

儿茶素糖基化修饰研究进展

雷志伟, 李露露, 郭 灿, 尹荣秀

贵州省农业科学院茶叶研究所, 贵州 贵阳 550009

摘 要: 儿茶素是茶叶保健功能的主要物质基础, 具有抗菌作用、抗突变、抗癌和保护神经系统等功效, 但存在储存稳定性差, 生物利用度率低等问题, 对儿茶素进行糖苷化结构修饰是提高其稳定性和生物利用度的有效途径之一。对儿茶素不同位点的糖苷化修饰方法进行综述, 为儿茶素的相关研究及应用提供参考。

关键词: 儿茶素; 糖苷化; 稳定性; 结构修饰; 合成

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)21-5362-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.033

Research progress on glycosidation modification of catechins

LEI Zhi-wei, LI Lu-lu, GUO Can, YIN Rong-xiu

Institute of Tea Research, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550009, China

Abstract: Catechins, the main component of tea health care function, are flavonoids with strong physiological activities, such as broad spectrum bacteriostatic activity, anti-mutation, anti-cancer effects and the protection of the nervous system, which has been one of the hot research topics during recent years. But the storage stability and the oral bioavailability of catechins are relatively low. Glycosylation is one of the effective ways to improve the stability and bioavailability of catechins to some extent. In order to promote the further study and application of catechins, the glycosidic methods at different sites of catechins were summarized in this paper.

Key words: catechins; glycosylation; stability; structural modification; synthesis

儿茶素 (catechins) 是茶多酚的主要成分, 占绿茶多酚含量的 60%~80%^[1], 是绿茶苦涩味的主要成分, 是茶叶感官品质的决定因素之一, 而其氧化产物与红茶的品质密切相关。茶叶中的儿茶素主要包括表儿茶素 [(-)-epicatechin, EC]、儿茶素 [(+)-catechin]、表没食子儿茶素 [(-)-epigallocatechin, EGC]、没食子儿茶素 [(+)-gallocatechin, GC]、表儿茶素没食子酸酯 [(-)-epicatechin gallate, ECG]、儿茶素没食子酸酯 [(+)-catechin gallate, CG]、表没食子儿茶素没食子酸酯 [(-)-epigallocatechin gallate, EGCG] 和没食子儿茶素没食子酸酯 [(+)-gallocatechin gallate, GCG] 8 种化合物^[2](图 1), 其中以 EGCG 含量最高^[3]。

国内外大量研究表明, 儿茶素是低毒、高效的天然抗氧化剂^[4], 同时还具有抗菌^[5]、抗癌^[6-7]、抗病毒^[8]、抗抑郁^[9]和保护神经系统^[10]等多种功效。因此, 儿茶素在精细化工、食品和医药等领域具有

巨大的开发潜力。然而, 儿茶素存在冷水中的溶解性差、空气中稳定性低、生物利用度低等缺点^[11-12]。

随着对儿茶素糖苷研究的深入, 表明儿茶素苷元和糖链组成的各种糖苷具有多种生理活性和良好的药理作用。(1) 糖苷化儿茶素是儿茶素在生物体内的重要形式。在儿茶素药物代谢动力学研究中, Harada 等^[13]研究儿茶素和 EC 的代谢发现, 在血浆中分离到儿茶素和 EC 的葡萄糖醛酸苷衍生物; 1 h 后 EGC 在血液中超过 56% 以糖苷化的形式存在。糖苷化儿茶素是儿茶素分子体内的重要代谢产物, 与儿茶素的保健功效密切相关。(2) 糖苷儿茶素稳定性增加。EGCG 的 3'-OH 糖苷化后稳定性增强, 而该分子清除自由基的能力与 EGCG 相当。(3) 儿茶素糖苷具有增加抗氧化活性的潜力。儿茶素引入糖基, 使其亲水性增大, 提高在冷水中的溶解度及细胞浆液中的富集程度, 有助于增强其抗氧化活性。大鼠 ig EGCG 后, 体液中存在糖苷化 EGCG, 进一

收稿日期: 2019-03-13

基金项目: 贵州省联合基金资助项目 ([2015] 7065); 贵州省自然科学基金项目 ([2016] 1145); 黔农科院青年基金项目 ([2018] 14)

作者简介: 雷志伟 (1985—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为天然产物结构修饰和糖化学。Tel: 18302620979 E-mail: leizhiwei816@163.com

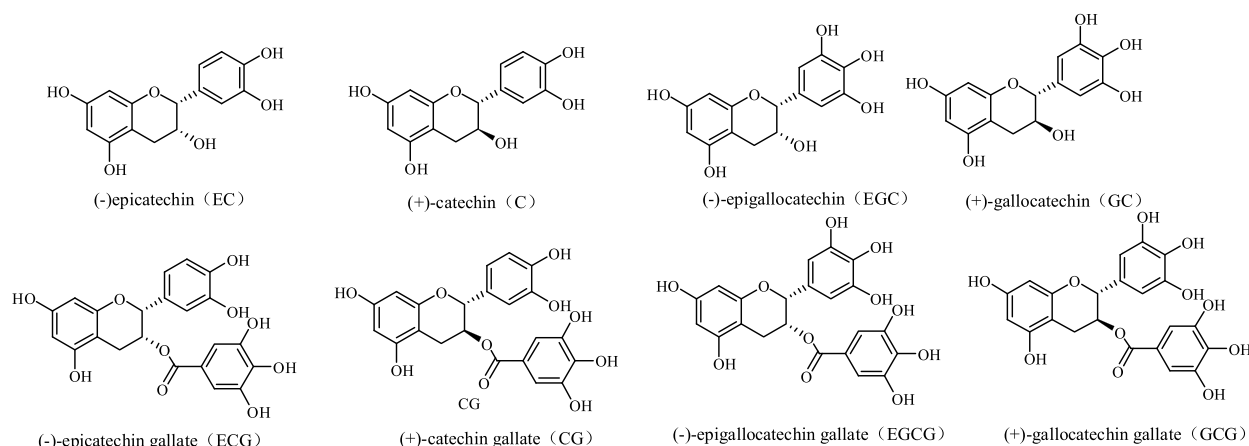


图 1 儿茶素的主要结构

Fig. 1 Main structures of catechins

步研究表明其抗氧化活性优于 EGCG。(4) 儿茶素糖苷的收敛性和涩口性也极大改善。如 EGC、EGCG 和 ECG 在 100~200 mg/kg 时即感知涩味, 但经过糖苷化后, 2 g/kg 才能感知涩味。因此, 儿茶素糖苷在食品、医药、化妆品等领域具有开发潜力。基于以上儿茶素利用度低与稳定性差等缺点, 以及糖苷化儿茶素的优点, 对儿茶素分子进行结构糖基化修饰已成为当前国内外研究的热点之一, 本文对儿茶素不同位点的糖苷化修饰方法进行综述。

1 儿茶素-3-糖苷的合成

Kimura 等^[14]使用 2,4,6-三羟基苯乙酮(1)作为原料, 全合成得到从肉桂皮中分离的一种糖苷(-)-表儿茶素-3-*O*- β -吡喃葡萄糖苷(5)。按照参考文献方法^[15], 以 2,4,6-三羟基苯乙酮(1)为原料合成糖基苷元 5,7,3',4'-四苄基表儿茶素(2); 在 -40 °C 条件下, 以二氯甲烷为溶剂, 糖基供体

2,3,4,6-四-*O*-苄基- α -D-葡萄糖三氯乙酰亚胺酯(3)与化合物 2 在手性磷酸配体 (s)-2 作用下, 合成 5,7,3',4',2'',3'',4'',6''-八-*O*-苄基-(-)-儿茶素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷(4); 经 Pd(OH)₂/C 催化脱苄基保护得 (-)-表儿茶素-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(5, 图 2)。虽然每一步收率都比较高, 但是由于反应步骤较长, 所以总收率较低。

Ohmori 等^[16]以 5,7,3',4'-四苄基儿茶素为原料, 以 1-乙酰基-2,3,4-三-*O*-苄基- α -吡喃鼠李糖为糖基供体, 以二氯二茂钨/高氯酸银为促进剂, 在 -78~-35 °C 下, 合成 5,7,3',4',2'',3'',4''-七-*O*-苄基-(+)-儿茶素-3-*O*- α -L-吡喃鼠李糖苷(8)。化合物 8 是天然糖苷落新妇苷(astilbin)的关键中间体(图 3)。

Raab 等^[17]以 (+)-儿茶素(9)为原料, 在室温下, 以 DMF 为溶剂, 三乙胺为缚酸剂, 乙酰氯为酰化试剂, 合成了 5,7,3',4'-四乙酰基-(+)-儿茶素

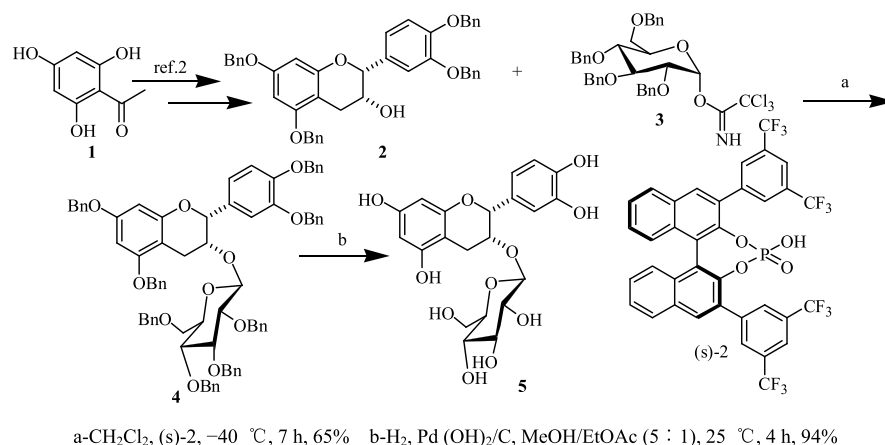
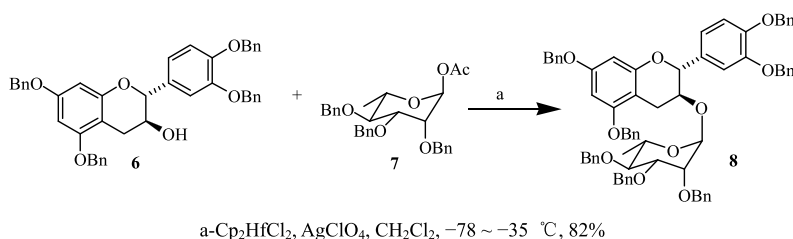


图 2 (-)-表儿茶素-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷的全合成

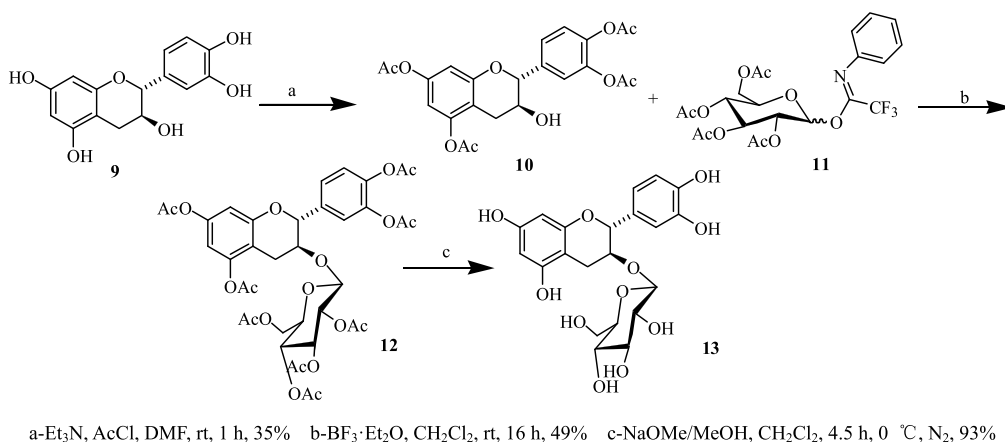
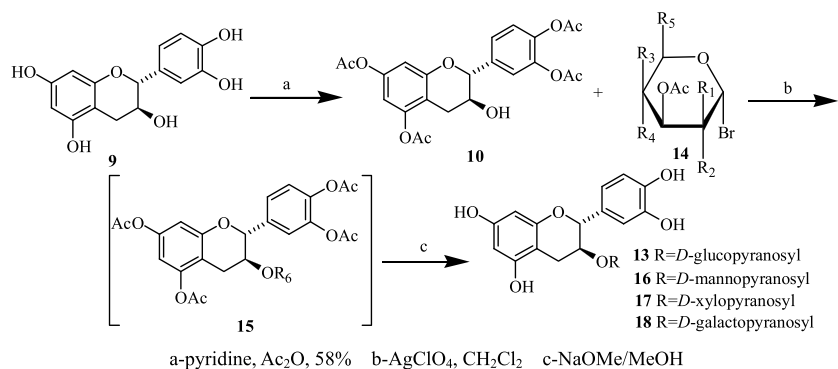
Fig. 2 Total synthesis of (-)-epicatechin-3-*O*- β -D-glucopyranoside

图 3 (+)-儿茶素-3-*O*-α-吡喃鼠李糖苷衍生物的合成Fig. 3 Synthesis of (+)-catechin-3-*O*-α-rhamnoside derivative

(10); 化合物 10 与糖基供体 (2,3,4,6)-四-*O*-乙酰基-*D*-葡萄糖基-(*N*-苯基)-2,2,2-三氟乙酰亚胺酯 (11) 在三氟化硼乙醚为促进剂的条件下合成 5,7,3',4',2'',3'', 4'',6''-八-*O*-乙酰基-(+)-儿茶素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (12); 经甲醇钠脱保护得到 (+)-儿茶素-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (13, 图 4)。

Sasuga 等^[18]以 (+)-儿茶素 (9) 为原料, 在室温下, 以乙酸酐为酰化试剂, 吡啶作为缚酸剂和溶剂, 合成了 5,7,3',4'-四乙酰基-(+)-儿茶素 (10); 以酰化的葡萄糖、半乳糖、木糖、甘露糖的溴代糖为

糖基供体, 高氯酸银为促进剂, 无水二氯甲烷为溶剂, 合成酰基保护的儿茶素糖苷; 在甲醇钠/甲醇条件下脱保护得到 (+)-儿茶素-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (13)、(+)-儿茶素-3-*O*-α-*D*-吡喃甘露糖苷 (16)、(+)-儿茶素-3-*O*-β-*D*-吡喃木糖苷 (17) 和 (+)-儿茶素-3-*O*-β-*D*-吡喃半乳糖苷 (18, 图 5)。笔者研究了上述 4 种儿茶素 3-取代糖苷对酪氨酸酶、黄嘌呤化酶、β-半乳糖苷酶、透明质酸酶和氧化酶的抑制活性。结果表明, 这类化合物具有显著的酪氨酸酶抑制活性。

图 4 (+)-儿茶素-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷的合成Fig. 4 Synthesis of (+)-catechin-3-*O*-β-*D*-glucopyranoside图 5 (+)-儿茶素-3-*O*-吡喃糖苷的合成Fig. 5 Synthesis of (+)-catechin-3-*O*-glycopyranoside

2 儿茶素-5-糖苷的合成

Zhang 等^[19]在 0 °C 条件下,以二氯甲烷为溶剂,三氟化硼乙醚为促进剂,以 3,7,3',4'-四-*O*-苄基表儿茶素(19)为原料,2,3,4-三乙酰基-1-*O*-(三氯乙酰亚胺基)- α -D-葡萄糖醛酸甲酯(20)为糖基供体,合成了 3,7,3',4'-四-*O*-苄基-2'',3'',4''-三-*O*-乙酰基-表儿茶素-5-*O*- β -D-葡萄糖醛酸甲酯(21);再依次以氢氧化钠脱除葡萄糖醛酸苄基和酯基保护,钯碳氢气还原脱除苄基保护,得到(-)-表儿茶素-5-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷(23,图6)。稳定性评价结果表明,化合物 23 固体室温存放 30 d 没有发生变化;其溶液冰箱放置 2 d 也未发生变化,但是其溶液室温下过夜变黄。

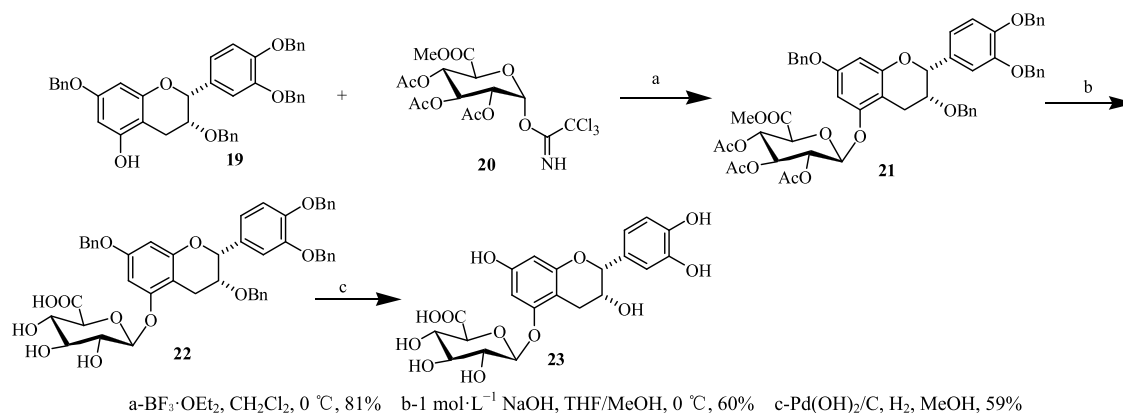


图 6 (-)-表儿茶素-5-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷的合成

Fig. 6 Synthesis of (-)-catechin-5-*O*- β -D-glucuronide

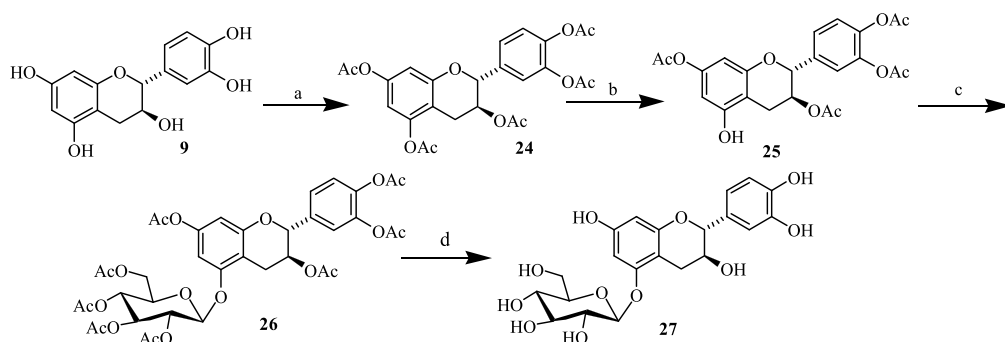


图 7 (+)-儿茶素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷的合成

Fig. 7 Synthesis of (+)-catechin-5-*O*- β -D-glucopyranoside

Gao 等^[21]以 (+)-儿茶素(9)为底物,麦芽糖(28)为糖基供体,以嗜热脂肪芽孢杆菌中提取的 α -葡萄糖苷酶进行生物转化,合成(+)-儿茶素-5-*O*- α -D-吡喃葡萄糖苷(29)和(+)-儿茶素-7-*O*- α -D-吡喃葡萄糖苷(30),转化率为 20% (图 8)。

Gao 等^[21]以 (+)-儿茶素(9)为底物,糊精为

Raab 等^[17]以 (+)-儿茶素(9)为原料,以乙酸酐为酰化试剂,吡啶作为缚酸剂和溶剂,室温下反应 6 d,合成了 3,5,7,3',4'-五乙酰基儿茶素(24);以 *N*-甲基吡咯烷酮为溶剂,化合物 24 在咪唑和苯硫酚作用下,室温反应 6 h,得到 3,7,3',4'-四-*O*-乙酰基儿茶素(25);化合物 25 与糖基供体 11,在三氟化硼乙醚为促进剂的条件下合成 3,7,3',4',2'',3'',4'',6''-八-*O*-乙酰基-(+)-儿茶素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(26);经甲醇钠脱保护得到(+)-儿茶素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(27,图 7),该化合物也是拳参的成分之一,具有很强的 DNA 裂解活性^[20]。依照此法,也合成了(+)-儿茶素-3'-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷和(+)-儿茶素-4'-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

糖基供体,在 α -淀粉酶的催化下,合成了(+)-儿茶素-5-*O*- α -D-麦芽糖苷(31)和(+)-儿茶素-7-*O*- α -D-麦芽糖苷(32),转化率为 5% (图 9)。

3 儿茶素-7-糖苷的合成

Mull 等^[22]以 2,4,6-三羟基苯乙酮衍生物为原料,经过选择性地保护和脱保护,首次全合成了 EC

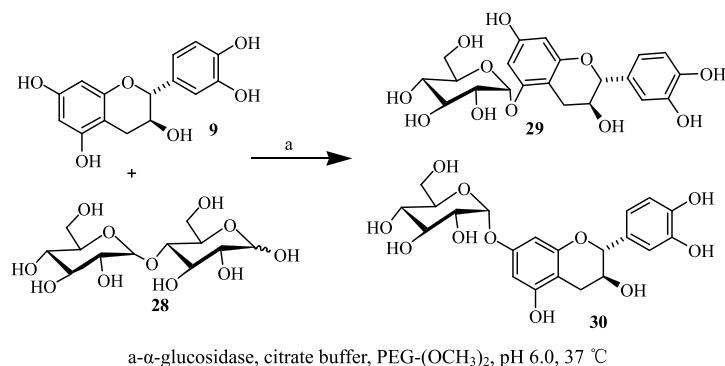


图 8 (+)-儿茶素-O-α-D-吡喃葡萄糖苷的合成

Fig. 8 Synthesis of (+)-catechin-O-α-D-glucopyranoside

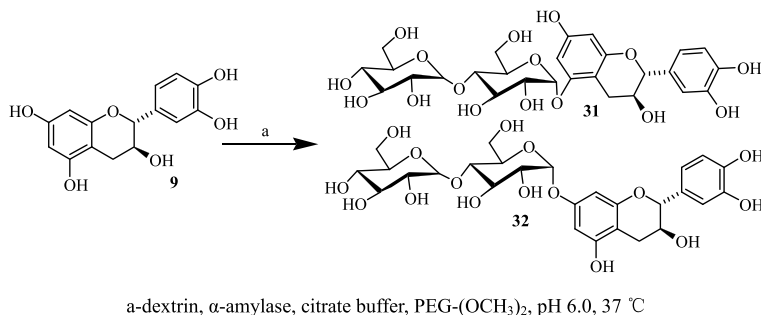


图 9 (+)-儿茶素-O-α-D-麦芽糖苷的合成

Fig. 9 Synthesis of (+)-catechin-O-α-D-maltoside

的 5 种葡萄糖醛酸苷取代的代谢产物, 其中化合物 33、34 和 35 是 (-)-表儿茶素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖醛酸苷系列化合物 (图 10)。

Meulenbeld 等^[23]以 (+)-儿茶素为底物, 以蔗糖为糖基供体, 以来源于变形链球菌 GS-5 的 α-葡萄糖基转移酶 (GTF-D, EC2.4.1.5) 催化儿茶素糖苷化反应, 结果将其转化成 3 种 (+)-儿茶素葡萄糖苷, 分别是 (+)-儿茶素-7-α-葡萄糖苷 (38)、(+)-儿茶素-4'-α-葡萄糖苷 (39)、(+)-儿茶素-7,4'-α-二葡萄糖苷 (40)、儿茶素糖苷, 总产率达到 90% (图 11)。

Moon 等^[24]以 EGCG 为底物, 蔗糖为糖基供体, 利用从肠膜明串珠菌 B-1299CB 中提取的葡聚糖蔗

糖酶, 催化合成了 EGCG 糖苷, 分离纯化得到 3 种主要的 EGCG 糖苷化合物, 分别是 EGCG-7-O-α-D-吡喃葡萄糖苷 (41)、EGCG-7,4'-O-α-D-二吡喃葡萄糖苷 (42) 和 EGCG-4'-O-α-D-吡喃葡萄糖苷 (43), 产率依次是 9.1%、19.9% 和 8.7% (图 12)。

4 儿茶素-3'-糖苷的合成

Romanov-Michailidis 等^[25]以间苯三酚和肉桂醇的衍生物为起始原料, 经过傅-克烷基化、Sharpless 不对称二羟基化、选择性地保护和脱保护、环化、氧化、还原等步骤, 合成了 (-)-表儿茶素-3'-O-D-葡萄糖醛酸苷 (54, 图 13)。其中, 将起始原料桂皮醇衍生物替换成 3-苄基氧基-4-羟基肉桂醇,

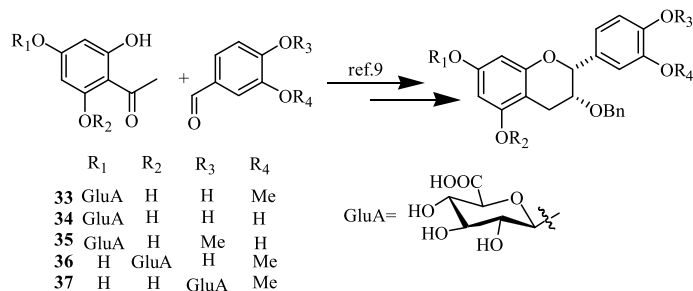


图 10 (-)-表儿茶素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖醛酸苷系列化合物的合成

Fig. 10 Synthesis of (-)-epicatechin-7-O-β-D-glucuronides

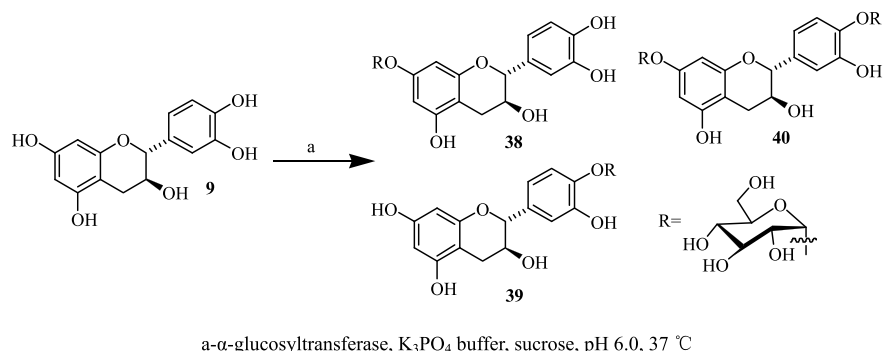


图 11 (+)-儿茶素-7-*O*- α -D-葡萄糖苷的合成

Fig. 11 Synthesis of (+)-catechin-7-*O*- α -D-glucoside

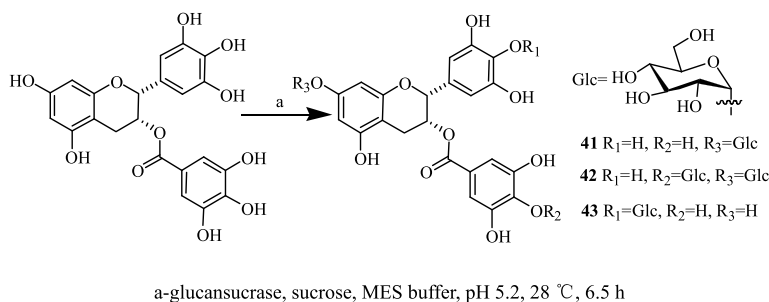
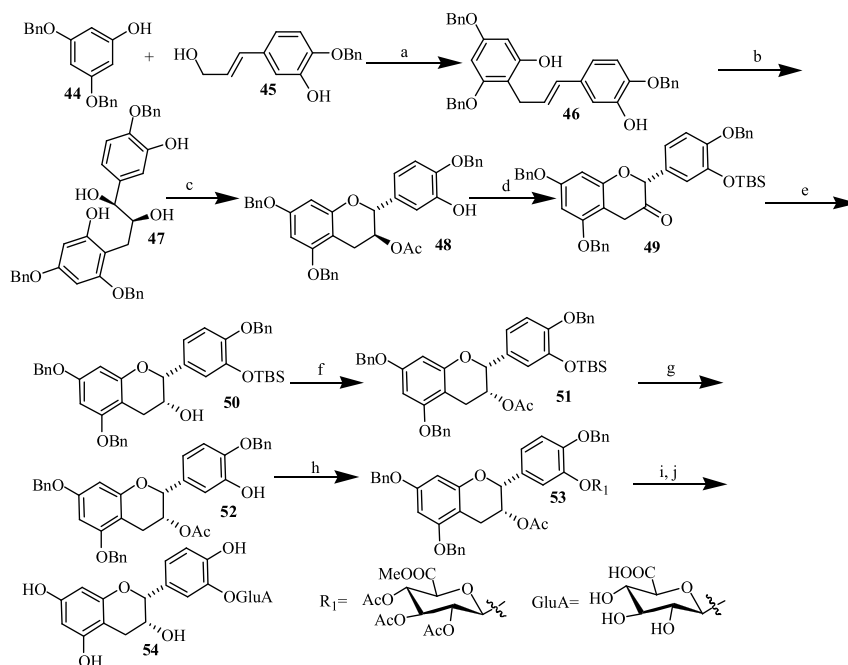


图 12 EGCG-7-*O*- α -D-吡喃葡萄糖苷的合成

Fig. 12 Synthesis of EGCG-7-*O*- α -D-glucopyranoside



a- $H_2SO_4(SiO_2)$, CH_2Cl_2 , rt b-TBSCl/imidazole/DMF, rt AD-mix α , $MeSO_2NH_2$, 1 : 1 t-BuOH/water, 0 °C to rt, 16 h; TBAF/THF, rt c-triethyl orthoacetate, PPTS, 1,2-dichloroethane, 50 °C, 68% d-DMF, imidazole, TBSCl, Ar, 24 h, 92%; toluene, DIBAL-H, -78 °C, 99% e-THF, L-Selectride, -78 °C f-AcCl, pyridine g-donor 15, TBAF, THF h- $BF_3 \cdot OEt_2$, 0 °C to rt, CH_2Cl_2 , 85% i-KOH, THF/water, 98% j-Pd (OH) $_2$ /C, H_2 , THF/MeOH, 99%

图 13 (-)-表儿茶素-3'-*O*-D-葡萄糖醛酸苷的全合成

Fig. 13 Total synthesis of (-)-epicatechin-3'-*O*- β -D-glucuronide

可合成 (-)-表儿茶素-4'-*O*-*D*-葡萄糖醛酸苷。

Masataka 等^[26]以 (+)-儿茶素 (9) 为底物, 以淀粉为糖基供体, 利用软化芽孢杆菌中分离的 α -环糊精葡萄糖基转移酶催化儿茶素糖苷化, 得到比 (+)-儿茶素溶解性高 40 倍的 (+)-儿茶素-3'- α -*D*-吡喃葡萄糖苷^[27](55, 图 14-A), 产率 4.3%。Sato 等^[28]以 (+)-

儿茶素 (9) 为底物, 以麦芽糖为糖基供体, 利用从黄单胞杆菌 WU-9701 中提取的具有 α -葡萄糖转移活性的粗酶, 在 pH 6.5 的柠檬酸-磷酸二氢钠缓冲溶液中, 以优化条件 45 °C 反应 36 h, 得到具有甜味、可用于食品添加剂的 (+)儿茶素-3'- α -*D*-吡喃葡萄糖苷 (55), 物质的量转化率达到 57.1% (图 14-B)。

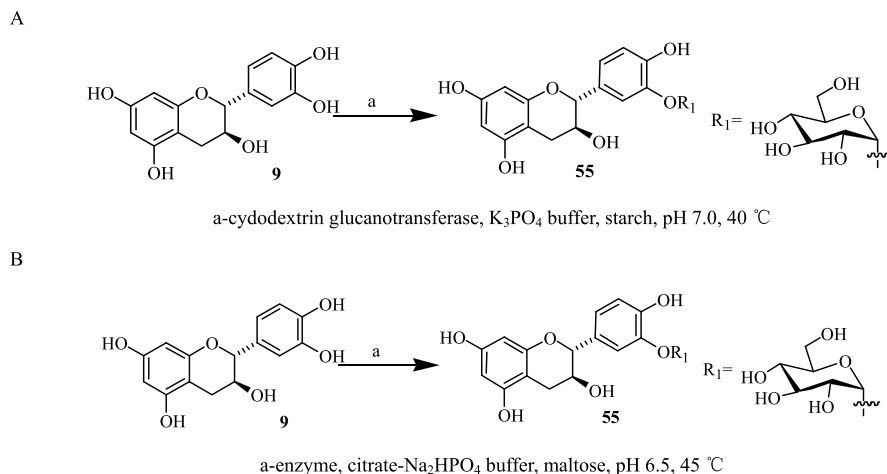


图 14 (+)-儿茶素-3'-*O*- α -*D*-吡喃葡萄糖苷的合成

Fig. 14 Synthesis of (+)-catechin-3'-*O*- α -*D*-glucopyranoside

Cho 等^[29]以 (+)-儿茶素为底物, 浓度为 25 mmol/L, 以蔗糖为糖基供体, 以来源于地热球菌 DSM 11300 的蔗糖-4-葡萄糖基转移酶 (EC 2.4.1.4) 为催化剂, 对 (+)-儿茶素进行糖苷化转化, 获得 (+)-儿茶素-3'- α -*D*-吡喃葡萄糖苷 (55) 和 (+)-儿茶素-3'- α -麦芽糖苷 (56, 图 15)。

Aramsangtienchai 等^[30]以 EC 为底物, 以 β -环糊精为糖基供体, 利用从类芽孢杆菌 RB01 中提取的环糊精糖苷转移酶 (CGTase, E.C 2.4.1.19) 合成表儿茶素糖苷化合物, 经 MS 和 NMR 鉴定, 确定 4 种主要表儿茶素糖苷化合物, 分别是 (-)-表儿茶素-3'- α -*D*-吡喃葡萄糖苷 (57)、(-)-表儿茶素-3'- α -*D*-麦芽糖苷 (58)、(-)-表儿茶素-3'- α -麦芽三糖苷 (59)

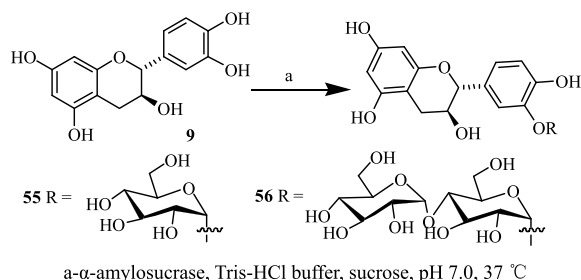


图 15 (+)-儿茶素-3'-*O*- α -*D*-糖苷的合成

Fig. 15 Synthesis of (+)-catechin-3'-*O*- α -*D*-glycosides

和 (-)-表儿茶素-4'- α -*D*-吡喃葡萄糖苷 (60)。其中, 3'- α -葡萄糖苷含量高于 4'- α -葡萄糖苷 (图 16)。虽然 (-)-表儿茶素-3'- α -葡萄糖苷的抗氧化性低于 (-)-表儿茶素, 但是其水溶性和稳定性均高于 (-)-表儿茶素, 可用于食品添加剂。

5 儿茶素-4'-糖苷的合成

Zhang 等^[3]以 EGCG 为原料, 以 2,3,4,6-四-*O*-乙酰基- α -*D*-溴代葡萄糖为糖基供体, 以丙酮为溶剂, 碳酸钾为缚酸剂, 反应得到的粗产物经氢氧化钾脱保护, 酸性离子交换树脂调节 pH 值, 进一步分离纯化得到 EGCG-4'-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (61) 和 EGCG-4',4''-*O*- β -*D*-二葡萄糖苷 (62), 产率分别是 11% 和 27%, 见图 17。化合物 61 和 62 的水溶性分别是 EGCG 的 15 倍和 31 倍。

Gao 等^[21]以纤维素酶对 (+)-儿茶素进行糖基化修饰。以浓度为 300 g/L 的儿茶素为底物, 以 *p*-硝基苯- β -*D*-吡喃海藻糖苷 (63) 为糖基供体, 二者混合加热助溶, 在 37 °C 条件下, 加入纤维素酶催化反应, 得到 (+)-儿茶素-4'-*O*- β -*D*-吡喃海藻糖苷 (64), 转化率为 26% (图 18)。

Noguchi 等^[31]以 (+)-儿茶素 (9) 为底物, 以 UDPG 为糖基供体, 利用重组葡萄糖转移酶

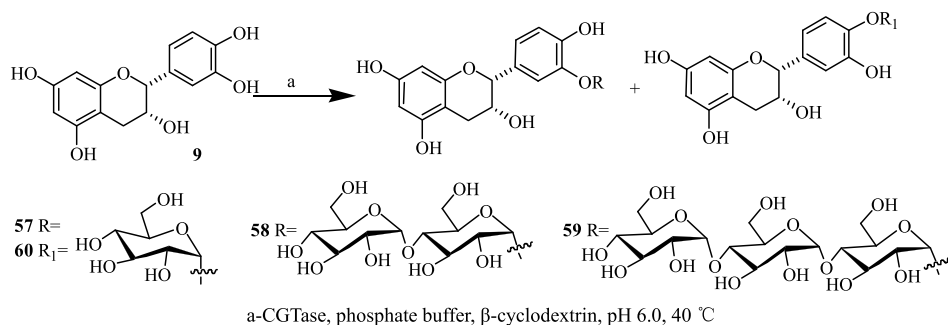


图 16 (-)-表儿茶素-3'-O- α -D-糖苷的合成

Fig. 16 Synthesis of (-)-epicatechin 3'-O- α -D-glucosides

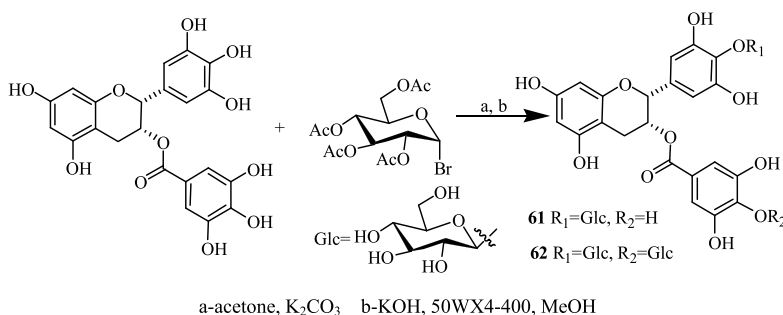


图 17 EGCG-4'-O- β -D-葡萄糖苷的合成

Fig. 17 Synthesis of EGCG-4'-O- β -D-glucosides

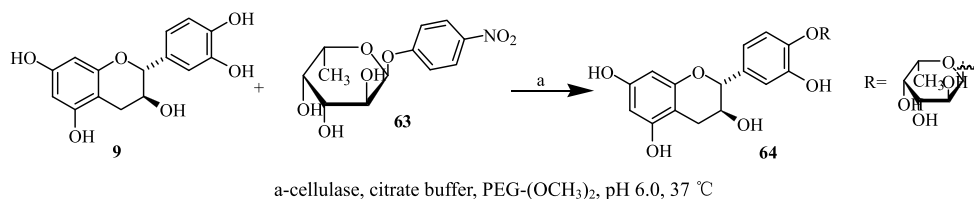


图 18 (+)-儿茶素 4'-O- β -D-吡喃海藻糖苷的合成

Fig. 18 Synthesis of (+)-catechin 4'-O- β -D-glucopyranoside

(UGT73A10)进行生物转化,合成 (+)-儿茶素-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (**65**),产率达 83% (图 19),该儿茶素糖苷化合物在碱性和高温条件下的稳定性均优于 (+)-儿茶素。

Kitao 等^[32]以 EGCG 为底物,以蔗糖为糖基供体,利用从肠膜明串珠菌中提取的蔗糖磷酸化酶酶 (EC

2.4.1.7),催化合成 EGCG 糖苷,得到了 2 种 EGCG 糖苷化合物 (图 20),分别是 EGCG-4'-O- α -D-吡喃葡萄糖苷 (**66**) 和 EGCG-4',4''-O- α -D-二吡喃葡萄糖苷 (**67**)。糖苷化的 EGCG 均增加了 EGCG 的稳定性。

此外,通过培养植物细胞进行生物转化也是对儿茶素进行糖苷化修饰的重要工具。Shimoda 等^[33]

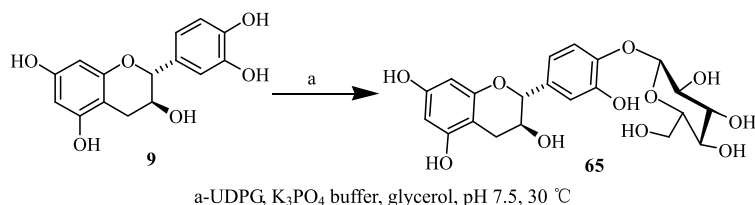


图 19 (+)-儿茶素-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷的合成

Fig. 19 Synthesis of (+)-catechin 4'-O- β -D-glucopyranoside

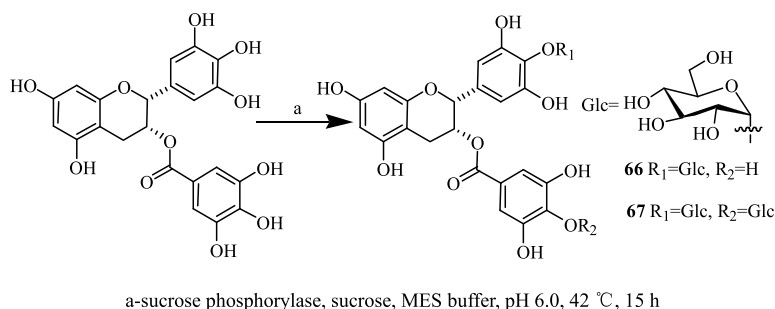


图 20 EGCG-4'-O-α-D-吡喃葡萄糖苷的合成

Fig. 20 Synthesis of EGCG 4'-O-α-D-glucopyranoside

以培养的烟草 *Nicotiana tabacum* L. 细胞对儿茶素和 EC 进行糖苷化: (-)-表儿茶素-3'-O-β-D-葡萄糖苷的产率达到 38%, (-)-表儿茶素-7-O-β-D-葡萄糖苷产率为 15%, (-)-表儿茶素-5-O-β-D-葡萄糖苷产率为 7%; (+)-儿茶素-3'-O-β-D-葡萄糖苷的产率达到 46%, (+)-儿茶素-7-O-β-D-葡萄糖苷的产率为 17%, (+)-儿茶素-5-O-β-D-葡萄糖苷产率为 10%。Otani 等^[34]以培养的桉树细胞对 (+)-儿茶素进行糖苷化生物转化, 得到 3 种单糖取代的儿茶素糖苷: (+)-儿茶素-3'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷的产率达到 33%; (+)-儿茶素-5-O-β-D-吡喃葡萄糖苷产率为 13%; (+)-儿茶素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷产率为 44%。

6 儿茶素-6/8-糖苷的合成

自然界中的儿茶素糖苷, 大多数以 O-苷形式存在, 而儿茶素-6/8-糖苷是以碳糖苷形式存在, 而 C-糖苷儿茶素很少。目前已知的包括从肉桂或大黄中分离出黄酮-3-醇衍生物 (-)-表儿茶素-8-C-葡萄糖苷和 (-)-表儿茶素-6-C-β-D-吡喃葡萄糖苷^[35-36], 以及从粗茎鳞毛蕨根部分离得到的 (+)-儿茶素-6-C-β-D-吡喃葡萄糖苷^[37]。

Stark 等^[38]在无酶催化的条件下, 将 (+)-儿茶

素、D-葡萄糖和碳酸钾溶于水, 形成均一溶液, 再加热到 80 °C, 搅拌 10 min, 冷却, 再用 1 mol/L 盐酸调节 pH 5.0, 制备分离得到 (+)-儿茶素-6-C-β-D-吡喃葡萄糖苷 (68)、(+)-儿茶素-6-C-β-D-吡喃葡萄糖苷 (69)、(+)-儿茶素-6,8-C-β-D-二吡喃葡萄糖苷 (70, 图 21)。以此方法, 还合成了 (-)-表儿茶素糖苷化合物和儿茶素碳糖苷化合物。

7 结语

作为合成儿茶素糖苷化的主要方法之一——化学合成方法, 虽然目的性强、定向控制目标产物, 但是大都经过多步保护与脱保护, 导致合成路线长, 且条件相对剧烈。酶是制备复杂碳水化合物及其衍生物的宝贵工具, 作为生物催化剂能够生成糖苷链所需的类型和构型, 不需要复杂的保护/脱保护策略, 符合绿色化学的发展趋势。但是, 利用酶催化儿茶素进行糖基化修饰, 糖基化位置分别是儿茶素的 3'、4'、5、7 位羟基, 通常产物较多, 性质相近, 产物分离难度大。另外, 目前儿茶素糖苷化的酶价格昂贵、数量有限^[39]。因此, 探索出反应条件温和、产率高、实际操作简便的儿茶素糖苷化的方法具有重要的意义。

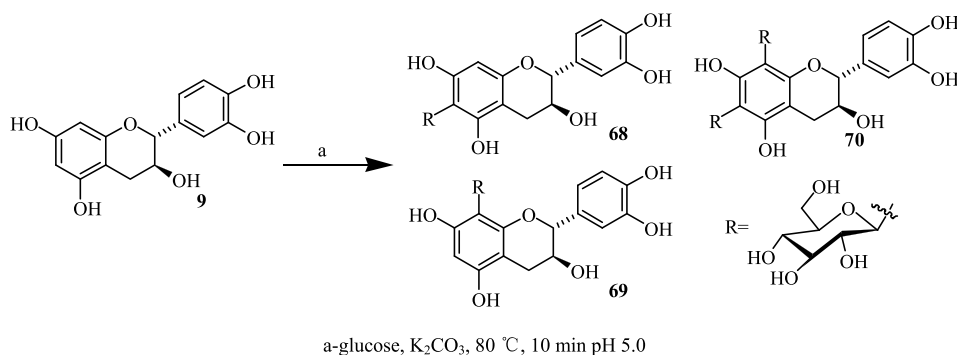


图 21 (+)-儿茶素-6/8-C-β-D-吡喃葡萄糖苷的合成

Fig. 21 Synthesis of (+)-catechin-6/8-C-β-D-glucopyranoside

参考文献

- [1] 侯 丹, 邵胜荣, 陈小强, 等. 儿茶素稳态化及其应用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(22): 325-330.
- [2] 陆昌琪, 毛世红, 童华荣, 等. 儿茶素及其衍生物合成研究进展 [J]. 食品科学, 2018, 39(11): 316-326.
- [3] Zhang X, Wang J, Hu J, *et al.* Synthesis and biological testing of novel glucosylated epigallocatechin gallate (EGCG) derivatives [J]. *Molecules*, 2016, 21(5): 620-630.
- [4] Grzesik M, Naparło K, Bartosz G, *et al.* Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants [J]. *Food Chem*, 2018, 241: 480-492.
- [5] 陈书媛, 戴 申, 龚雨顺. 儿茶素类化合物抑菌作用及其作用机制的研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(9): 3316-3322.
- [6] 周 洁, 龚正礼, 张 凯, 等. 儿茶素及其衍生物抗癌研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(17): 2510-2518.
- [7] 王 蔚, 郭雅玲. 茶功能性成分对肺癌作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(17): 3654-3661.
- [8] You H, Huang C, Chen C, *et al.* Anti-pandemic influenza A (H1N1) virus potential of catechin and gallic acid [J]. *J Chin Med Assoc*, 2018, 81(5): 458-468.
- [9] 陈 杰, 林小东, 刘立滢, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对慢性温和不可预知应激抑郁小鼠的保护作用 [J]. 中草药, 2018, 49(6): 1351-1357.
- [10] 李大祥, 鲜 殊, 杨 卫, 等. 茶叶的神经保护作用研究进展 [J]. 茶叶科学, 2011, 31(2): 79-86.
- [11] 白 艳, 江用文, 江和源, 等. 儿茶素改性的研究进展 [J]. 食品科学, 2012, 33(17): 312-317.
- [12] 于莎莎, 丁阳平, 罗 赛, 等. 儿茶素衍生物合成及药理作用研究进展 [J]. 食品科学, 2012, 33(17): 318-326.
- [13] Harada M, Kan Y, Naoki H, *et al.* Identification of the major antioxidative metabolites in biological fluids of the rat with ingested (+)-catechin and (-)-epicatechin [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1999, 63(6): 973-977.
- [14] Kimura T, Sekine M, Takahashi D, *et al.* Chiral bronsted acid mediated glycosylation with recognition of alcohol chirality [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52(46): 12131-12134.
- [15] Wan S B, Chen D, Ping Dou Q, *et al.* Study of the green tea polyphenols catechin-3-gallate (CG) and epicatechin-3-gallate (ECG) as proteasome inhibitors [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2004, 12(13): 3521-3527.
- [16] Ohmori K, Hatakeyama K, Ohru H, *et al.* Cationic zirconocene- or hafnocene-based Lewis acids in organic synthesis: Glycoside-flavonoid analogy [J]. *Tetrahedron*, 2004, 60(6): 1365-1373.
- [17] Raab T, Barron D, Vera F A, *et al.* Catechin glucosides: occurrence, synthesis, and stability [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(4): 2138-2149.
- [18] Sasuga K, Kamiya S, Nakagawa M. Chemical syntheses of (+)-catechin glycosides and their inhibitory actions on certain enzymes [J]. *Chagyo Kenkyu Hokoku*, 2000, 2000(89): 29-36.
- [19] Zhang M, Jagdmann G E, Van Zandt M, *et al.* Chemical synthesis and characterization of epicatechin glucuronides and sulfates: Bioanalytical standards for epicatechin metabolite identification [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(2): 157-169.
- [20] 肖 凯, 宣利江, 徐亚明, 等. 拳参的 DNA 裂解活性成分研究 [J]. 中草药, 2003, 34(3): 14-17.
- [21] Gao C, Mayon P, MacManus D A, *et al.* Novel enzymic approach to the synthesis of flavonoid glycosides and their esters [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2001, 71(3): 235-243.
- [22] Mull E S, Van Zandt M, Golebiowski A, *et al.* A versatile approach to the regioselective synthesis of diverse (-)-epicatechin- β -D-glucuronides [J]. *Tetrahedron Lett*, 2012, 53(12): 1501-1503.
- [23] Meulenbeld G H, Zuilhof H, van Veldhuizen A, *et al.* Enhanced (+)-catechin transglucosylating activity of *Streptococcus mutans* GS-5 glucosyltransferase-D due to fructose removal [J]. *Appl Environ Microb*, 1999, 65(9): 4141-4147.
- [24] Moon Y, Lee J, Ahn J, *et al.* 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.
- [25] Romanov-Michailidis F, Viton F, Fumeaux R, *et al.* Epicatechin B-ring conjugates: First enantioselective synthesis and evidence for their occurrence in human biological fluids [J]. *Org Lett*, 2012, 14(15): 3902-3905.
- [26] Funayama M, Nishino T, Hirota A, *et al.* Enzymatic synthesis of (+) catechin- α -glucoside and its effect on tyrosinase activity [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1993, 57(10): 1666-1669.
- [27] Kitao S, Ariga T, Matsudo T, *et al.* The syntheses of catechin-glucosides by transglycosylation with *Leuconostoc mesenteroides* sucrose phosphorylase [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1993, 57(12): 2010-2015.
- [28] Sato T, Nakagawa H, Kurosu J, *et al.* α -Anomer-selective glucosylation of (+)-catechin by the crude enzyme, showing glucosyl transfer activity, of *Xanthomonas campestris* WU-9701 [J]. *J Biosci Bioeng*, 2000, 90(6): 625-630.
- [29] Cho H, Kim H, Seo D, *et al.* Biosynthesis of (+)-catechin glycosides using recombinant amylosucrase from

- Deinococcus geothermalis* DSM 11300 [J]. *Enzyme Microb Tech*, 2011, 49(2): 246-253.
- [30] Aramsangtienchai P, Chavasiri W, Ito K, *et al.* Synthesis of epicatechin glucosides by a β -cyclodextrin glycosyltransferase [J]. *J Mol Catal B-Enzym*, 2011, 73(1/4): 27-34.
- [31] Noguchi A, Sasaki N, Nakao M, *et al.* cDNA cloning of glycosyltransferases from Chinese wolfberry (*Lycium barbarum* L.) fruits and enzymatic synthesis of a catechin glucoside using a recombinant enzyme (UGT73A10) [J]. *J Mol Catal B-Enzym*, 2008, 55(1/2): 84-92.
- [32] Kitao S, Matsudo T, Saitoh M, *et al.* Enzymic synthesis of two stable (-)-epigallocatechin gallate-glucosides by sucrose phosphorylase [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1995, 59(11): 2167-2169.
- [33] Shimoda K, Otsuka T, Morimoto Y, *et al.* Glycosylation and malonylation of quercetin, epicatechin, and catechin by cultured plant cells [J]. *Chem Lett*, 2007, 36(10): 1292-1293.
- [34] Otani S, Kondo Y, Asada Y, *et al.* Biotransformation of (+)-catechin by plant cultured cells of *Eucalyptus perriniana* [J]. *Plant Biotechnol*, 2004, 21(5): 407-409.
- [35] Zhou Z, Zhang Y, Xu M, *et al.* Puerins A and B, two new 8-C substituted flavan-3-ols from Pu-er tea [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(22): 8614-8617.
- [36] Van'T Slot G, Mattern W, Rzeppa S, *et al.* Complex flavonoids in cocoa: Synthesis and degradation by intestinal microbiota [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(15): 8879-8886.
- [37] Chang X, Li W, Koike K, *et al.* Phenolic constituents from the rhizomes of *Dryopteris crassirhizoma* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54(5): 748-750.
- [38] Stark T, Keller D, Wenker K, *et al.* Nonenzymatic C-glycosylation of flavan-3-ols by oligo- and polysaccharides [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(23): 9685-9697.
- [39] 郭瑞霞, 秦芳, 李力更, 等. 金雀异黄酮糖苷化修饰研究进展 [J]. *中草药*, 2014, 45(6): 874-882.