

儿茶素衍生物合成及药理作用研究进展

于莎莎, 丁阳平, 罗 赛, 高明珠, 龚正礼*

(西南大学食品科学学院, 重庆 400716)

摘 要: 儿茶素是茶叶中多酚类的主要成分, 具有多种药理功能, 广泛用于食品、医药及日用化工等领域。但其脂溶性及稳定性差, 生物利用率低等缺点使其应用范围受到限制。因此对儿茶素的结构修饰应运而生。本文重点综述儿茶素衍生物主要合成方法——酶法和化学法, 简述其生理活性, 并对其前景作出展望。

关键词: 儿茶素衍生物; 合成; 药理作用; 进展

Research Advance in Synthesis and Pharmacological Effects of Catechin Derivatives

YU Sha-sha, DING Yang-ping, LUO Sai, GAO Ming-zhu, GONG Zheng-li*

(College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: As main polyphenolic components in tea, catechins have various pharmacological functions and are widely used in various fields such as the food, medicine, and daily chemical industries. However, weak liposolubility and stability as well as low bioavailability limit their application in practice. As a result, structural modification of catechins comes into being. This review focuses on the synthesis mainly by enzymatic or chemical modification and biological activities of catechin derivatives. Moreover, their application prospects are forecasted.

Key words: catechin derivatives; synthesis; pharmacological effects; progress

中图分类号: TS272

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)17-0318-09

儿茶素(catechins)是茶多酚中主要的酚类化合物, 约占其总量的 70%, 茶叶干质量的 12%~24%。儿茶素中主要有表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)4种(图1中化合物1~4), 其中EGCG、ECG为酯型儿茶素, EGC、EC为非酯型儿茶素^[1], 含量最高的是EGCG。大量研究发现, 儿茶素具有抗氧化、抗诱变、抗癌、抗心血管疾病、抗糖尿病、抗菌消炎、抗衰老、抗光学损伤、清除自由基和降脂减肥等多种生理功能^[2-7], 并作为一种新型的天然抗氧化剂在食品领域中得到广泛应用^[8]。然而其脂溶性及稳定性差, 生物利用率低等^[9-12]缺点限制其进一步开发利用。因此为了改变这一现状, 对儿茶素的结构修饰应运而生。结构修饰一般采用微生物法、酶法和化学法3种, 其中微生物法在儿茶素结构修饰中较少应用, 酶法和化学法是儿茶素衍生物合成的主要方法^[13]。

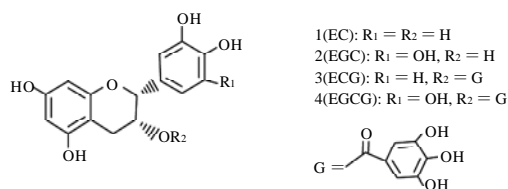


图1 儿茶素的结构

Fig.1 Molecular structure of catechins

1 酶法修饰

酶法修饰主要在非酯型儿茶素分子的3位羟基上, 也有在EGCG的B环和D环羟基上。酶法修饰反应条件温和, 不需基团保护, 并且具有高度选择性, 能更好保持或提高儿茶素的生物活性。

Koizumi等^[14]利用一种从人体肠杆菌属中获得的新型芳基磺基转移酶催化合成硫酸酯化EGCG。方法是对硝基苯磺酸作供体, 与EGCG等量反应, 得到EGCG-4'-

收稿日期: 2011-07-08

基金项目: 重庆市自然科学基金项目(CSTC, 2010BB1134)

作者简介: 于莎莎(1986—), 女, 硕士研究生, 主要从事茶叶功能成分化学研究。E-mail: yusha11235@163.com

*通信作者: 龚正礼(1957—), 男, 教授, 博士, 主要从事茶叶加工和茶叶化学研究。E-mail: dingyangping@swu.edu.cn

单硫酸酯(图2中化合物5)。因此这种芳基磺基转移酶可被用于制备多酚类的硫酸酯。

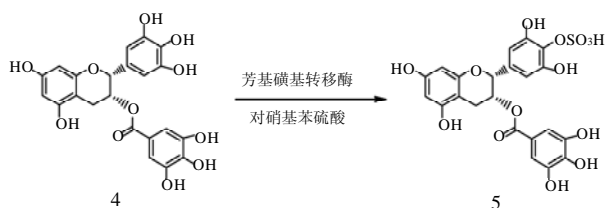


图2 芳基磺基转移酶制备 EGCG-4' -单硫酸酯

Fig.2 Preparation of EGCG-4' -monosulfate by bacterial arylsulfotransferase

Sakai 等^[15]利用黑曲霉中的羧基酯化酶对儿茶素的羟基进行酯化,得到3位羟基酯化衍生物。方法是:将酰化物加入到含有羧基酯化酶的儿茶素溶液体系中,温度控制在20~60℃,在偏酸性的条件下进行酯化反应。所得产物在油脂中的溶解性明显提高,但产率较低。Patti 等^[16]从不同来源的多种脂肪酶中筛选出 *Mucor miehei*(Lipozyme® IM)脂肪酶来制备3-O-酰化儿茶素。其方法为在固定化脂肪酶的叔丁基甲醚溶液中,儿茶素(图3中化合物6)先经酰化反应制得五酰基化衍生物或先经乙酰化得到5,7,3',4'-O-四乙酰基酯,再经棕榈酰化,然后分别经醇解、柱层析制备得到3-O-棕榈酰化儿茶素(图3中化合物7)。两条途径产物得率分别为70%和90%。所得的3-O-酰化衍生物亲油性优于儿茶素。

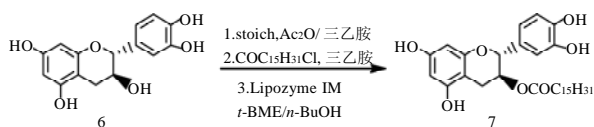


图3 3-O-棕榈酰化儿茶素的制备

Fig.3 Preparation of 3-O-palmitoylcatechin by *Mucor miehei* lipase

近年来 Osaka 大学 Mori 等^[17]利用产碱杆菌属中人胰脂肪酶合成了一系列酯型的长碳链 EGCG 脂肪酸单酯。方法如下:二甲基甲酰胺(DMF)作溶剂,57℃条件下,EGCG通过酵素催化酯基转移反应得到不同碳链长度的脂肪酸单酯(图4中化合物8~11)。结果发现长链酰基 EGCG 衍生物对流感病毒 A/PR8/34 的抑制活性比 EGCG 提高了24倍。

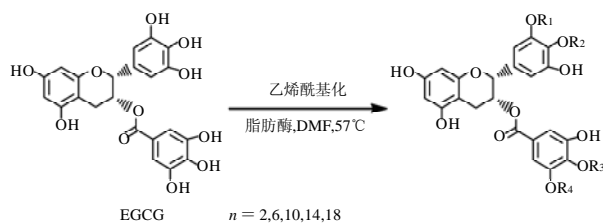


图4 脂肪酶催化酯基转移制备 EGCG 单酯衍生物

Fig.4 Preparation of EGCG monoester derivatives by lipase-catalyzed transesterifications

由于酶提取技术尚不成熟,分离纯化困难,再加上酶的稳定性差等特点,所以酶法合成成本高,并且产率低,难以实现工业化生产。

2 化学修饰

化学修饰是目前儿茶素进行结构修饰的主要手段。儿茶素的化学修饰包括两类:一类是发生在羟基上,另一类是直接发生在芳环碳上。其中酚羟基上的修饰又分为酯化修饰和醚化修饰。

2.1 酯化修饰

酯化修饰是在儿茶素的酚羟基上引入酰基,从而形成酯,该酯化反应是一个亲核反应。大量研究表明儿茶素经脂肪酰基酯化后可以提高儿茶素的稳定性和皮肤渗透性,而且也有很强的抗氧化活性。

儿茶素酯化修饰一般采用酰氯作酰基供体。陈平等^[18]将 EGCG 与棕榈酰氯酯化制备脂溶性的 EGCG 棕榈酸酯,利用高速逆流色谱进行分离纯化,获得一种新的单取代长碳链酯型儿茶素——EGCG-4'-棕榈酸酯(图5中化合物12a)。并用活性氧法(AOM)比较了该衍生物与特丁基-4-羟基茴香醚(BHA)、2,6-二特丁基对甲酚(BHT)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)在大豆色拉油中的抗氧化活性。结果表明该衍生物的抗氧化活性与 TBHQ 相当,比 BHA、BHT 强。随后用相同的方法得到 EGCG-4'-肉豆蔻酸酯(图5中化合物12b),其抗氧化活性与 TBHQ 相当,说明脂溶性的 EGCG 衍生物仍保持其固有的抗氧化活性,可在非水体系中发挥其独特的作用^[19]。另外他们用12~22碳脂肪酸酰氯在无机碱(如 KHCO_3 、 NaHCO_3)或金属(Al、Ni、Zn 等)催化下,在 EGCG 的7-OH 和4'-OH 引入不同长度的脂肪链酰基,得到一系列 EGCG 脂肪酸酯,可作为抗氧化剂使用,并申请了相关专利^[20]。Kaihatsu 等^[21]发现 EGCG 棕榈酸酯具有显著抗流感病毒功效,能抑制人和家禽类流感病毒 A 和 B 以及抗药性病毒,比神经氨酸酶抑制剂更有效,而且在鸡产蛋时抑制效果更好。Chen Ping 等^[22]发现茶多酚硬脂酸酯和 EGCG 一样能选择性地诱导 OSC2 口腔鳞癌细胞凋亡,也能显著诱导半胱氨酸蛋白酶14(caspase 14)表达,改善皮肤质量。并且能在人类表皮角质细胞中转化出自由的 EGCG,稳定性比 EGCG 好,生物利用率得到提高。目前已报道的制备酯化儿茶素的酰氯除上述试剂外还有月桂酰氯、亚油酰氯、葵酰氯等^[23-26]。

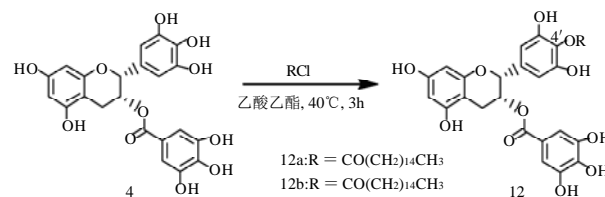


图5 EGCG 脂肪酸酯的合成

Fig.5 Synthesis of EGCG derivatives

除了上述酰氯之外,应用较多的酰化试剂还有酸酐(乙酸酐、丙酸酐等)。报道发现EGCG经乙酰基酯化后其生物利用度提高、稳定性增强,是一种潜在的抗癌前体药物^[27]。此外,乙酰基还是游离酚羟基的保护基,经常用于儿茶素衍生物合成时对酚羟基进行选择保护^[28-29]。

据报道^[30-34],分别用乙酸酐在吡啶中对EGCG酚羟基进行酯化,过夜得到全乙酰化EGCG(图6中化合物13)。用MS和¹H NMR等进行结构表征,并申请了相关专利。研究发现该衍生物稳定性比EGCG好,并具有抑制蛋白酶体和诱导MCF7乳腺癌细胞凋亡的作用,活性强于EGCG,可开发为蛋白酶体抑制剂和潜在的抗癌前体药物。Utenova等^[35]利用二甲氨基吡啶(DMAP)催化,二氯乙烷作溶剂,使EGCG分别与乙酸酐、丙酸酐和丁酸酐在室温下反应得到一系列EGCG衍生物。活性实验发现这些EGCG酰基化衍生物清除自由基的活性降低,但能显著抑制大豆和兔网织红细胞15-脂氧合酶的活性,效果优于EGCG。并发现EGCG与酰基化EGCG都对结核杆菌有抗菌效果。刘屏等^[36]在研究鸡血藤活性化合物儿茶素结构修饰时,将50mg EC和10mL吡啶加入到10mL乙酸酐中,室温反应7h,制备得到3,5,7,3',4'-O-五乙酰基儿茶素,收率71.3%,纯度96%,并发现儿茶素的乙酰化衍生物有一定的抗辐射作用,但效果不及儿茶素。江和源^[37]、刘晓辉^[38-39]等研究了乙酰化EGCG的反应条件,得出最佳工艺为:乙酸酐为溶剂,吡啶为催化剂,EGCG与乙酸酐比例为1:84.8,室温下搅拌反应5h,可得乙酰化EGCG衍生物,纯度高达96.04%(图6)。

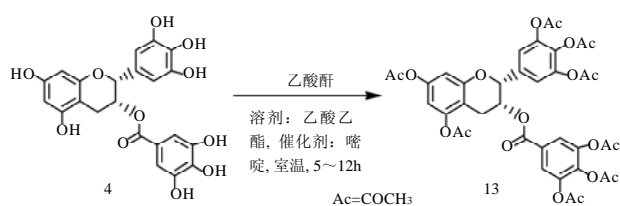


图6 乙酰化EGCG的合成

Fig.6 Synthesis of acetylated EGCG derivatives

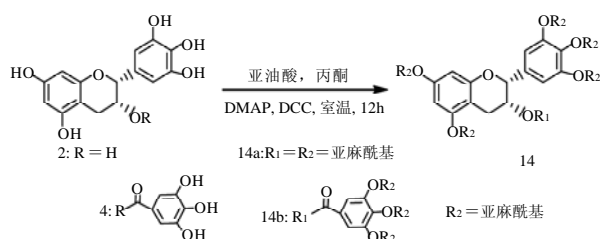


图7 EGC和EGCG亚油酸酯衍生物的合成

Fig.7 Synthesis of linoleates EGC and EGCG derivatives

Mustafa等^[40]采用亚油酸直接与EGC和EGCG反应,得到EGC亚油酸酯和EGCG亚油酸酯(图7中化合物14)。方法是丙酮作溶剂,4-DMAP和二环己基碳二亚胺(DCC)催化,室温下反应12h,产率为98%。活性实验发现其对7种癌细胞(SK-MEL、KB、BT549、SKOV3、MCF7、NCI-H460、SF268)生长具有一定抑制作用。

近年来关于儿茶素酯化修饰的报道较多,但依然存在一些问题,如:合成途径单一;酚羟基损失较大,且酰化程度越高,其损失越大,导致儿茶素生物活性降低;化学反应不易控制,选择性差,目标产物分离难度大。

2.2 醚化修饰

目前研究报道的醚化修饰主要是利用甲基化试剂合成甲基化儿茶素,从而增强其脂溶性。天然甲基化儿茶素在茶叶中含量甚微,20世纪90年代末期,日本科学家Sano等首次从台湾冻顶乌龙茶中分离鉴定出2种具有抗过敏功能的新型儿茶素衍生物——EGCG3''Me和EGCG4''Me(图8中化合物15a和15b)^[41]。由于甲基化EGCG在茶叶中含量不高,分离难度大。因此人们尝试用各种甲基化试剂(CH_3N_2 、 $(\text{Me})_2\text{SO}_4$ 、 CH_3I 等)来合成安全、无毒的甲基化EGCG,以便为抗花粉过敏保健食品的开发提供充足的原料。

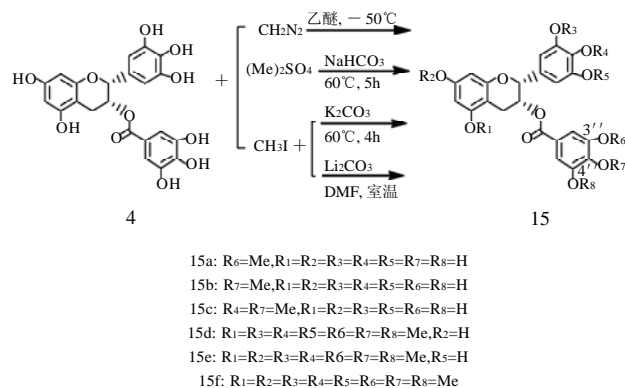


图8 甲基化EGCG的合成

Fig.8 Synthesis of methylated EGCG derivatives

Miyase等^[42]用 CH_3I 作甲基供体,DMF做溶剂,在 Li_2CO_3 催化下室温反应24h,成功的在EGCG4''-OH上引入甲基。Yanase等^[43]以EGCG和 CH_3N_2 为原料,在乙醚中-50°C条件下反应3.5h得到甲基化EGCG。由于EGCG甲基化选择性差,副产物较多,需进一步分离才能得到单体。吕海鹏等^[44]设计了两个反应体系,采用控制 CH_3I 与EGCG的比例来研究甲基化规律。反应体系I中 CH_3I 与EGCG的比例为10:1;反应体系II中两者比例为1:1。方法是将EGCG加入到丙酮中,碳酸钾作催化剂, CH_3I 作甲基供体,60°C回流4h,得到5个EGCG甲基化衍生物(图8中化合物15b~15f),且发现EGCG的4''位最易被甲基化,这为研究儿茶素选择性甲基化提供理论依据。伍妍俊等^[45]用 $(\text{Me})_2\text{SO}_4$ 对EGCG进行甲

基化, 结果显示该体系合成甲基化 EGCG 的最佳条件是: $(\text{Me})_2\text{SO}_4$ 与 EGCG 的物质的量比为 1:1, 丙酮作溶剂, NaHCO_3 作催化剂, 60°C 回流反应 5h。经分离后得到纯度为 93.86% 的单甲基化产物 242mg, 得率约为 9%, 经鉴定其为 EGCG4'' Me。人工模拟胃液实验显示, 其在该溶液中能脱去甲基, 生成 EGCG, 起到缓释作用(图 8)。

除了上述直接合成甲基化儿茶素的报道外, 也有通过间接途径进行合成的报道。Wan 等^[46]将儿茶素酚羟基经苄基保护, DMAP 催化, 二氯甲烷作溶剂, 在室温下与甲基化没食子酰氯(图 9 中化合物 17)反应过夜, 最后氢化脱苄基, 得到 EGCG4'' Me 和其他一些甲基化儿茶素, 如 EGCG4'', 5''-diMe、EGCG5'' Me、ECG5'' Me、ECG4'' Me 和 ECG4'', 5'' diMe 等, 但并未得到 EGCG3'' Me (图 9)。Aihara 等^[47]将 EGC 酚羟基用 2-硝基苯磺酰基保护后, 在 DMAP、EDCI 催化下与甲基化没食子酸反应得到一系列甲基化儿茶素, 除天然稀有的 EGCG3'' Me、EGCG4'' Me 外, 还包括 ECG3'' Me、ECG4'' Me、GCG3'' Me、GCG4'' Me、EGCG3', 3''-diMe 等衍生物。活性实验显示单甲基儿茶素对重组基质金属蛋白酶(*r*-MMP-2、*r*-MMP-7、*r*-MT1-MMP)具有抑制作用, 其中 EGCG3'' Me、GCG3'' Me 的抑制活性强于 EGCG4'' Me、GCG4'' Me 及 EGCG。

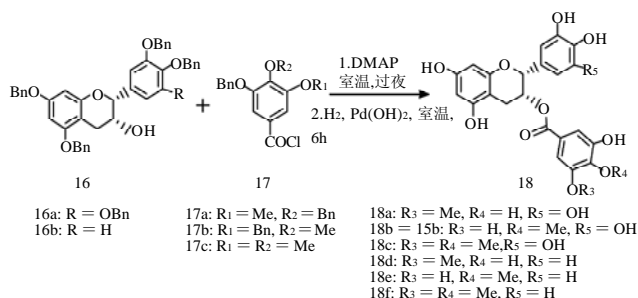


图 9 甲基化儿茶素的合成

Fig.9 Synthesis of methylated catechins derivatives

尽管目前研究报道甲基化儿茶素的修饰方法非常多, 但化学合成方法选择性差, 反应难控制, 副产物较多, 分离难度大, 并且所用试剂多有毒性。因此绿色、高效的甲基化儿茶素的合成途径有待进一步研究。

2.3 儿茶素 3-O- 修饰

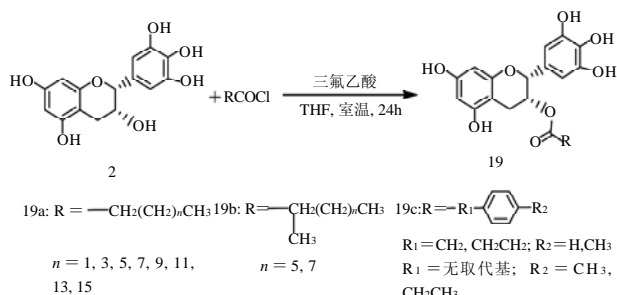


图 10 3-O- 酰基化 EGC 的合成

Fig.10 Synthesis of 3-O-acyl-(-)-epigallocatechins

目前采用化学法合成儿茶素 3-O- 修饰衍生物的研究近来也有报道, 大多采用不同碳链长度的亲油基团修饰 C3-OH, 从而得到酰氧基或者烷氧基衍生物。

Uesato^[48]和 Kumagai^[49]等利用 EGC 与含 4~18 个碳原子的直链、支链及含苯基的酰基氯在 THF 中经三氟乙酸催化, 室温下反应 24h, 得到 3-O- 酰基化 EGC 衍生物(图 10 中化合物 19)。活性实验发现引入 8~11 个碳原子的直链或支链酰基化 EGC 对 EBV-EA(巴尔病毒早期抗原)的活性具有明显抑制作用, 而且该衍生物对乳突瘤形成的抑制作用是 EGCG 的 1.3~1.6 倍。

Park 等^[50-51]用 EC 作原料, 先用苄基将酚羟基保护后, 分别在三乙胺(TEA)的催化下直接与各种酰基氯(脂肪酰基、苯甲酰基等)反应得到 3-O- 酰基化儿茶素; 在四丁基碘化铵(TBAI)和氢氧化铯催化下与各种卤代烷反应得到 3-O- 烷基化儿茶素(图 11)。体外实验表明这 2 种化合物的抗癌活性比 ECG 好, 其中烷基链为 8~12 碳时抗癌活性最强($\text{IC}_{50} = 6.4 \sim 31.2 \mu\text{mol/L}$), 并发现引入烷基的抑制活性明显强于酰基。其中 3-O- 癸基表儿茶素抗癌活性最强, 对癌细胞株 PC3、SKOV3、U373MG 的 IC_{50} 分别为 8.9、7.9、 $6.4 \mu\text{mol/L}$ 。随后他们又利用卤代烷在相转移催化剂条件下合成一系列 3-O- 烷基化儿茶素。活性实验发现该衍生物抗菌活性强于儿茶素, 其中 3-O- 癸基儿茶素的活性最强, 革兰氏阴性菌、阳性菌及人体病原真菌的最低抑制浓度(MIC)分别为 0.5~2、32~128mg/mL 和 2~4mg/mL, 可作为一种潜在的抗菌试剂。

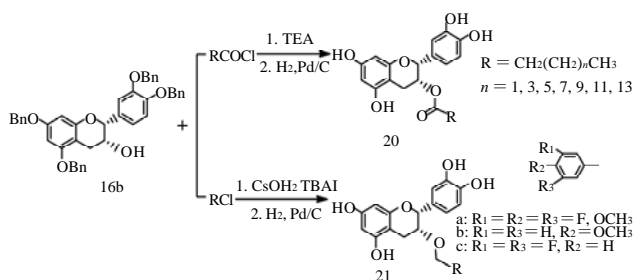


图 11 3-O- 酰基儿茶素(20)和 3-O- 烷基儿茶素(21)的合成

Fig.11 Synthesis of 3-O-acyl-(-)-EC and 3-O-alkyl-(-)-EC

除了酰氯外, 还有用脂肪酸进行修饰的报道。Matsubara 等^[52]使儿茶素在 Et_3N 、DMAP 催化下直接与不同碳链长度的脂肪酸反应得到一系列 3-O- 酰基儿茶素。活性实验发现, 修饰后的儿茶素衍生物能强烈抑制 DNA 聚合酶活性, 并对 HL-60 癌细胞生长、血管新生及人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的单个转导路径具有抑制作用, 其中儿茶素硬脂酸酯活性最强。说明对于提高儿茶素的抗癌活性, 儿茶素的酰化修饰是一种有效的途径。Lin 等^[53]将 EGCG 羟基用叔丁基二甲基氯硅烷(TBDSCI)保护后, 水解后生成 EGC 衍生物, 然后与不同的脂肪酸(饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸)在 DCC、

DMAP 催化下反应 12h, 得到 3-*O*-酰基化 EGC(图 12 中化合物 23)。该衍生物抑制 5α -还原酶的活性随着脂肪酰基碳原子数目的增加而增强, 当脂肪酰基为 16 个碳时其活性最大, IC_{50} 为 $0.53\mu\text{mol/L}$, 约为 EGCG($IC_{50} = 6.29\mu\text{mol/L}$)的 12 倍, 最有效的单不饱和取代酰基为 17 碳烯酰基, IC_{50} 为 $0.48\mu\text{mol/L}$, 体外实验发现其对 PC-3 (前列腺癌细胞)具有一定的抑制活性。

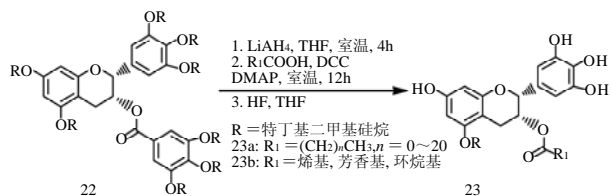


图 12 3-*O*-酰基化 EGC 的合成

Fig.12 Synthesis of 3-*O*-acyl(-)-epigallocatechins

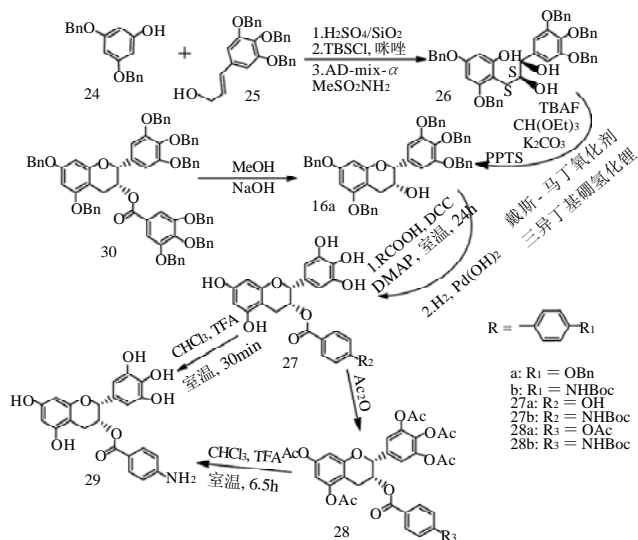


图 13 (2*R*, 3*R*)-EGC-3-*O*-(4-羟基苯甲酸)、3-*O*-(4-氨基苯甲酸)-EGC 及各乙酰化衍生物的合成

Fig.13 Synthesis of (2*R*,3*R*)-EGC-3-*O*-(4-hydroxybenzoate)、3-*O*-(4-aminobenzoate)-EGC and their acetylated derivatives

也有通过间接合成进行修饰的报道。Osanai 等^[54-55]设计了 2 种合成新型儿茶素(2*R*,3*R*)-EGC-3-*O*-(4-羟基苯甲酸)(图 13 中化合物 27a)的方法。方法一是由 3,5-双(苄氧基)苯酚(化合物 24)与 3,4,5-三-(苄氧基)肉桂醇(化合物 25)出发得到该衍生物;方法二是将 EGCG 苄基化后,经水解、酯化得到该衍生物,并进一步得到其乙酰化衍生物。比较了该衍生物及其乙酰化衍生物、EGCG 对蛋白酶体和细胞毒素的抑制作用,结果显示该衍生物对蛋白酶体的抑制能力弱于 EGCG,其乙酰化衍生物与全乙酰化 EGCG 在引导 B 淋巴瘤细胞 Raji 细胞凋亡方面的能力相近。他们还用 EGCG 做原料经由上述第二种方法合成了 EGC-3-*O*-(4-氨基苯甲酸)及其乙酰化衍生物(图 13 中化合物 29 和 28b),并发现其乙酰化衍生物和 EGCG 一样具有

抑制肿瘤细胞蛋白酶体和诱导 B 淋巴瘤细胞 Raji 细胞凋亡的能力。

Roy 等^[56]首次合成了一种新型的嵌合分子。方法是将 EC 或 C 的酚羟基用苄基保护,然后与单环 β -单环内酰胺在“点击化学”条件下经苯三咪连接反应得到该衍生物(图 14 中化合物 33)。研究发现该衍生物对大肠杆菌和核糖核酸酶 A 具有良好的抑制作用,其中衍生物 I (化合物 33a)抑制活性最强。

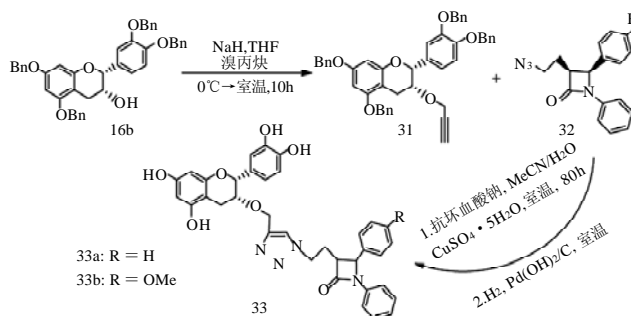


图 14 点击反应

Fig.14 The click reaction

2.4 碳烃化修饰

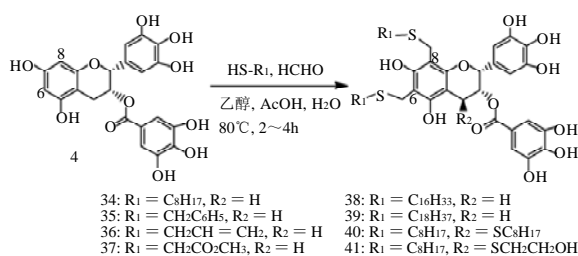


图 15 疏水性儿茶素衍生物的合成

Fig.15 Synthesis of hydrophobic catechin derivatives

Tanaka 等^[57]将 EGCG 与过量的硫醇化物在 80°C 条件下反应 2~4h, 在 C6、C8 上引入烷基, 经 Sephadex LH-20 分离得到一系列衍生物(图 15 中化合物 34~41), 其产率分别为 75%、60%、26%、60%、26%、44%、15% 和 38%。活性实验发现该衍生物(化合物 34、41)对脂质体的过氧化产生的自由基具有较好的清除作用。

Boyer 等^[58]将儿茶素酚羟基用苄基保护,然后溶于 CH_2Cl_2 , 在 DMDO 或 *m*-CPBA、 NaHCO_3 条件下对儿茶素 C6、C8 进行修饰, 得到一系列儿茶素衍生物(图 16 中化合物 51~58)。这种合成方法可用于合成(+)-3',4',5,6,7,8-六羟基-黄烷-3-醇(elephantorrhizol), 其是一种能代替 A 循环的天然黄酮类化合物。

Beauhaire 等^[59]成功地在儿茶素 C8 位上引入苯甲酰基。方法是先在儿茶素 C8 位引入羧基, 然后与三苄基间苯三酚(化合物 61)在 CH_2Cl_2 中经三氟乙酸酐催化, 得

到儿茶素衍生物以及中间产物(图 17), 这些衍生物可用于合成原花青素类化合物。

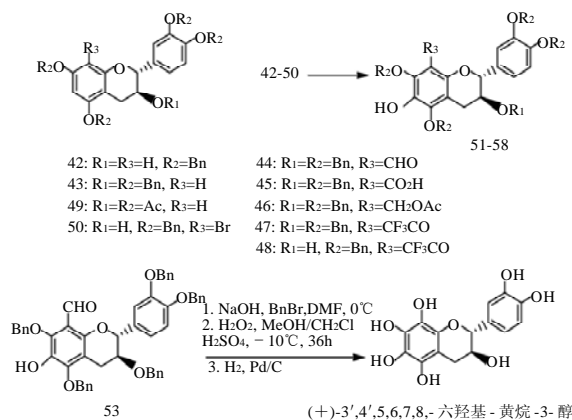


图 16 儿茶素氧化衍生物的合成
Fig.16 Synthesis of oxidated catechin derivatives

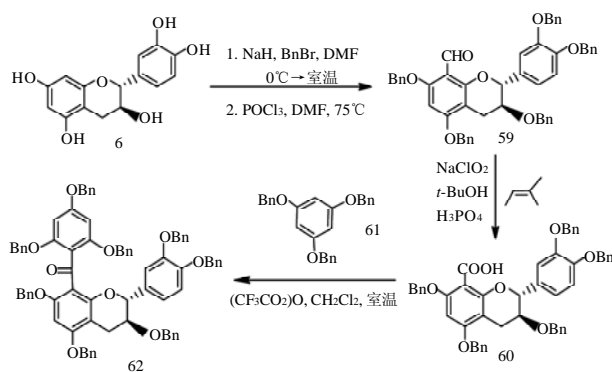


图 17 8-酰基儿茶素衍生物的合成
Fig.17 Synthesis of 8-acetyl-(-)-catechin derivative

Es-Safi 等^[60]用三氟乙酸酐作酰基供体, 将儿茶素酚羟基用苄基保护后, 于 CH₂Cl₂ 中室温下反应, 成功地在儿茶素 C8 位上引入三氟乙酰基(图 18), 并发现在儿茶素 C8 位引入吸电子基——三氟乙酰基对黄烷醇偶联具有强烈影响。

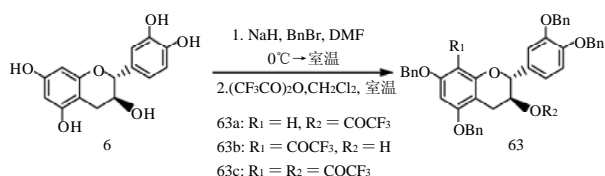


图 18 四苄基三氟乙酰基儿茶素衍生物的合成
Fig.18 Synthesis of tetrabenzylated trifluoroacetylated catechin derivatives

Bernini 等^[61]用甲基将儿茶素酚羟基保护后, 在钯催化剂和生物活性磷(如磷化氢)配体存在的条件下, 经由

Suzuki 交叉耦合在儿茶素 C8 位上引入芳基, 得到 8-芳基儿茶素衍生物(图 19 中化合物 65 和 66)。其最佳反应条件为: Pd₂(dba)₃、Sphos、K₃PO₄、甲苯作溶剂, 产率高达 95%。

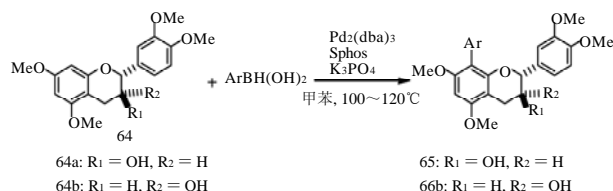


图 19 芳基儿茶素和表儿茶素衍生物的合成
Fig.19 Synthesis of arylated catechin and epicatechin derivatives

Fudouji 等^[62]利用天然的醛、烯丙醇在加热条件下合成疏水性儿茶素衍生物。方法是: C 和 EGCG 分别与反式-2-己烯醛、柠檬醛、香茅醛、香叶醇、叶绿醇在加热(100~500°C)条件下反应, 经分离得到一系列衍生物(图 20 中化合物 67)。经结构鉴定发现不饱和醛被引入到儿茶素 A 环的 C6 或 C8 位上。活性实验显示, 这些儿茶素衍生物在甘油三酸酯中对自由基仍具有较强的清除作用。

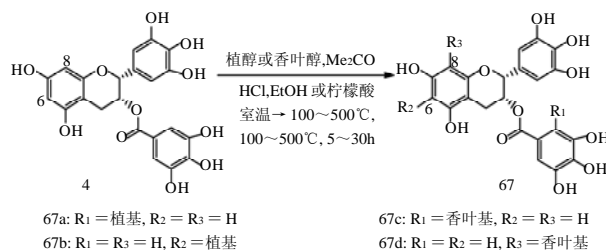


图 20 疏水性儿茶素衍生物的合成
Fig.20 Synthesis of hydrophobic catechin derivatives

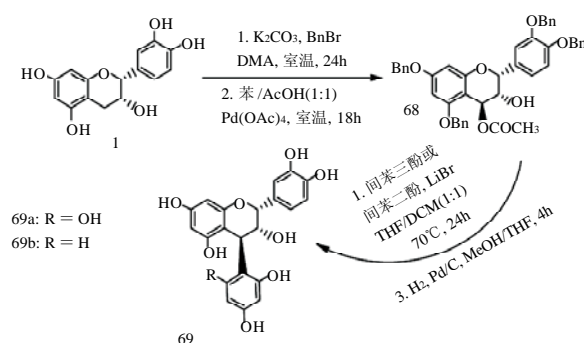


图 21 苯二酚和间苯三酚表儿茶素衍生物的合成
Fig.21 Synthesis of phloroglucinol and resorcinol derivatives of EC

Dutta 等^[63]分别在 EC 和 C 的 C4 位上成功地引入间苯三酚和间苯二酚, 增加了羟基的数量, 得到间苯三酚和间苯二酚儿茶素衍生物(图 21 中化合物 69a 和 69b)。实

验发现其对核糖核酸酶 A 的抑制作用均好于儿茶素,说明酚羟基的数量对抑制核糖核酸酶 A 的活性具有重要影响。而且该衍生物还能抑制血管生长素诱导血管生长。

2.5 其他

Anderson 等^[64]由 2,4,6-三羟基苯甲醛(化合物 70)出发,经 8 步反应合成了两种 B 环修饰的 ECG 衍生物(图 22 中化合物 78 和 84)。活性实验显示,该衍生物对耐甲氧西林葡萄球菌(MRSA)具有抑制作用,效果比 ECG 好。并且当质量浓度为 12.5、25mg/L 时,其与 ECG 一样能显著增强苯唑西林对 MRSA 的抑制作用,但低质量浓度(6.25mg/L)时,效果不如 ECG,这说明 B 环羟基的位置和数量对抗菌活性具有重要影响。

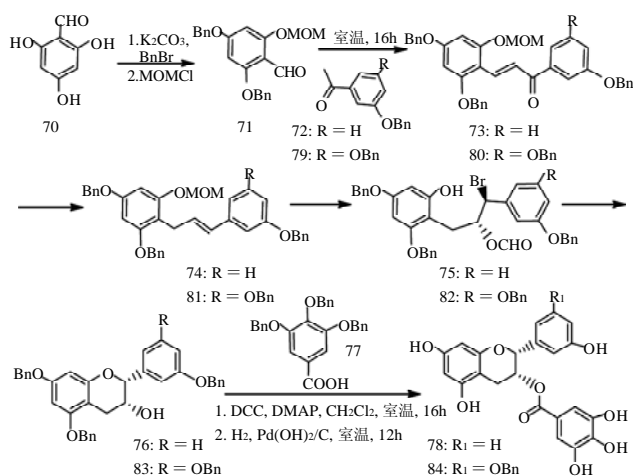


图 22 B 环修饰的 ECG 衍生物的合成

Fig.22 Synthesis of B-ring modified (-)-epicatechingallate derivatives

Furuta 等^[65]由 3,4,5-三苄氧基苯甲醛(化合物 85)出发,得到双脱氧 ECGG 衍生物(图 23 中化合物 90),即脱掉 A 环上酚羟基。活性实验显示,该衍生物对流感病毒 A 具有抑制作用,IC₅₀ 为 11.92 μmol/L,比 ECGG (IC₅₀ = 41.25 μmol/L)提高了 3 倍,这说明 A 环的羟基并不是抗流感病毒 A 的关键。

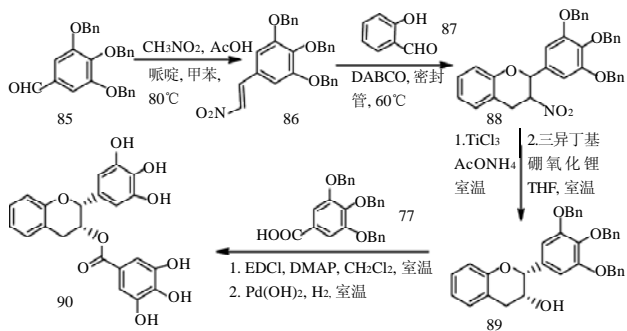


图 23 双脱氧 ECGG 的合成

Fig.23 Synthesis of dideoxy-epigallocatechingallate

Huo Congde 等^[66]合成了 A 环无羟基的 ECGG 衍生物

及其乙酰化衍生物(图 24 中化合物 90、93 和 94)。其由 3,4,5-三苄氧基苯甲酸(化合物 77)和 3,5-三苄氧基苯甲酸(化合物 91)分别与 1,2,3,4-四氢-2,3-萘二醇(化合物 92)反应得到(图 24)。活性实验显示该乙酰化衍生物(化合物 94b)对具有高儿茶酚氧位甲基转移酶活性的人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的增殖具有强烈抑制作用,效果比 ECGG 好,可能由于其不是儿茶酚氧位甲基转移酶的底物,所以活性较高。

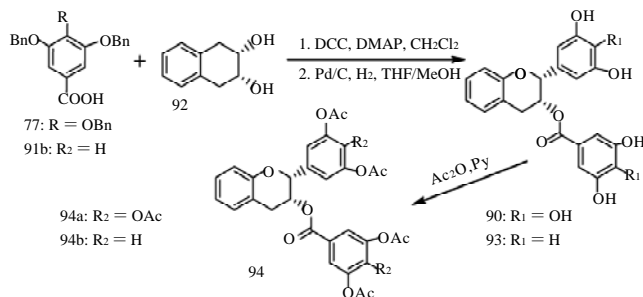


图 24 ECGG 衍生物及其乙酰化衍生物的合成

Fig.24 Synthesis of ECGG derivatives and their acetylated derivatives

综上所述,在儿茶素酚羟基及 C3-OH 上进行酰基酯化修饰都可有效提高儿茶素的抗癌、抗病毒及抗氧化作用,说明酯化修饰是一种提高儿茶素生物活性的有效途径;另外儿茶素经醚化修饰可有效提高其抗过敏活性;而碳上修饰可增强其对自由基的清除能力。这为进一步开发新型儿茶素衍生物提供设计、合成思路。

3 结 语

改性后的儿茶素由于其特殊的生物功效和物理性质在食品、医药、日用化工等领域能得到广泛应用。在食品领域,改性后的儿茶素可作为食用油的抗氧化剂使用。在医药领域,改性后的儿茶素可以治疗过敏反应,也可用于抗菌,防止流行性感冒病毒等。在化妆品行业,改性后儿茶素的抗氧化和修复作用能用于防治皮肤损伤,也能用于提高皮肤的自动调节机能,改善皮肤的外观等。目前,国内对儿茶素衍生物的研究尚处于起步阶段;国外研究较早,部分化合物已进入活性测试阶段,但其合成方法及生理活性仍具有局限性:如儿茶素烷基化选择性差、产率低及衍生物生理活性有限等。因此活性更强的儿茶素衍生物及其合成方法有待进一步探索。

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] CHUNG F L, SCHWARTZ J, HERZOG C R, et al. Tea and cancer prevention: studies in animals and humans[J]. Journal of Nutrition, 2003, 133(10): 3268-3274.
- [3] HASEGAWA N, YAMDA N, MORI M. Powdered green tea has

- antilipopenic effect on Zucker rats fed a high-fat diet[J]. *Phytother Res*, 2003, 17(5): 477-480.
- [4] NEGISHI H, XU J W, IKEDA K. Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats[J]. *Journal of Nutrition*, 2004, 134(1): 38-42.
- [5] KATIYAR S K. Skin photoprotection by green tea: antioxidant and immunomodulations effects[J]. *Current Drug Targets*, 2003, 3(3): 234-242.
- [6] ZHENG G, SAYAMA K, OKUBO T, et al. Anti-obesity effects of three major components of green tea, catechins, caffeine and theanine in mice [J]. *In Vivo*, 2004, 18(1): 55-62.
- [7] CABRERA C, ARTACHO R, GIMÉNEZ R, et al. Beneficial effects of green tea: a review[J]. *Journal of the American College of Nutrition*, 2006, 25(2): 79-99.
- [8] 唐传核. 植物功能性食品[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 324-364.
- [9] LAMBERT J D, LEE M J, LU H, et al. Epigallocatechin-3-gallate is absorbed but extensively glucuronidated following oral administration to mice[J]. *J Nutr*, 2003, 133(12): 4172-4177.
- [10] LEE M J, MALIAKAL P, CHEN L, et al. Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and (–)-epigallocatechin-3-gallate by humans: formation of different metabolites and individual variability [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2002, 10(1): 1025-1032.
- [11] HENNING S M, NIU Y, LEE N H, et al. Bioavailability and antioxidant activity of tea flavanols after consumption of green tea, black tea, or a green tea extract supplement[J]. *Am J Clin Nutr*, 2004, 80(6): 1558-1564.
- [12] 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.
- [13] 杨贤强, 王岳飞, 陈留记, 等. 茶多酚化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 454-455.
- [14] KOIZUMI M, AKAO T, IMAMURA L, et al. Enzymic sulfation of isoamyl gallate and (–)-epigallocatechin gallate by bacterial arylsulfotransferase[J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1992, 40(7): 1864-1867.
- [15] SAKAI M, SUZUKI M, NANJO F, et al. 3-*O*-Acylated catechins and method of producing same: Japan, EP19940104887[P]. 1994-10-05.
- [16] PATTI A, PIATTELLI M, NICOLOSI G. Use of *Mucor miehei* lipase in the preparation of long chain 3-*O*-acylcatechins[J]. *J Mol Catal B: Enzym*, 2000, 10(6): 577-582.
- [17] MORI S, MIYAKE S, KOBE T, et al. Enhanced 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.
- [18] 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*, 2003, 30(4): 422-425.
- [19] 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.
- [20] 陈平. 抗氧化剂的 EGCG 脂肪酸酯及其制备方法: 中国, CN0311 6200.2[P]. 2005-07-13.
- [21] KAIHATSU K, MORI S, MATSUMURA H, et al. Broad and potent anti-influenza virus spectrum of epigallocatechin-3-*O*-gallate-mono palmitate[J]. *Journal of Molecular and Genetic Medicine*, 2009, 3(2): 195-197.
- [22] CHEN Ping, DOUGLAS D, HSU S. Lipid-soluble green tea polyphenols: stabilized for effective formulation[J]. *Handbook of Green Tea and Health Research*, 2009, 4: 45-61.
- [23] 张新强. 茶多酚的制备、化学改性和脂溶性茶多酚抗氧化性能评价 [D]. 西安: 西北大学, 2004.
- [24] 旷英姿, 马全红, 顾宁. 脂溶性茶多酚的制备与表征[J]. *食品科技*, 2005(7): 53-56.
- [25] 卢聪聪, 邵卫梁, 杭晓敏, 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.
- [26] 张健希, 胡静波, 张玉军, 等. 茶多酚改性及其抗氧化性能的研究[J]. *粮食与食品工业*, 2008, 15(2): 33-37.
- [27] 刘晓辉, 江和源, 张建勇, 等. 儿茶素酰基化修饰研究进展[J]. *茶叶科学*, 2009, 29(10): 1-8.
- [28] FERREIRA D, MARAIS J P, SLADE D. Heterogeneity of the interflavanyl bond in proanthocyanidins from natural sources lacking C-4(C-ring)deoxy flavonoid nucleophiles[J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(18): 2216-2237.
- [29] SAITO A, MIZUSHINA Y, IKAWA H, et al. Systematic synthesis of galloyl-substituted procyanidin B1 and B2, and their ability of DPPH radical scavenging activity and inhibitory activity of DNA polymerases [J]. *Bioorg & Med Chem*, 2005, 13(8): 2759-2771.
- [30] 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.
- [31] KUHN D J, LAM W H, KAZI A, et al. Synthetic peracetate tea polyphenols as potent proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human cancer cells[J]. *Front Biosci*, 2005, 10(2): 1010-1023.
- [32] LANDIS-PIWOWAR K R, KUHN D J, WAN S B, et al. Evaluation of proteasome-inhibitory and apoptosis-inducing potencies of novel (–)-EGCG analogs and their prodrugs[J]. *Int J Mol Med*, 2005, 15(4): 735-742.
- [33] CHAN T H, LAM W H, CHOW L M, et al. Preparation of (–)-epigallocatechin gallate derivatives for use in pharmaceutical compositions as proteasome inhibitors to reduce tumor cell growth: PCT, WO2006017981[P]. 2006-02-23.
- [34] CHAN T H, LAM W H, CHEUNG L M, et al. Preparation of (–)-epigallocatechin gallate derivatives for inhibiting proteasome: U.S.A, US7544816B2[P]. 2009-06-09.
- [35] 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.
- [36] 刘屏, 穆丽华, 韩亚亮, 等. 鸡血藤活性化合物儿茶素结构修饰及辐射作用研究[J]. *解放军药学报*, 2007, 23(5): 321-324.
- [37] 江和源. 表没食子儿茶素没食子酸酯乙酰化物的制备方法: 中国, CN200610154972.1[P]. 2008-06-04.
- [38] 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.
- [39] 刘晓辉. 乙酰化 EGCG 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.
- [40] MUSTAFA J, KHAN S I, FERREIRA D, et al. Synthesis, spectroscopic and anti-tumor studies of polyphenol- linoleates derived from natural polyphenols[J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2007, 109(6): 552-559.
- [41] 李银花, 李娟, 龚雪, 等. 茶叶中甲基化 EGCG 的研究进展[J]. *中国茶叶*, 2010(8): 12-13.
- [42] MIYASE T, SANO M. Preparation of catechin derivatives with increased stability: Japan, JP2001253879[P]. 2001-09-18.
- [43] YANASE 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 & Medicine*, 2005, 6(1): 34-37.
- [44] 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.

- [45] 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.
- [46] WAN S B, DOUB P, CHAN T H, et al. Regiospecific and enantioselective synthesis of methylated metabolites of tea catechins[J]. Tetrahedron, 2006, 62(25): 5897-5904.
- [47] 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.
- [48] UESATO S, KITAGAWA Y, HARA Y, et al. Antitumor promoting activities of 3-O-acyl-($-$)-epigallocatechins[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2000, 10(15): 1673-1675.
- [49] KUMAGAI A, NAQAOKA Y, OBAYASHI T, et al. Tumor chemopreventive activity of 3-O-acylated ($-$)-epigallocatechins[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2003, 11(23): 5143-5148.
- [50] PARK K D, LEE S G, KIN S U, et al. Anticancer activity of 3-O-acyl and alkyl ($-$)-epicatechin derivatives[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2004, 14(20): 5189-5192.
- [51] PARK K D, CHO S J. Synthesis and antimicrobial activities of 3-O-alkyl analogues of ($-$)-catechin: improvement of stability and proposed action mechanism[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2010, 45(3): 1028-1033.
- [52] MATSUBARA K, SAITO A, TANAKA A, et al. Catechin conjugated with fatty acid inhibits DNA polymerase and angiogenesis[J]. DNA Cell Biol, 2006, 25(2): 95-103.
- [53] 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.
- [54] OSANAI K, HUO C, DOU Q P, et al. Synthesis of (2R, 3R)-epigallocatechin-3-O-(4-hydroxybenzoate), a novel catechin from *Cistus salvifolius*, and evaluation of its proteasome inhibitory activities[J]. Tetrahedron, 2007, 63(32): 7565-7570.
- [55] 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(15): 5076-5082.
- [56] ROY B, CHAKRABORTY A, GHOSH S K, et al. Design, synthesis and bioactivity of catechin/epicatechin and 2-azetidinone derived chimeric molecules[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009, 19(24): 7007-7010.
- [57] TANANKA T, KUSANO R, KOUNO I. Synthesis and antioxidant activity of novel amphipathic derivatives of tea polyphenol[J]. Bioorg Med Chem Lett, 1998, 8(14): 1801-1806.
- [58] BOYER F D, Es-SAFI N E, BEAUHAIRE J, et al. Synthesis of modified proanthocyanidins: easy and general introduction of a hydroxy group at C-6 of catechin; efficient synthesis of elephantorrhizol[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2005, 15(3): 563-566.
- [59] BEAUHAIRE J, Es-SAFI N E, BOYER F D, et al. Synthesis of modified proanthocyanidins: introduction of acyl substituents at C-8 of catechin. Selective synthesis of a C-4 \rightarrow O-C-3 ether-linked procyanidin-like dimer[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2005, 15(3): 559-562.
- [60] Es-SAFI N E, GUEMEVE C L, KERHOAS L, et al. Influence of an 8-trifluoroacetyl group on flavanol couplings[J]. Tetrahedron, 2006, 62(11): 2705-2714.
- [61] BERNINI R, CACCHI S, SALVE I D, et al. Synthesis of 8-arylated catechin and epicatechin derivatives via Suzuki cross-coupling[J]. Tetrahedron Letters, 2007, 48(29): 4973-4976.
- [62] FUDOUJI R, TANAKA T, TAGURI T, et al. Coupling reactions of catechins with natural aldehydes and allyl alcohols and radical scavenging activities of the triglyceride-soluble products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(14): 6417-6424.
- [63] DUTTA S, BASAK A, DASGUPTA S. Synthesis and ribonuclease A inhibition activity of resorcinol and phloroglucinol derivatives of catechin and epicatechin: importance of hydroxyl groups[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2010, 18(17): 6538-6546.
- [64] ANDERSON J C, HEADLEY C, STAPLETON P D, et al. Asymmetric total synthesis of B-ring modified ($-$)-epicatechin gallate analogues and their modulation of β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus*[J]. Tetrahedron, 2005, 61(32): 7703-7711.
- [65] 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]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007, 17(11): 3095-3098.
- [66] HUO Congde, YANG Huanjie, CUI Qiuzhi C, et al. Proteasome inhibition in human breast cancer cells with high catechol-O-methyltransferase activity by green tea polyphenol EGCG analogs[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2010, 18(3): 1252-1258.