 EGCG 可明显提高其在小鼠体内的吸收率、生物可利用率和抗氧化能力。^[23]由此可见,微生物转化修饰有特

异性强、周期短和反应条件温和的优点。^[24]更重要的是在加工过程中由于不添加有害物质,相比化学结构修饰,此方法更加绿色、环保和无污染。

2 递送体制备技术

以蛋白质纳米颗粒、多糖纳米颗粒、金属或非金属纳米颗粒、脂质体或水凝胶作为递送体包载药物,能防止 EGCG 发生异构和氧化反应,提高其缓释性和稳定性,并且实现了靶向输送,从而扩展 EGCG 的应用范围。^[25]

2.1 以蛋白质或多糖为载体的 EGCG 纳米颗粒制备

蛋白质和多糖由于良好的生物相容性和可生物降解的特征,被视为递送生物活性成分的良好壁材。多糖载体多以壳聚糖、果胶、透明质酸等为壁材。LIU 等^[26]以壳聚糖所制备的 EGCG - CS 纳米颗粒显著提升了 EGCG 抑制乳腺癌细胞增殖的能力。但是多糖的多孔性、包埋率低和加芯材,影响 EGCG - CS 纳米颗粒在肠道中的稳定性。

牛血清白蛋白、酪蛋白、乳铁蛋白、 β -乳球蛋白以及玉米醇溶蛋白(zein)是较为常用的载体蛋白。DONSI 等^[27]运用反溶剂法所制备的 EGCG - zein 纳米颗粒不仅增强稳定性,还显著提升表面抗氧化活性和生物可利用率。酪蛋白封装后的 EGCG 在结肠癌细胞中仍具有抗恶性细胞增生的活性。^[28]相较游离的 EGCG,由 β -乳球蛋白(pH 6.5)和 EGCG 生成的共组装纳米颗粒对人体恶性黑色素瘤细胞的抑制活性增强了近 70%,同时对食管癌细胞增殖的抑制活性也提升了 63.7%,更重要的是该纳米颗粒对正常人结肠细胞和小鼠非肿瘤细胞的生长均没有明显的抑制作用,说明该纳米颗粒可有效提高 EGCG 的抗癌活性,且对正常细胞几乎没有不良反应。^[29]

2.2 以金属或非金属为载体的 EGCG 纳米颗粒制备

纳米金粒子是研究最多的一种金属纳米粒子,由于具有体积小、穿透性强、靶向性高及良好的生物相容性的特点,为心血管疾病和癌症的临床治疗提供了新的思路。^[30, 31]KHOOBCHANDANI 等^[31]制成的 EGCG 交联金纳米颗粒可用来替代药物涂层支架,为心血管疾病的治疗提供了新的方法。而纳米金粒子与 EGCG 结合治疗癌症的效果也明显。另外,以非金属硒为载体制备 EGCG

纳米硒颗粒,能有效抑制 H22 肝癌细胞的增殖,从而弥补了药理剂量的 EGCG 不能抑制 H22 癌细胞增殖的不足。^[32]SAMUTPRASERT 等^[33]制备的 EGCG - ZnO 共晶纳米颗粒,既可以使 EGCG 的稳定性得到改善,并且促进癌细胞对锌元素的吸收和积累,以起到与 EGCG 协同抵抗肝癌、胰腺癌以及前列腺癌的效果。营养学家认为多种微量矿物质在人体内起着重要的作用,但是过量使用任何一种微量矿物质都是有害的。因此,金属纳米颗粒的制备应严格控制剂量。

2.3 以脂质为载体的 EGCG 纳米颗粒制备

EGCG 由于脂溶性较差,致使在细胞中的渗透性较差,且吸收率较低,导致其在临床治疗中的口服利用率很低。脂质体是磷脂双分子层分散在水中自然形成的多层囊泡,这种结构特性使得亲脂性和亲水性药物得以包封。因此,采用脂质体包裹可显著提高 EGCG 的生物利用度。多项研究证实 EGCG 脂质体比单体 EGCG 具有更好的贮存稳定性、包埋性和缓释性,其抗癌活性也比单体 EGCG 更高,在食品和制药领域广泛应用。然而,脂质体在消化过程中,易受弱酸环境和消化酶的破坏,导致被载物泄露。因此,脂质体作为 EGCG 的递送载体仍需要深入研究。

2.4 以水凝胶为载体的 EGCG 纳米颗粒制备

D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰葡萄糖胺双糖组成的酸性黏多糖,是一种透明质酸,是目前使用最多的水凝胶载体,这种载体具有吸水性强、质地柔软、低免疫原性和可生物降解性等特点。^[34]LEE 等^[35]研究发现经由透明质酸交联而形成的水凝胶,可显著提高 EGCG 的生物稳定性。JIANG 等^[36]发现,相较于游离的 EGCG,透明质酸 - EGCG 有更强地抑制淀粉样 β 凝蛋白聚集的作用,从而推迟阿尔茨海默病的发病年龄。水凝胶制备技术成熟且方法多样,且可延长食品贮藏和保存期限,已被广泛应用于食品工业;其不足在于水凝胶在高温下容易分解,且生产成本也比较高。

3 总结

综上所述,经酚基化修饰后,虽然 EGCG 的脂溶性和稳定性都有所提高,但是 EGCG 衍生物的羟基数目的减少使其生物活性也有所降低。另外,有毒化学试剂的使用限制了其在食品和药品领域的应用;而酶法又因成本过高,也不适合工业

化生产。相比之下,微生物转化修饰的 EGCG 不仅提高了生物利用度,还保留了 EGCG 原有的抗氧化、抗肿瘤、免疫调节等活性,更重要的是方法上更加绿色环保。然而,大多数微生物的代谢途径和催化酶系的相关研究尚不明晰,对代谢产物的生物活性也知之甚少。EGCG 递送体制备技术完整地保留 EGCG 的 8 个活性酚羟基,为增强 EGCG 的稳定性、缓释性和靶向性提供了新的思路。随着新技术的发现,EGCG 会具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 张茜. 清代川茶、滇茶运销对比研究[J]. 美食研究, 2018,35(2):13-17.
- [2] 石琳. 新式茶饮消费者的消费心理与行为研究——基于消费者评价语的情感分析[J]. 美食研究, 2020, 37(2):14-20.
- [3] 林智,吕海鹏,张盛. 茶叶活性成分的化学和药理作用[J]. 中国茶叶,2018,40(11):4-9.
- [4] LIPINSKI C A, LOMBARDO F, DOMINY B W, et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1997,46(1):3-25.
- [5] AQIL F, MUNAGALA R, JEYABALAN J, et al. Bioavailability of phytochemicals and its enhancement by drug delivery systems[J]. *Cancer Letters*, 2013, 334(1):133-141.
- [6] KAWABATA K, YOSHIOKA Y, TERAOKA J. Role of intestinal microbiota in the bioavailability and physiological functions of dietary polyphenols [J]. *Molecules*, 2019,24(2):370.
- [7] FRIEDMAN M, LEVIN C, LEE S, et al. Stability of green tea catechins in commercial tea leaves during storage for 6 months[J]. *Journal of Food Science*, 2009,74(2):47-51.
- [8] LI N, TAYLOR L S, FERRUZZI M G, et al. Kinetic study of catechin stability: effects of pH, concentration, and temperature [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(51):12531-12539.
- [9] MENG X, SANG S, ZHU N, 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.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 杜敏如,房倩安,廖振林,等. 微生物介导的表没食子儿茶素没食子酸酯生物转化及其代谢物活性研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(9):204-210.
- [13] FORESTER S C, LAMBERT J D. The catechol-O-methyltransferase inhibitor, tolcapone, increases the bioavailability of unmethylated (-)-epigallocatechin-3-gallate in mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 17:183-188.
- [14] SAIJO R. Isolation and chemical structures of two new catechins from fresh tea leaf[J]. *Agricultural & Biological Chemistry*, 1982,46(7):1969-1970.
- [15] 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.
- [16] 吕海鹏,林智,谭俊峰,等. 茶叶中的 EGCG 3"Me 研究[J]. 食品与发酵工业, 2008(10):26-29.
- [17] 杜亚俊. EGCG 全酰化衍生物体外降解及对环磷酰胺引起的肝毒性的保护作用[D]. 重庆:西南大学, 2016.
- [18] 叶敏. 酰化表没食子儿茶酚没食子酸酯抗癌和降糖活性研究[D]. 重庆:西南大学,2013.
- [19] 陈义,汪小钢,宛晓春. 儿茶素分子修饰的研究现状及前景展望[J]. *天然产物研究与开发*, 2007, (B08):367-369.
- [20] 张盼. 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)衍生物的合成及生物活性研究[D]. 长春:吉林大学, 2017.
- [21] CHOI C Y, PARK E H, JU Y W, et al. Increase of epigallocatechin in green tea extract by lactic acid bacteria fermentation[J]. *Korean Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2016, 44(1):62-67.
- [22] QIN J H, LI N, TU P F, et al. Change in tea polyphenol and purine alkaloid composition during solid-state fungal fermentation of postfermented tea[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2012,60(5):1213-1217.
- [23] ONG C-B, ANNUAR M S M. Polyphenolic composition and in vitro antioxidant activities of native- and

- tannase - treated green tea extracts [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 52(3): 748 - 756.
- [24] 关松磊, 吴雅馨, 孙赫, 等. 微生物转化技术在中药开发中的应用进展 [J]. *微生物学通报*, 2018, 45(4): 900 - 906.
- [25] 闫晓佳, 梁秀萍, 李思琪, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯性质、稳定性及其递送体系的研究进展 [J]. *食品科学*, 2020, 41(1): 258 - 266.
- [26] LIU Y, HU S, FENG Y, et al. Preparation of chitosan - epigallocatechin - 3 - O - gallate nanoparticles and their inhibitory effect on the growth of breast cancer cells [J]. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 2018, 11(4): 1 - 10.
- [27] DONSI F, VOUDOURIS P, VEEN S J, et al. Zein - based colloidal particles for encapsulation epigallocatechin gallate and delivery of epigallocatechin gallate [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63(1): 508 - 517.
- [28] HARATIFAR S, MECKLING K A, CORREDIG M. Antiproliferative activity of tea catechins associated with casein micelles, using HT29 colon cancer cells [J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(2): 672 - 678.
- [29] WU M, JIN J, JIN P, et al. Epigallocatechin gallate - β - lactoglobulin nanoparticles improve the antitumor activity of EGCG for inducing cancer cell apoptosis [J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 39: 257 - 263.
- [30] CHEN C, HSIEH D, HUANG K, et al. Improving anticancer efficacy of (-) - epigallocatechin - 3 - gallate gold nanoparticles in murine B16F10 melanoma cells [J]. *Drug Design Development and Therapy*, 2014, 8: 459 - 474.
- [31] KHOOBCHANDANI M, KATTI K K, MAXWELL A W R, et al. Laminin receptor - avid nanotherapeutic EGCG - AuNPs as a potential alternative therapeutic approach to prevent restenosis [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(3): 316 - 332.
- [32] 孙康. EGCG 与硒或戒酒硫联用的抗癌作用及利用 EGCG 制备纳米硒颗粒 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2015.
- [33] SAMUTPRASERT P, CHIABLAEM K, TEERASERANEE C, et al. Epigallocatechin gallate - zinc oxide co - crystalline nanoparticles as an anticancer drug that is non - toxic to normal cells [J]. *Rsc Advances*, 2018, 8(14): 7369 - 7376.
- [34] PRESTWICH G D. Hyaluronic acid - based clinical biomaterials derived for cell and molecule delivery in regenerative medicine [J]. *Journal of controlled release*, 2011, 155(2): 193 - 199.
- [35] LEE F, CHUNG J E, XU K, et al. Injectable degradation - resistant hyaluronic acid hydrogels cross - linked via the oxidative coupling of green tea catechin [J]. *ACS Macro Letters*, 2015, 4(9): 957 - 960.
- [36] JIANG Z, DONG X, YAN X, et al. Nanogels of dual inhibitor - modified hyaluronic acid function as a potent inhibitor of amyloid β - protein aggregation and cytotoxicity [J]. *Scientific reports*, 2018, 8(1): 1 - 11.

Research progress of applied technology in improving the bioavailability of EGCG: A review

XU Lixia

(Department of Management, Shijiazhuang University of Applied Technology, Shijiazhuang, Hebei 050081, China)

Abstract: Epigallocatechin gallate (EGCG) is a unique catechin substance in tea. The special chemical structure of EGCG makes it possess strong antioxidant activity and low bioavailability characteristics, and its deep application is limited. In recent years, with the development of new methods such as structural modification and delivery system preparation technology, it has not only improved the stability, fat solubility and bioavailability of the modified EGCG, but also retained its original antioxidant, anti - tumor, reducing blood sugar and lipid, and improving immunity activities. However, still there remain certain problems to be studied.

Key words: epigallocatechin gallate (EGCG); stability; bioavailability; structure modification; delivery system preparation

(责任编辑:赵勇 曹文磊)