

· 综 述 ·

表没食子儿茶素没食子酸酯抗氧化作用机制的研究进展

刘婷婷¹, 孟馨^{2*}

1. 中国医科大学附属第一医院 老年心血管内科, 辽宁 沈阳 110022

2. 中国医科大学附属第一医院 内分泌科, 辽宁 沈阳 110022

摘要: 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是绿茶中的主要儿茶素,大量研究表明绿茶在治疗严重慢性疾病如心血管病、神经退行性病变、肿瘤、代谢综合征、2型糖尿病等方面发挥了积极的生物学作用。绿茶的这种保护性作用主要归因于EGCG强有力的抗氧化活性。EGCG的抗氧化作用机制主要包括清除自由基、金属螯合、抑制细胞信号转导通路、调节氧化和抗氧化酶系等。综述了其抗氧化机制的研究进展,以期为临床应用及开发相同或相似机制的药物提供理论依据。

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯; 抗氧化; 作用机制; 研究进展

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2016)06-0919-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.06.044

Research progress on anti-oxidative mechanism of epigallocatechin gallate

LIU Ting-ting¹, MENG Xin²

1. Department of Elderly Cardiovascular Internal Medicine, The First Hospital of China Medical University, Shenyang 110022, China

2. Department of Endocrinology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110022, China

Abstract: Epigallocatechin gallate (EGCG) is the main catechin in green tea. A large number of researches have revealed that green tea demonstrates a wide range of positive biological activities against serious chronic diseases, such as cardiovascular disease, neurodegenerative disorders, cancer, metabolic syndrome, and type 2 diabetes. These protective properties can be traced back to the potent antioxidant activities of EGCG. Recent studies have suggested that EGCG may exert its anti-oxidant effects by scavenging free radicals, metal chelation, inhibition of transcription factor activation, and adjusting the oxidation and anti-oxidant enzyme system, etc. This paper summarizes the research progress on anti-oxidative mechanism of EGCG, in order to provide reference for exploiting drugs with same or similar mechanism of EGCG for clinical application.

Key words: epigallocatechin gallate; antioxidant; mechanism of action; research progress

生物分子的氧化应激损伤被认为与许多慢性疾病的病理过程相关,如心血管疾病、肿瘤和神经系统退行性疾病。而近年来,许多证据表明茶尤其是其中富含的茶多酚具有抗氧化作用^[1],而表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)被认为是茶多酚中氧化的主要生物活性物质^[2]。研究表明,EGCG具有特殊的分子结构,可提供相关中子或质子与自由基进行反应直接清除自由基,并通过结合金属离子螯合剂、调节氧化和抗氧化酶系间接清除自由基达到抗氧化目的。另外,许多细胞信号转导途径如

NF- κ B途径、激活蛋白-1(AP-1)途径等被认为与氧化应激损伤相关,EGCG可通过抑制上述两种途径达到抗氧化目的。总之,EGCG的抗氧化作用机制非常复杂,本文主要从清除自由基、金属螯合、抑制细胞信号转导通路、调节氧化和抗氧化酶系等方面对EGCG抗氧化作用机制的研究进展进行综述。

1 直接清除自由基

自由基是外层电子轨道上含有单个不配对电子的原子、原子团和分子的总称,化学性质极其活泼,易于失去电子或夺取电子,特别是氧化作用强,具

收稿日期: 2016-03-24

作者简介: 刘婷婷,女,辽宁人,住院医师,硕士。E-mail: 405838061@qq.com

*通信作者 孟馨,女,辽宁人,教授,博士,硕士研究生导师,主要研究方向为糖尿病大血管并发症。E-mail: mengxin72@126.com

有强烈的引发脂质过氧化作用。自由基清除剂的能力在一定程度上与单电子还原电势大小有关,同时单电子还原电势也是衡量抗氧化剂作为供氢或供电子体活性大小的标准^[3],较低的还原电势表明抗氧化剂作为供氢或供电子体时需要的能量也较低。茶多酚被证实是有效的自由基清除剂,其中 EGCG 的还原电势较低,抗氧化能力较强^[4]。抗氧化剂的有效性还取决于其与自由基反应的速度及自身被氧化形成的抗氧化自由基的稳定性,茶多酚与羟基自由基、超氧阴离子和叠氮化自由基的反应活性高于黄酮醇类^[5]。

利用电子自旋共振技术发现茶多酚能够有效清除单线态氧、羟基自由基,超氧阴离子和过氧化氢自由基^[6-8],而大多数研究提示 EGCG 活性更强。EGCG 在清除稳定自由基如甲基丙烯酸乙酯磺酸钠(ATBS)自由基正离子方面也显示出了较强的活性^[4]。

许多慢性疾病的病理过程是慢性炎症反应,一氧化氮自由基与超氧阴离子反应生成的过氧亚硝基是一种具有细胞毒性的氧化剂,能够改变蛋白质的功能,导致慢性炎症反应^[9],EGCG 能够有效地清除一氧化氮自由基、超氧阴离子和过氧亚硝基。

多酚类物质清除自由基的确切机制尚未明确,但其分子结构中的电子离域可能与多酚复合物的抗氧化活性相关^[10]。所有多酚类物质的 B 环中至少存在 1 个邻二羟基参与电子离域及自由基的稳定^[11]。EGCG 作为电子供体及自由基清除剂的活性高于其他多酚类物质,因为其 B 环结构中含有三羟基(3',4',5'-三羟基),并且在 C 环含有没食子酸酯基^[3-4]。

2 金属螯合作用

儿茶素的抗氧化活性也由于其具有螯合金属离子的能力。金属的体内平衡障碍导致氧化应激的产生,进一步导致许多慢性疾病如糖尿病、心血管疾病和动脉粥样硬化^[12]。研究显示 EGCG 可以螯合金属如铁(Fe)^[13]、铜(Cu)^[14-15]、铬(Cr)^[16]和镉(Cd)^[17-18]。B 环中的酚基主要与此金属螯合作用有关^[11]。目前认为 EGCG 的金属螯合作用在抗氧化机制中的地位仅次于自由基清除作用^[18-19]。茶多酚 B 环结构中的三羟基可能是其金属结合部位^[20]。然而也有研究显示儿茶素中的没食子酸酯基也是金属的结合部位^[21],并且在 2,2'-偶氮双(2,4-二甲基戊腈)诱导的脂质过氧化反应中,结合 Cu^{2+} 能够提高 EGCG 的抗氧化活性,而结合 Fe^{2+} 则抑制其抗氧化活性。

3 抑制细胞信号转导通路

研究发现 EGCG 发挥抗氧化作用的机制与细胞内信号转导通路相关,大量的体内及体外实验表明,EGCG 可调控多种细胞信号转导通路,其中与抗氧化作用机制相关的主要有以下两种。

3.1 NF- κ B 途径

NF- κ B 是重要的核转录因子,在许多外界刺激介导的细胞信息的转录调控中起重要作用,参与多种基因的表达和调控。在未受刺激时,NF- κ B 以其抑制蛋白 IKB 结合的形式存在于细胞质内,多种刺激因素如紫外线、炎症因子、内毒素等都可以使 IKB 被 IKB 激酶降解,从而释放和激活 NF- κ B,激活的 NF- κ B 进入细胞核,与 DNA 结合,诱导特异 mRNA 产生,最后转录产生和释放各种细胞因子。许多刺激因素激活 NF- κ B 的同时能诱导氧化应激,一些证据表明活性氧(ROS)可以激活 NF- κ B,而一些抗氧化剂能够抑制 NF- κ B 的活化^[22]。

研究证明,绿茶中的儿茶素尤其是 EGCG 能够抑制 ROS 的产生,达到抗氧化目的,并能抑制 NF- κ B 的活化。EGCG 能够抑制 IKB 的磷酸化,阻止 NF- κ B 转位至细胞核与 DNA 结合^[23-24],并且在绿茶儿茶素中 EGCG 是最有效的 IKB 激酶抑制剂^[25]。

3.2 AP-1 途径

AP-1 是近年来发现的重要的核转录因子,能够诱导炎症因子释放,引起血管内皮细胞损伤^[26],导致动脉粥样硬化、高血压等疾病,有研究显示,AP-1 在老年高血压患者中升高^[27],这可能与氧化应激相关^[28]。AP-1 作为 Jun/Fos 二聚体家族而存在,包含多种 Jun 蛋白(c-Jun、Jun B 和 Jun D)和 Fos 蛋白(c-Fos、Fos B、Fra-1、Fra-2 和 Fos B2)。AP-1 的活化通过 3 种丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径实现,包括细胞外信号调节蛋白激酶(Erk)、c-Jun 氨基末端激酶/应激活化蛋白激酶(JNKs/SAPKs)和 p38 激酶^[29]。中波紫外线光谱与年龄相关的黄斑退行性改变(AMD)相关,而视网膜色素上皮 ARPE19 细胞的氧化损伤也在 AMD 的发病过程中起关键作用。中波紫外线光谱辐射能够增加 ARPE19 细胞中的 ROS,诱导 ARPE19 细胞凋亡并抑制细胞中 JNK 的磷酸化水平。应用 EGCG 处理后,ARPE19 细胞凋亡数目减少,细胞中的 ROS 水平降低,而且 JNK 的磷酸化水平增强^[30]。JNK 信号通路参与了抗氧化过程,EGCG 衰减中波紫外线光谱辐射诱导的细胞凋亡与其阻断紫外线辐射对 JNK 磷酸化的抑制作

用有关。在皮肤细胞中, EGCG 通过抑制 JNK 和 Erks 激酶来抑制 AP-1 的活性^[31]。

4 调节氧化和抗氧化酶系

生物体内的自由基处于生物生成和生物防护体系的平衡之中, 这种平衡由氧化和抗氧化酶调控。

4.1 抑制氧化酶

一氧化氮自由基是短暂存活的自由基, 在一氧化氮合酶 (NOS) 作用下由 *L*-精氨酸合成, 作为信号分子参与病理生理过程。诱生型一氧化氮合酶 (iNOS) 在许多细胞中被发现, 如巨噬细胞。这些细胞在受到内毒素或细胞因子的刺激后诱导 iNOS 的表达, 产生大量的一氧化氮自由基, 这些一氧化氮自由基又迅速与超氧阴离子反应生成过氧亚硝基及其他氧化剂, 最终导致 DNA 及蛋白质损伤^[32]。EGCG 能够抑制巨噬细胞内内毒素诱导的 iNOS 的基因表达及 iNOS 激酶的活性^[33-37]。

脂氧合酶和环氧合酶是前列腺素合成的关键限速酶, 能够催化花生四烯酸生成前列腺素和白三烯等, 能够增加组织内的氧化应激损伤, EGCG 能够抑制这两种酶的活性。茶多酚抑制环氧合酶和脂氧合酶活性的确切机制尚不明确, 但有研究显示可能是通过 NF- κ B 途径实现^[32]。

黄嘌呤氧化酶催化次黄嘌呤转变为黄嘌呤, 进而催化黄嘌呤转变为尿酸, 在这两步反应中都同时以分子氧为电子受体产生大量的超氧阴离子、过氧化氢和羟基等自由基及 ROS。茶多酚被发现能够抑制黄嘌呤氧化酶活性, 而以 EGCG 的抑制效应最强^[38]。

4.2 激活抗氧化酶系

抗氧化酶系如谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX)、过氧化氢酶 (CAT) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 的激活间接参与了 EGCG 的抗氧化机制^[39]。经 EGCG 预处理后可提高肾组织内 GPX、CAT、SOD 的活性, 减轻氧化应激所致的缺血再灌注损伤^[40]。

5 结语

EGCG 通过清除自由基、金属螯合、抑制细胞信号转导通路、参与氧化和抗氧化酶体系来发挥强大的抗氧化作用。近年来越来越多的研究表明氧化应激损伤与衰老、肿瘤、糖尿病、动脉粥样硬化等疾病密切相关, 因此 EGCG 作为一种天然的抗氧化剂应该被进一步开发, 并投入临床应用, 力求达到与动物实验一样的预期效果。对 EGCG 抗氧化机制的研究将有利于发现或制备出相同或相似机制的药物投入临床应用, 为疾病的治疗开辟新的途径。

参考文献

- [1] 沈 玫, 胡江滨, 闫 超. 绿茶中茶多酚的分析方法研究进展 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(5): 389-393.
- [2] 王苗苗, 韩 杰, 姜海燕. 表没食子儿茶素没食子酸酯对心脑血管缺血再灌注损伤保护作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(18): 2732-2736.
- [3] Higdon J V, Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2003, 43(1): 89-143.
- [4] Rice-Evans C. Implications of the mechanisms of action of tea polyphenols as antioxidants *in vitro* for chemoprevention in humans [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1999, 220(4): 262-266.
- [5] Bors W, Michel C. Antioxidant capacity of flavanols and gallate esters: pulse radiolysis studies [J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 27(11/12): 1413-1426.
- [6] Nanjo F, Mori M, Goto K, *et al.* Radical scavenging activity of tea catechins and their related compounds [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1999, 63(9): 1621-1623.
- [7] Guo Q, Zhao B, Shen S, *et al.* ESR study on the structure-antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1427(1): 13-23.
- [8] Zhao B, Guo Q, Xin W. Free radical scavenging by green tea polyphenols [J]. *Methods Enzymol*, 2001, 335: 217-231.
- [9] Koppenol W H, Moreno J J, Pryor W A, *et al.* Peroxynitrite, a cloaked oxidant formed by nitric oxide and superoxide [J]. *Chem Res Toxicol*, 1992, 5(6): 834-842.
- [10] Rice-Evans C, Leake D, Bruckdorfer K R, *et al.* Practical approaches to low density lipoprotein oxidation: whys, wherefores and pitfalls [J]. *Free Radic Res*, 1996, 25(4): 285-311.
- [11] Rice-Evans C A, Miller N J, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids [J]. *Free Radic Biol Med*, 1996, 20(7): 933-956.
- [12] Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease [J]. *Toxicology*, 2011, 283(2/3): 65-87.
- [13] Mandel S A, Amit T, Kalfon L, *et al.* Cell signaling pathways and iron chelation in the neurorestorative activity of green tea polyphenols: special reference to epigallocatechin gallate (EGCG) [J]. *J Alzheimers Dis*,

- 2008, 15(2): 211-222.
- [14] Hyung S J, De Toma A S, Brender J R, *et al.* Insights into anti-amyloidogenic properties of the green tea extract (-)-epigallocatechin-3-gallate toward metal-associated amyloid-species [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(10): 3743-3748.
- [15] Pirker K F, Baratto M C, Basosi R, *et al.* Influence of pH on the speciation of copper(II) in reactions with the green tea polyphenols, epigallocatechin gallate and gallic acid [J]. *J Inorg Biochem*, 2012, 112: 10-16.
- [16] Wu F, Sun H, Kluz T, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) protects against chromate-induced toxicity *in vitro* [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 258(2): 166-175.
- [17] Abib R T, Peres K C, Barbosa A M, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate protects rat brain mitochondria against cadmium-induced damage [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(10): 2618-2623.
- [18] An Z, Qi Y, Huang D, *et al.* EGCG inhibits Cd(2+)-induced apoptosis through scavenging ROS rather than chelating Cd(2+) in HL-7702 cells [J]. *Toxicol Mech Methods*, 2014, 24(4): 259-267.
- [19] Morel I, Lescoat G, Cillard P, *et al.* Role of flavonoids and iron chelation in antioxidant action [J]. *Methods Enzymol*, 1994, 234, 437-443.
- [20] Hider R C, Liu Z D, Khodr H H. Metal chelation of polyphenols [J]. *Methods Enzymol*, 2001, 335: 190-203.
- [21] Kumamoto M, Sonda T, Nagayama K, *et al.* Effects of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2001, 65(1): 126-132.
- [22] Aruoma O I, Grootveld M, Bahorun T, *et al.* Free radicals in biology and medicine: from inflammation to biotechnology [J]. *Biofactors*, 2006, 27(1/4): 1-3.
- [23] Pan M H, Lin-Shiau S Y, Ho C T, *et al.* Suppression of lipopolysaccharide-induced nuclear factor-kappa B activity by theaflavin-3,3'-digallate from black tea and other polyphenols through down-regulation of IkappaB kinase activity in macrophages [J]. *Biochem Pharmacol*, 2000, 59(4): 357-367.
- [24] Nomura M, Ma W, Chen N, *et al.* Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced NF-kappa B activation by tea polyphenols, (-)-epigallocatechin gallate and theaflavins [J]. *Carcinogenesis*, 2000, 21(10): 1885-1890.
- [25] Yang F, Oz H S, Barve S, *et al.* The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate blocks nuclear factor-kappa B activation by inhibiting I kappa B kinase activity in the intestinal epithelial cell line IEC-6 [J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 60(3): 528-533.
- [26] Humar M, Loop T, Schmidt R, *et al.* The mitogen-activated protein kinase p38 regulates activator protein-1 by direct phosphorylation of c-Jun [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(12): 2278-2288.
- [27] 刘群威, 周胜华, 沈向前, 等. 氧化应激、激活蛋白1与老年高血压患者动脉弹性改变的关系及奥美沙坦干预的影响 [J]. *中华高血压杂志*, 2015, 23(10): 982-986.
- [28] Wu Z L, Wang Y C, Zhou Q, *et al.* Oxidized LDL induces transcription factor activator protein-1 in rat mesangial cells [J]. *Cell Biochem Funct*, 2003, 21(3): 249-256.
- [29] Nomura M, Ma W Y, Huang C, *et al.* Inhibition of ultraviolet B-induced AP-1 activation by theaflavins from black tea [J]. *Mol Carcinog*, 2000, 28(3): 148-155.
- [30] Cao G, Chen M, Song Q, *et al.* EGCG protects against UVB-induced apoptosis via oxidative stress and the JNK1/c-Jun pathway in ARPE19 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 5(1): 54-59.
- [31] Katiyar S K, Afaq F, Azizuddin K, *et al.* Inhibition of UVB-induced oxidative stress-mediated phosphorylation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways in cultured human epidermal keratinocytes by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2001, 176(2): 110-117.
- [32] Surh Y J, Chun K S, Cha H H, *et al.* Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-kappa B activation [J]. *Mutat Res*, 2001, 480/481: 243-268.
- [33] Paquay J B, Haenen G R, Stender G, *et al.* Protection against nitric oxide toxicity by tea [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(11): 5768-5772.
- [34] Chan M M, Fong D, Ho C T, *et al.* Inhibition of inducible nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity by epigallocatechin gallate, a natural product from green tea [J]. *Biochem Pharmacol*, 1997, 54(12): 1281-1286.
- [35] Lin Y L, Lin J K. (-)-Epigallocatechin-3-gallate blocks the induction of nitric oxide synthase by down-regulating lipopolysaccharide-induced activity of transcription factor nuclear factor-kappaB [J]. *Mol Pharmacol*, 1997, 52(3):

- 465-472.
- [36] Lin Y L, Tsai S H, Lin-Shiau S Y, *et al.* Theaflavin-3,3'-digallate from black tea blocks the nitric oxide synthase by down-regulating the activation of NF-kappaB in macrophages [J]. *Eur J Pharmacol*, 1999, 367(2/3): 379-388.
- [37] Sarkar A, Bhaduri A. Black tea is a powerful chemopreventor of reactive oxygen and nitrogen species: comparison with its individual catechin constituents and green tea [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 284(1): 173-178.
- [38] Aucamp J, Gaspar A, Hara Y, *et al.* Inhibition of xanthine oxidase by catechins from tea [J]. *Anticancer Res*, 1997, 17(6D): 4381-4385.
- [39] 孙若思, 梁惠, 孙藜玮, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯抑瘤活性及抗氧化作用研究 [J]. *滨州医学院学报*, 2014, 37(2): 84-86.
- [40] 刘洪国. EGCG 对肾缺血再灌注损伤的保护作用及其作用机制的研究 [J]. *茶叶科学*, 2016, 36(2): 169-174.