

茶色素抗菌抗病毒作用的研究进展

湖南医科大学茶与健康研究室(长沙 410078)

曹 进*

摘 要 概述了近年来国内外对茶色素抗微生物作用的研究进展。茶色素在抑制致龋、致牙周病细菌、消化道病原菌以及皮肤真菌和抗病毒,尤其是抗艾滋病等方面,显示了良好的药理作用。

关键词 茶色素 微生物 细菌 病毒

传统的观点认为,茶中的主要活性成分是绿茶中的多酚类化合物。绿茶多酚类化合物在抗癌、抗口腔常见病等研究中也表现了很强的生物活性^[1,2]。因此,在历来的相关研究中,人们大多使用绿茶,尤其是绿茶多酚类化合物作为保健、药理作用研究的实验材料。近年来,随着茶与人类健康研究日益成为国际间的热门课题,红茶多酚,即茶色素的药理作用研究开始为人们所关注。1995年,一项由世界粮农组织(FAO)发起,由英国、美国、

加拿大专家组成的指导委员会,在美国几所大学展开的研究项目——红茶对人体健康作用的研究正式启动^[3]。同时,国际上对茶色素抗菌、抗病毒作用的研究有了令人瞩目的进展。然而,我们至今未见国内外有关该领域的研究进展综述。我国是世界红茶主要生产国之一,除中国外,世界饮茶人口的90%以上是传统的红茶饮用者。所以,开展茶色素对人体健康研究有着十分重要的意义。

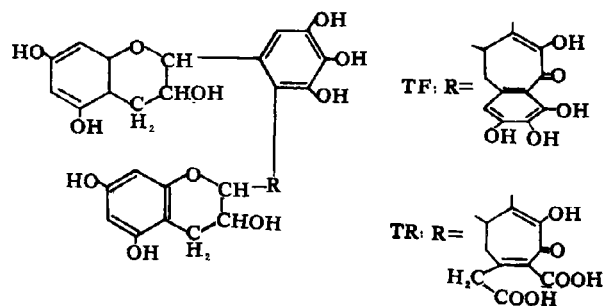


图1 茶黄素和茶红素的分子结构

1 茶色素的化学结构

茶色素是茶叶中的多酚类化合物在酶促氧化或非酶性氧化作用下衍生的聚合物^[4]。这个在国际上尚无统一名称的物质,在国外称之为红茶多酚(black tea polyphenols),我国多称之为茶色素(tea pigment)或红茶色素(black tea pigment)。红茶制造过程中的发酵工艺使茶叶中的多酚类大量氧化,衍生成茶色素。也可通过酶性或非酶性的氧化作用

将绿茶中多酚类物质转化为茶色素。已知茶色素的初级氧化产物为茶黄素(theaflavin, TF)。目前已从TF中分离出3种单体,分别为TF的单没食子酸酯A(TF₂A)、B(TF₂B)以及TF双没食子酸酯(TF₃)。TF进一步氧化生成茶红素(thearubigin, TR), TF和TR的分子结构如图1。

TR是一类多种成分的化合物,既包括有儿茶素在酶促氧化下的产物,也有儿茶素及其聚合物与蛋白质氨基酸和糖类之间的非酶性氧化作用的产物。TR的化学,虽然国内外有不少研究,但了解还不够,如茶色素的实际组成和结构特点等。有的TR能进一步氧化并与其他化合物发生聚合和缩合,形成结构未明的暗褐色复合物。这类复合物被称为茶褐素(theabrown),国外称为高聚化合物(theafulvin),经红外光谱测定

* Address: Cao Jin, Tea and Health Laboratory, Hunan University of Medical Sciences, Changsha

曹进男,助理研究员,湖南医科大学茶与健康研究室主任,从事茶与人类健康研究10余年。在国内外已发表论文56篇,1992年应邀赴日本世界茶科学大会、东京齿科大学作茶抗龋研究的学术报告。1993年,以中国氟研究协会茶与健康研究协作组组长身份在国际氟化物协会年会上宣读论文。1995年,应韩国食品科学会的邀请,在第三届国际绿茶讨论会上作“中国的茶与健康研究进展”专题报告。

和核磁共振谱试验证明是多酚高聚物^[5]。

2 茶色素的药理作用

2.1 抑制致龋、致牙周病细菌:从流行病学、体外实验已证实了儿茶素抑制变形链球菌生长的作用^[6~8],其机理为儿茶素通过抑制葡萄糖基转移酶(GTF)活性,使细菌失去合成葡聚糖的能力,从而大大减少了导致龋齿菌斑的形成,然而这些研究均是以绿茶及绿茶多酚作为实验材料。

1990年,来自日本不同研究机构的研究结果证实,红茶提取物抑制GTF酶活性的效果优于绿茶。红茶提取物对胞外多糖的合成有明显的抑制作用。TF、TF₂A、TF₂B和TF₃在1 mmol/L~10 mmol/L浓度时对GTF有强抑制活性,其抑制能力超过儿茶素的各个单体^[9,10]。以茶色素、TF的4种单体作为实验材料,观察了它们对葡聚糖形成的影响。结果显示,10 mg/mL茶色素对葡聚糖形成的抑制率为90%,在10 mmol/L时TF、TF₂A、TF₂B和TF₃对葡聚糖形成抑制率依次为98%、97%、97%和98%。在儿茶素类化合物中,茶色素对葡聚糖形成的抑制能力最强^[11]。近年来已有关于茶色素及TF类化合物抗龋作用优于绿茶及儿茶素的报道^[12],但至今未见进一步的临床观察报道,以支持实验室的发现。

在龋病的发生、发展中, α -淀粉酶也是一个十分重要的因素,因为这种酶能使淀粉分解、转化成葡萄糖,这是GTF酶转化葡聚糖的重要前提。据报道,使用同一原料制成红茶、乌龙茶和绿茶后,观察了3种茶提取物对人唾液中淀粉酶活性的影响。结果表明,红茶提取物能专一地降低淀粉酶活性^[13]。进一步研究表明,茶色素的主要组分对 α -淀粉酶活性有显著的抑制作用,其作用强弱以下列次序递减:TF₃>TF₂A>TF₂B>TF。结构和功能的相关性分析表明,在C₃-OH上有没食子酰基团显示有强抑制作用,这种抑制效应可增强10倍,TF对 α -淀粉酶的抑制作用大于儿茶素化合物^[14]。

产黑素类杆菌与大多数炎症性牙周病有密切关系,在慢性成年和进行性成年牙周炎中,龈类杆菌是产黑素类杆菌中毒力最强、且是上述牙周病的重要病原菌。由中美学者在美国完成的一项实验表明^[15],红茶沸水浸提物有效地抑制了龈类杆菌的生长。日本的实验还表明,TF和TR可以抑制牙周变性的主要致病菌——产黑素类拟杆菌(black-pigmented bacteroides, BPB)的生长并有效抑制了这种细菌的胶原酶活性^[16]。

2.2 抗其它细菌的作用:TF及其4个单体对肉毒芽孢杆菌、肠炎杆菌、金黄色葡萄球菌、荚膜杆菌、蜡样芽孢杆菌、志贺氏细菌均有显著的抑制作用。这个较大规模的绿茶多酚与茶色素抑菌试验发现,茶色素具有与绿茶多酚相似的抑菌作用,茶色素较分离出来的茶黄素4个单体的抗菌作用更明显,说明TF各组分具有协同抑菌作用^[17]。TF对金黄色葡萄球菌的抑制作用,在另一项试验中也得到了证实^[18]。红茶提取物对百日咳菌有很强的杀灭作用,尤其是TF没食子酸酯,在1 mg/mL浓度下,24 h可完全杀死百日咳菌。红茶提取物可使霍乱弧菌*Vibrio cholerae*凝集而无法活动,红茶提取液与细菌接触1 h可使弧菌致死。霍乱弧菌溶血素和兔红血球进行的测定表明,0.3 μ L/mL红茶提取液即可使细菌溶血活性抑制71%。对霍乱弧菌毒素和中国仓鼠卵巢细胞进行的研究表明,0.3 μ L/mL低浓度红茶提取液即可抑制毒素对卵巢细胞的毒性。小鼠活体内实验也同样证实了红茶提取物对霍乱弧菌毒素的抑制活性。用家兔作为实验动物模型进行的观察表明,红茶提取物可完全抑制569B霍乱菌株对家兔小肠内的液积累^[19,20]。另一项类似研究也证实了红茶提取物具有的抗霍乱弧菌作用^[21]。1996年夏,日本大阪附近发生病原性大肠杆菌0157的集体中毒。红茶中的TF与绿茶中的儿茶素一样能杀灭0157细菌,电子显微镜观察结果发现,多酚类化合物的杀菌能力表现在对细菌细胞膜的破坏^[22]。

除病原菌外,人们还发现 2.5% 的红茶乙醇提取物可完全抑制须发癣菌、红色发癣菌的生长。儿茶素在 2.5 mg/mL 浓度时仍不能抑制这两种真菌生长,但 0.5 mg/mL TF_3 可抑制其生长。绿茶、乌龙茶提取液在 5 mg/mL 浓度时可完全抑制白癣菌的发育,但红茶提取物即使在低浓度情况下也能抑制白癣菌的发育^[23,24]。

2.3 抗病毒作用:据报道,0.1 μ L/mL 浓度的红茶提取液可以抑制流感病毒 A 和 B 对犬肾细胞的侵染,其机理是红茶提取物可抑制病毒吸附在细胞上,而不是抑制病毒在细胞中的复制。活体外的实验还表明,0.5 mg/(kg·d)~9.4 mg/(kg·d) 的红茶提取物可降低因流感 B 病毒引起的肺部感染^[25]。已用红茶、乌龙茶、黑茶的提取物分别观察了对引起病毒性腹泻的人轮状病毒的抑制作用,结果表明,80 mg/mL 红茶提取物可完全抑制人轮状病毒^[26]。

在有关抗病毒的研究中,较为引人注目的是关于红茶提取物以及茶色素抗艾滋病毒的研究结果。研究了 TF 及其没食子酸酯对艾滋病毒(包括 HIV-1)的逆转录酶以及各种细胞的 DNA 和 RNA 聚合酶活性的抑制作用。结果表明,TF 及其没食子酸酯不仅抑制逆转录酶,而且抑制人体 DNA 聚合酶 α 、 β 、 γ 以及大肠杆菌的 RNA 聚合酶。TF 及其没食子酸酯对 HIV-1 逆转录酶活性的 IC_{50} 分别为 0.5 和 0.1 μ L/mL。TF、 TF_2A 、 TF_2B 和 TF_3 对 HIV-1 逆转录酶的抑制常数(K_i)分别为 0.49、0.032、0.023 和 0.023 μ mol/L。这项研究表明,没食子酰基团的存在可提高 TF 的抑制效应^[27]。使用儿茶素衍生物进行的类似研究也证实了上述结论^[28]。

3 展望

近年来,大量的研究报告证实了茶色素的抗微生物活性。茶色素广泛的抗菌作用来自于它对细菌蛋白的强凝固以及对酶的抑制能力。令人感兴趣的还有茶色素对病毒的抑制作用,尤其是在一些低浓度下对某些病毒

(人轮状病毒、流感病毒、艾滋病毒)的抑制能力,甚至与目前临床使用药物的药效相仿。然而,我们从大量的研究报告看到,茶色素抗微生物活性的研究绝大部分还处于动物体内外实验阶段,极少见到有关临床应用的报告。我国自唐宋以来的医书中有着大量利用茶叶治疗细菌性肠道疾病的记录。印度、日本、前苏联也有使用红茶治疗肠道疾病和其他疾病的病例。随着人类对茶色素抗微生物作用基础研究的不断深入,茶色素在抗微生物临床的应用将会广泛开展。茶色素抗微生物的作用涉及到肠道传染病、呼吸道疾病、口腔疾病、皮肤疾病和自身免疫疾病等,这些研究结果为人们将茶色素运用于不同的临床治疗(局部用药、外用药、冲洗用药和内服药)提供了依据。

参考文献

- 1 Katiyar S K, *et al.* Cancer Lett, 1993; 73(2-3): 167
- 2 Sakanaga S, *et al.* Agric Biol Chem, 1989; 53(9): 2307
- 3 Gremwrod C, *et al.* Tea and Coffee Trade J, 1996; 168(6): 32
- 4 安徽农学院主编. 茶叶生物化学. 北京: 农业出版社, 1980; 195
- 5 萧伟强, 等. 茶叶科学, 1997; 17(1): 1
- 6 曹进, 等. 口腔卫生学会杂志, 1987; 37(2): 128
- 7 曹进, 等. 台湾茶业研究汇报, 1989; 8: 95
- 8 曹进. 茶叶科学, 1995; 15(1): 57
- 9 浜田茂幸, 等. 食品と開発, 1990; 25(6): 19
- 10 Masao H, *et al.* Chem Pharm Bull, 1990; 38(3): 717
- 11 Ishigami T, *et al.* Proceedings of International Symposium on Tea Science. 1991-08-26 Shizuoka, Japan/The Organizing Committee of ISTS, 1992; 248, 347
- 12 Yoshino K, *et al.* J Food Hyg Soc, Japan, 1996; 37(2): 104
- 13 Tanaka N, *et al.* Nippon Kasei Gakkaishi, 1989; 40(7): 587
- 14 Honda M, *et al.* Proceedings of International Symposium on Tea Science. 1991-08-26 Shizuoka, Japan/The Organizing Committee of ISTS, 1992; 258
- 15 凌天膺, 等. 农业考古·中国茶文化专号, 1992; 28(4): 208
- 16 CA, 1992; 117(6): 55946
- 17 原征彦, 等. 日本食品工業學會雜誌, 1989; 36(12): 951, 996

- 18 Toda M, *et al.* Nippon saikingaku Zasshi, 1991; 46(5): 839
- 19 堀内善信, 等. 感染症學雜誌, 1992; 66(5): 599
- 20 Toda M, *et al.* J Appl Bacter, 1990; 69(2): 109
- 21 Masako S O, *et al.* J Appl Bacter, 1991; 70(2): 109
- 22 島村忠勝. 茶, 1996; (10): 30
- 23 大久保幸枝, 等. 日本細菌學雜誌, 1991; 46(2): 509
- 24 中里賢一, 等. 日本農藝化學會志, 1993; 67(3): 30
- 25 Nakayama M, *et al.* Letters in Appl Microbio, 1990; (11): 38
- 26 张国营, 等. 中国病毒学, 1993; 8(2): 151
- 27 Nakane H, *et al.* Proceedings of International Symposium on Tea Science. 1991-08-26 Shizuoka, Japan/The Organizing Committee of ISTS, 1992: 282
- 28 陶佩珍, 等. 中国医学科学院学报, 1992; 14(5): 334

(1998-02-17 收稿)

毛细管电色谱及其在中药复杂成分[△] 分析中的应用前景

中国科学院大连化学物理研究所国家色谱研究分析中心(116011) 芮建中* 邹汉法

摘 要 综述了具有高效液相色谱和毛细管电泳二者优势的毛细管电色谱的基本概念、特点、研究进展和应用,并展望其在中药复杂成分分析中的应用前景。

关键词 中药 毛细管电色谱 成分分析

1 毛细管电色谱基本概念和特点

毛细管电色谱(Capillary Electrochromatography, CEC)^[1~3]是综合了毛细管电泳(CE)和HPLC的优势而发展起来的新型电分离微柱液相色谱技术。CEC一般采用熔融的石英毛细管柱,在柱内填充或管壁键合固定相,用高压直流电源(或加一定的压力)代替高压泵,即用电渗流(Electroosmotic Flow, EOF)代替压力驱动流动相,溶质依据它们在流动相与固定相中的分配系数的不同和自身电泳淌度的差异得到分离,因而既能分离中性物质又能分析带电组分。CEC是把CE的高效和HPLC的选择性(大量可选择的固定相)有机地结合,它克服了CE选择性差和分离中性物质的困难,同时大大提高了液相色谱的分离效率,形成了自己独特的高效、微量、快捷的特点,开辟了高效微分离技

术的新途径。

CEC主要有以下特性:(1)采用的是电场驱动的EOF,其扁平的流型较HPLC的抛物线流型有高得多的柱效。(2)没有背压问题,可以使用更小粒度的填料和更长的毛细管柱,具有更高的分辨能力。(3)在高pH下EOF很大,CEC有可能解决大范围中性分子的分离问题。(4)在分离中性分子时,CEC不需要如胶束电动色谱(MEKC)那样使用表面活性剂,有利于和MS联用。(5)在低pH下,如果选择合适的填料,如离子交换树脂,也可对带电组分达到很好的分离。(6)CEC类似于CE采用在柱检测,检测的死体积很小,有利于提高柱效和检测灵敏度。(7)加压电色谱(PEC)是在加电压的同时,附加一定压力驱动流动相,其优点是避免分离过程中产生气泡,提高稳定性。又可用压力来控制流速,缩

* Address: Rui Jianzhong, National Chromatographic Research & Analysis Centre, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian

芮建中 男,主管医师。1987年7月毕业于第二军医大学,获学士学位;1994年7月在第二军医大学获硕士学位;1997年7月在南京药科大学毕业获博士学位。1997年10月进入中科院大连化物所博士后流动站进行博士后研究,研究方向为毛细管电色谱在中药成分分析中的应用。

△本项目获国家杰出青年资金资助