

儿茶素类化合物抑菌作用及其作用机制的研究进展

陈书媛, 戴 申, 龚雨顺*

(湖南农业大学园艺园林学院, 国家植物功能成分利用工程技术研究中心, 茶学教育部重点实验室, 长沙 410128)

摘 要: 儿茶素类化合物能直接抑制多种菌株的生长, 也可以与抗生素产生良好的协同作用, 增强其抗菌作用, 调节细菌对抗生素的耐药性。酯型儿茶素与简单儿茶素的抑菌效果差异显著, 分子结构影响儿茶素类化合物的抑菌效果。儿茶素类化合物可与细胞膜组成成分相互作用, 改变细胞膜的物理特性, 造成细胞内容物渗漏; 调控相关基因, 控制蛋白质表达, 影响细胞正常代谢; 产生活性氧并造成胞内外氧化应激, 导致生物大分子受到氧化损伤。儿茶素类化合物具有良好的抑菌效果、增敏作用, 在食品与医药行业具有较大的研究价值和应用前景。本文对儿茶素的抑菌作用及其机制进行综述。

关键词: 儿茶素类化合物; 抑菌作用; 协同作用; 作用机制

Research progress of antibacterial effects of catechins and its mechanism

CHEN Shu-Yuan, DAI Shen, GONG Yu-Shun*

(College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Key Laboratory of Tea Science of Ministry of Education, Changsha 410128, China)

ABSTRACT: Catechins can directly inhibit the growth of a variety of strains, produce good synergistic effects with antibiotics, enhance their antibacterial activity, and also regulate the resistance of bacteria to antibiotics. The inhibitory effects of esterified-catechins and simple catechins were different, and the molecular structures influenced the antibacterial effects of catechin compounds. Researches indicated that catechins were able to modulate the structure and function of membranes through the molecular interaction taking place between membrane phospholipids and catechin molecules. A significant leakage was observed when catechins were used. Catechins had metabolic effects and modulate the expression of relevant genes. Catechins could also function as a prooxidant, produce reactive oxygen species, and induce oxidative stress-related responses, leading to the oxidative damage to biological macromolecules such as proteins, DNA, and phospholipids. The good bactericidal activity and antibacterial activity for potentiating the effects of certain antibiotics showed that catechins had a possibility to apply to the fields of food and pharmaceuticals. In this paper, the antibacterial activity of catechins and its mechanism were reviewed.

KEY WORDS: catechins; antibacterial activity; structure-activity relationship; mechanism

基金项目: 国家自然科学基金项目(31270733)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31270733)

*通讯作者: 龚雨顺, 博士, 教授, 主要研究方向为茶叶功能成分化学研究。E-mail: gongyushun@hunau.net

*Corresponding author: GONG Yu-Shun, Professor, College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China. E-mail: gongyushun@hunau.net

1 引言

茶叶中儿茶素属于黄烷醇类化合物,占茶叶含量12%~24%(干重),是茶叶中多酚类物质的主要化学成分^[1]。茶叶中儿茶素主要分为4种:表儿茶素(epicatechin, EC)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG)和表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG),它们的化学结构如图1所示。国内外研究表明儿茶素对革兰氏阴性、阳性菌都有明显的抑制作用^[2],在体内外^[3-5]都有抗菌作用,且对多种抗生素具有良好的增敏效果^[6-8]。

以没食子酸酯基团的有无将 EC、EGC 归为简单儿茶素,将 ECG、EGCG 归为酯型儿茶素。在抑菌和抗生素增敏方面,酯型儿茶素因其特有的分子结构,较简单儿茶素具有更显著的效果^[9]。国内外绝大多数抗菌增敏研究集中于酯型儿茶素,尤其集中于 EGCG。相比于儿茶素类化合物的抑菌作用,其抑菌机制的研究报道相对较少,集中报道儿茶素类化合物与磷脂双层之间相互作用;EGCG 调控部分相关基因及其促氧化作用造成细胞损伤。本文对儿茶素的抑菌作用及其机制进行综述。

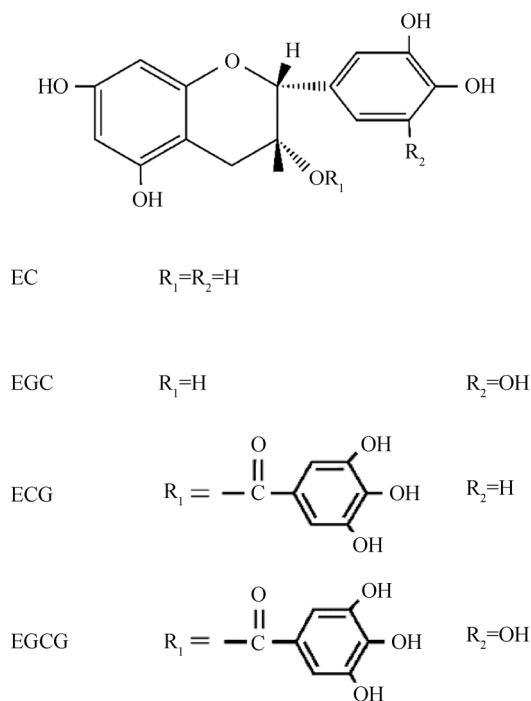


图1 4种儿茶素单体结构式

Fig. 1 Chemical structures of the green tea catechins

2 儿茶素类抑菌作用

2.1 直接抑菌作用

儿茶素类化合物具有抗菌作用。相比真菌与霉菌,儿

茶素类化合物对细菌的抑制作用较强,具有广谱性和高效性。王岳飞^[10]研究表明茶多酚对19个细菌类群中的12个类群近百种细菌均具有抗菌活性。儿茶素对鸭肉中常见菌如假单胞菌、大肠杆菌、李斯特氏菌、葡萄球菌与乳酸菌都有很好的抑制作用,可以对鸭肉进行保鲜^[11]。EGCG对铜绿假单胞菌、柠檬酸杆菌、嗜水单胞菌和大肠杆菌的抑制作用明显强于其他3种儿茶素,抑菌性大小为EGCG>EGC>ECG>EC^[3]。Park等^[12]发现EGCG对念珠菌属中的21株临床分离菌都有抗菌活性,光滑念珠菌最低抑制浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)为1~2 mg/L,近平滑念珠菌和高里氏念珠的MIC为2~16 mg/L。李东风等^[13]研究壳寡糖、儿茶素和纳米氧化锌对冻干前处理古木微生物作用,发现10%儿茶素对4种侵蚀软性材的细菌抑菌效果明显,但对9种丝状真菌抑菌作用弱,仅对链毛孢属有抑菌效果,其他都不明显。

茶多酚能抑制口腔细菌生长和繁殖,并具有直接杀菌作用^[14-16]。其中起主要抑菌和杀菌作用的物质为儿茶素,尤其是酯型儿茶素^[17]。EGCG具有良好的抗龋齿作用,可以抑制龋齿主要病原菌生长^[14,18,19],并且对牙周炎具有良好的疗效^[15]。EGCG与牙齿树脂复合材料混合后能抑制变形链球菌粘附于牙本质-树脂界面,并保持该新型粘合剂原始粘合力^[20];对牙龈卟啉单胞菌的MIC为125~500 mg/L,并抑制该菌粘附于口腔上皮细胞^[21]。

2.2 协同抑菌作用

目前,致病菌的耐药性问题日益严峻,解决该问题的关键是找到抗生素替代物或者增敏剂。绿茶提取物能协同多种抗生素,增强其抗菌作用,调节细菌对抗生素的耐药性^[22-24]。100 mg/L绿茶提取物能显著降低表皮葡萄球菌、巨大芽胞杆菌、耻垢分枝杆菌对氨苄青霉素、头孢噻吩、庆大霉素、链霉素等12种常见抗生素的耐药性^[22]。儿茶素类化合物是绿茶提取物的主要成分,其中EGCG的抗菌增敏效果明显。庆大霉素(gentamicin)与EGCG联合使用时,该抗生素对铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌标准菌株的MIC值降低2倍^[8];四环素(tetracycline)与EGCG联合处理的分级抑制浓度指数(fractional inhibitory concentration index, FICI)表明2者存在良好的相加效应^[21];在64~1024 mg/L EGCG干预下,待测菌株在万古霉素作用下的生长受到明显抑制,生长菌落数降低程度随药物浓度的增加而升高^[25]。

儿茶素类化合物与 β -内酰胺类抗生素合用,对抗甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的耐药性调节作用明显^[26-28],其中ECG对该菌株耐药性的调节作用显著高于其它儿茶素,EGCG次之^[28-30]。Hamilton-Miller等^[31]发现绿茶浸出物与甲氧西林、氯唑西林、头孢唑啉等9种抗生素联合使用时,对MRSA产

生协同抗菌作用,并证明儿茶素类化合物是其主要活性成分。Stapleton等^[30]在研究绿茶水浸提物对临床分离的MRSA作用时发现,MIC浓度的ECG、CG与苯唑西林共同作用时,苯唑西林的MIC从256~512 mg/L降到1~4 mg/L。简单儿茶素EC、EGC对MRSA的耐药性虽然没有直接调节作用,但能显著增强ECG与苯唑西林对MRSA的协同抗菌作用^[9,26,29,32]。肖康康等^[32]通过正交实验,获得增强苯唑西林抗MRSA WHO-2菌株的最佳质量配伍比为1:1:1(EC:ECG:EGC),该组合不仅对MRSA WHO-2菌株有效,对25株MRSA临床分离株也具有一定的抗菌增敏作用。

2.3 儿茶素类化合物抑菌作用的构效关系

酯型儿茶素与简单儿茶素的抑菌效果存在显著差异。Kawarai等^[17]观察到阿萨姆红茶相对于日本蒸青绿茶含有更多的酯型儿茶素,前者对突变链球菌的抑菌作用高于后者,并通过儿茶素单体实验,验证了酯型儿茶素是阿萨姆红茶对突变链球菌具有较强抑制作用的原因。张建华等^[33]比较了包括儿茶素、EC、没食子酸、EGCG等对葡萄酒微生物的抑菌活性,发现EGCG对酒球菌、醋酸菌和酵母菌的抑菌能力相对较强,但儿茶素和表儿茶素对2株酒球菌(*Oenococcus oeni* VP41、*O. oeni* OMEGA)没有抑菌作用。

茶叶中儿茶素属于2-苯基苯并吡喃的衍生物,含有A、B和C 3个基本环核。其中,B环上羟基数目、没食子酰基的存在与立体结构决定着儿茶素对脂质层的亲和力,影响其抑菌活性^[34]。Gradišar等^[35]发现,虽然EGC与EC在分子结构上只是在B环上多一个单羟基,但EGC对大肠杆菌DNA回旋酶的抑制效果明显强于EC。EGCG与EC、EGC的抗菌活性存在较大差别,非致病性大肠杆菌K12分别在EC、EGC与EGCG处理下,经过24 h后,细菌数量都出现微小的下降,但EC、EGC处理组在48 h又明显上升,而EGCG处理组显著下降^[36]。Macyama等^[37]认为没食子酰基的有无是造成该现象的原因。

Palacios等^[29]发现在EGCG逐步去除A、B环上羟基的过程中,分子对MRSA的抗菌能力由弱到强,而调节菌体耐 β -内酰胺类抗生素的能力从强到弱。由此可见B环上的酚羟基化程度起着重要作用。三羟基苯也是决定儿茶素类化合物对该耐药性是否具有调节作用的因素,EC与CG没有该基团,故没有调节作用;而EGC与CG具有该基团,有着一定的调节作用;EGCG、ECG分子中的三羟基苯通过酯键与C环相连形成没食子酸酯基,该基团与儿茶酚协同产生明显的调节作用^[30]。

3 儿茶素类化合物抑菌机制研究进展

3.1 改变生物膜特性

3.1.1 儿茶素类化合物增强生物膜的通透性

生物膜是微生物嵌入自身分泌的多糖、蛋白质、核酸

与脂类等胞外聚合物所组成的结构化聚合体,胞外聚合物对生物膜机械稳定性以及黏附性起着非常重要作用^[38]。

儿茶素类化合物能与细胞膜组成成分相互作用,增强细菌细胞膜的通透性,造成细胞内容物渗漏^[39-43],使细胞生理代谢发生紊乱,导致细胞膜破裂甚至细胞死亡。儿茶素类化合物通过羟基结合到突变链球菌菌体表面,在其表面形成一层“外衣”,可促进儿茶素类化合物与细胞膜蛋白质的相互作用,特别是色氨酸残基,从而改变细胞膜特性,影响细胞与基质表面的相互作用^[44]。Caturia等^[45]发现EGCG与磷脂酰乙醇胺在膜水平上存在特定的相互作用,导致大肠杆菌细胞膜发生渗漏,并认为酯型儿茶素在插入脂双层后,扰乱了脂质顺序,促进形成紧凑的酰基链和极性头,显著影响了脂双层的物理性质。Macyama等^[37]用高倍电镜观察到大肠杆菌在EGCG作用下,其菌体胞外聚合物消失。他认为EGCG诱导细胞进入营养匮乏状态,使细胞释放内含各种降解酶的磷脂胞囊,这些酶降解胞外聚合物作为营养碳源,导致细菌最后离开黏附表面。

3.1.2 儿茶素类化合物对细菌生物膜具有选择性

研究发现儿茶素类化合物对革兰氏阴性菌的易感性低于革兰氏阳性菌^[2,46,47]。两者细胞壁结构不同以及儿茶素类化合物的物化特性是产生这一现象的部分原因。革兰氏阳性菌细胞壁结构较简单,含大量的肽聚糖,不含脂多糖。Yoda等^[47]发现EGCG能与肽聚糖直接结合,因此革兰氏阳性菌更容易受到细胞壁的损伤和生物合成的干扰。革兰氏阴性菌中的肽聚糖被含有呈负电荷脂多糖的外膜所覆盖,而EGCG在pH<7时也呈负电荷,故限制了EGCG与肽聚糖的结合,造成对革兰氏阴性菌的易感性降低。由于缺乏其他3种儿茶素与细胞壁成分相互作用的研究报道,儿茶素类化合物对于革兰氏阴性菌和阳性菌易感性不同的原因有待补充。

3.1.3 简单儿茶素与酯型儿茶素抑菌作用存在协同作用

在简单儿茶素的协同作用下,ECG、EGCG等酯型儿茶素更容易造成细胞膜损伤。Palacios等^[29]对探针标记和淬灭数据分析后发现,EC与ECG组合处理时,这2种分子插入人造脂双层的位点与2者单独处理时不同,组合处理下的细胞膜流动性会受到更大影响。Kajiya等^[34]检测到EGCG与ECG作用于脂双层后的荧光强度在EC的作用下明显增强,EC能破坏EGCG、ECG在溶液中形成的聚集体,导致分子更均匀地分散在介质中,使其更容易进入脂双层。

3.2 儿茶素类化合物影响细菌基因表达

儿茶素类化合物对细菌中细胞遗传物质造成损伤,影响细胞代谢。儿茶素类化合物通过结合DNA回旋酶B亚基上的ATP结合位点,从而抑制DNA回旋酶,导致细菌核酸合成受阻^[35]。董璐等^[43]将茶多酚处理后的大肠杆菌DNA进行琼脂糖凝胶电泳,可观察到菌体DNA条带变暗

甚至拖尾,由此可见茶多酚影响了大肠杆菌的遗传物质。钱丽红等^[39]通过对菌体磷代谢的分析,表明茶多酚可通过降低细菌对磷的消耗,阻碍核酸、磷脂的合成并影响糖的代谢。许培仁等^[25]发现 EGCG、ECG 能通过抑制青霉素结合蛋白(penicillin binding protein 2a, PBP2a)的表达从而逆转耐药性耐万古霉素葡萄球菌(h-VRS)的耐药性,EGCG 与 ECG 通过抑制 *mecA* 基因,抑制 PBP2a 的表达,从而逆转 h-VRS 的耐药性。

EGCG 可调控部分相关基因,影响蛋白质表达,阻碍细胞正常生理活动。EGCG 通过下调纤维素/卷曲菌毛的调节子 *CsgD*,抑制调控卷曲菌毛亚基和纤维素的基因 *dgcC* 表达,导致卷曲菌毛纤维和胞外多糖纤维素合成受阻^[48];通过影响 p38 丝裂原活化蛋白激酶依赖通路,诱导抗菌肽 pBD-2 的 mRNA 和蛋白表达,抑制菌体跨过猪空肠上皮细胞 IPEC-J2 屏障易位^[49];通过抑制编码溶血素的基因 *hem* 表达,从而影响牙龈卟啉单胞菌从红细胞中获得血红素,并下调与宿主防御失活、组织损伤、营养获取的相关基因、编码溶血素的基因 *hem* 和宿主侵染基因 *fimA*、*hagA*、*hagB*,上调应激蛋白酶基因 *htrA*^[20]。

3.3 儿茶素类化合物促氧化作用可造成细菌细胞损伤

3.3.1 活性氧造成细胞损伤

分子氧会偶发性地从黄素蛋白的辅酶因子中获得电子,并在细胞内生成活性氧(reactive oxygen species, ROS)。ROS 利用单个铁原子作为催化辅助因子,使许多非氧化还原酶失活,对细胞内生物大分子造成氧化损伤,导致细胞衰老甚至死亡^[50]。Dwyer 等^[51]发现抗生素的抗菌效果在厌氧条件下大大降低,但添加分子氧和电子受体后能增强其抗菌效果。Umezawa 等^[52]通过测定 ROS 水平和 DNA 光断裂活性,证明了新喹诺酮类药物的光毒性与 ROS 引起的 DNA 损伤显著相关,尤其是 O₂。也有人认为抗生素的抑菌作用与 ROS 无关,抗生素在厌氧条件下仍具有明显的抑菌效果^[53,54]。DNA 损伤修复的大肠杆菌突变体对抗生素的敏感性较低,并且缺乏内源性过氧化氢酶和过氧化物酶清除活性的大肠杆菌只对诺氟沙星轻微敏感、对氨苄青霉素或卡那霉素不敏感^[54]。各个实验方案的不同导致细胞所处的微环境大不相同,比如菌体所接触氧气的多少会造成细胞受到氧化应激的大小;测量氧化应激程度的方法存在具有局限性也是造成观点分歧的原因,比如将活性氧荧光探针(hydroxyphenyl fluorescein, HPF)作为 ROS 的特殊荧光染料,硫脲作为 ROS 淬灭剂。

3.3.2 儿茶素类化合物产生活性氧

儿茶素类化合物能在培养基中自动氧化,并生成 H₂O₂、O₂·等 ROS 物质,形成细胞外氧化应激环境^[55-59],并直接提高细胞内 ROS 和线粒体 ROS^[60],或者通过 Fenton 反应间接产生 OH·^[61,62]。氧化应激会导致细胞膜的降解,

也会显著破坏细胞壁和细胞蛋白^[63]。Akagawa 等^[55]测定了富含多酚类的饮料如绿茶、红茶和咖啡中 H₂O₂ 含量,证明 H₂O₂ 水平与这些物质中的多酚含量呈正相关,并检测到儿茶素四单体均能产生 H₂O₂。Long 等^[57]比较了槲皮素、儿茶酚、EGC、EGCG 等酚类物质分别在 RPMI1640、DMEM 与 Mc-Coy5A 3 种培养基中产生的 H₂O₂ 水平,结果表明这些化合物都能在这 3 种培养基中产生 H₂O₂,尤其是 EGC 与 EGCG 能快速大量地产生 H₂O₂。

Arakawa 等研究学者^[56,57,59]认为儿茶素类化合物的抑菌作用归因于产生的 H₂O₂。Arakawa 等^[56]测定了红茶,绿茶和乌龙茶浸出物中 H₂O₂ 的含量以及对多种微生物的抑菌作用,发现 2 者呈正相关。Liu 等^[59]发现弱碱性环境下铜绿假单胞菌易受茶多酚影响,且在处理 10 min 到 1 h 这段时间内, *katB*(过氧化氢酶基因)、*sodM*(过氧化锰歧化酶基因)、*ohr*(过氧化氢抗性蛋白基因)、*lexA*(SOS 调节子阻遏基因)和 *recN*(DNA 修复蛋白基因)显著上调。茶多酚产生的 H₂O₂ 诱导这些基因上调,使得细胞防御抵抗茶多酚引起氧化应激和 DNA 损伤。

3.3.3 内源性氧化应激引起较大氧化损伤

EGCG 造成细胞内源性氧化应激对其抑菌作用影响较大。硫氧还蛋白(thioredoxin, Trx)和硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase, TrxR)是调节细胞内氧化还原平衡的关键^[64],前者可作为多种还原反应的氢供体,如核苷二磷酸变成相应的脱氧产物和光依赖性的还原反应;后者可进一步转化为核糖核苷酸还原的电子供体。Trx/TrxR 活性降低会导致细胞内 ROS 水平增加。Liang 等^[65]利用大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的谷氧还蛋白(glutaredoxin, Grx)突变体证明 Trx 和 TrxR 不仅是绿茶提取物、EGCG 促氧化作用的癌细胞靶点,也是菌体靶点。绿茶提取物、EGCG 都能与 Trx/TrxR 结合导致其活性降低,细胞内 ROS 水平增加,使细胞因胞内氧化应激致死。Xiong 等^[66]发现加入 N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)后,EGCG 对大肠杆菌的抑制效果显著降低,而加过氧化氢酶(catalase, CAT)的实验组与对照组未呈显著差异。CAT 只能清除细胞外的 H₂O₂,而 NAC 能清除细胞内、细胞外所有的 ROS,故 EGCG 通过加剧大肠杆菌内源性氧化应激,从而达到抑菌效果。

4 结 论

本文综述了儿茶素类化合物的抑菌作用、构效关系对抑菌影响以及抑菌研究机制。儿茶素类化合物具有良好的直接抑菌作用,还能与多种抗生素产生协同抑菌作用。儿茶素类化合物的抑菌作用与其构效关系相关。儿茶素类化合物能影响生物膜,控制遗传物质表达,通过促氧化作用造成细胞损伤,从而达到抑菌效果。人们较早发现儿茶素类化合物的抑菌作用并将其应用于食品添加剂与海产品保鲜剂等^[40,67,68]。随着健康意识不断提高,天然食品添加剂

和抗菌药物的任务越来越迫切,儿茶素类化合物抑菌活性的研究将对其研制提供一个重要的方向。

参考文献

- [1] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.
Wan XC. Tea biochemistry [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007.
- [2] Si W, Gong J, Tsao R, *et al.* Bioassay-guided purification and identification of antimicrobial components in Chinese green tea extract [J]. J Chromatogr A, 2006, 1125(2): 204–210.
- [3] 吴林怡. EGCG 在草鱼体内的代谢及其对致病菌抑菌功效[D]. 安徽: 安徽农业大学, 2015.
Wu LY. EGCG in grass carp body metabolism and its bacteriostatic effect on pathogenic bacteria [D]. Anhui: Anhui Agricultural University, 2015.
- [4] 张国鹏, 王远亮. 环境因素对儿茶素抑制 EHEC O157:H7 作用的影响[J]. 农产品加工, 2014(5): 13–15.
Zhang GP, Wang YL. Effects of environmental factors on inhibition of catechin to EHEC O157:H7 [J]. Acad Period Farm Prod Process, 2014(5): 13–15.
- [5] Takabayashi F, Harada N, Yamada M, *et al.* Inhibitory effect of green tea catechins in combination with sucralfate on *Helicobacter pylori* infection in Mongolian gerbils [J]. J Gastroenterol, 2004, 39(1): 61–63.
- [6] Hu Z Q, Zhao W H, Hara Y, *et al.* Epigallocatechin gallate synergy with ampicillin/sulbactam against 28 clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. J Antimicrob Chemother, 2001, 48(3): 361–364.
- [7] Cui Y, Kim S H, Kim H, *et al.* AFM probing the mechanism of synergistic effects of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) with cefotaxime against extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* [J]. PLoS One, 2012, 7(11): e48880.
- [8] Bazzaz B S F, Sarabandi S, Khameneh B, *et al.* Effect of catechins, green tea extract and methylxanthines in combination with gentamicin against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*-combination therapy against resistant bacteria [J]. J Pharm, 2016, 19(4): 312–318.
- [9] Stapleton PD, Shah S, Hara Y, *et al.* Potentiation of catechin gallate-mediated sensitization of *Staphylococcus aureus* to oxacillin by nongalloylated catechins [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(2): 752–755.
- [10] 王岳飞. 茶多酚(TP)对细菌的抑制作用[J]. 茶叶, 1994(3): 37–41.
Wang YF. Inhibitory effect of tea polyphenols on bacteria [J]. J Tea, 1994(3): 37–41.
- [11] 曾亮. 儿茶素对鸭肉保鲜和对肉鸭生长的影响及其机理研究[D]. 湖南: 湖南农业大学, 2007.
Zeng L. Effects of catechins on keeping fresh of duck meat and growth of duck and action mechanism [J]. Hunan: Hunan Agricultural University, 2007.
- [12] Park BJ, Park JC, Taguchi H, *et al.* Antifungal susceptibility of epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) on clinical isolates of pathogenic yeasts [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 347(2): 401–405.
- [13] 李东风, 卢衡, 周旸. 抗菌剂壳寡糖、儿茶素和纳米氧化锌对冻干前处理古木微生物作用的研究[J]. 文物保护与考古科学, 2010, 22(1): 60–64.
Li DF, Lu H, Zhou Y. Research on the antimicrobial effect of catechin, chitooligo saccharide and zinc oxide nanoparticles on freezing-dehydration pre-treated ancient timber [J]. Sci Conserv Archaeol, 2010, 22(1): 60–64.
- [14] Lombardo BT, Morin MP, Palomari SD, *et al.* Black tea extract and its theaflavin derivatives inhibit the growth of periodontopathogens and modulate interleukin-8 and beta-defensin secretion in oral epithelial cells [J]. PLoS One, 2015, 10(11): e143158.
- [15] Cho AR, Kim JH, Lee DE, *et al.* The effect of orally administered epigallocatechin-3-gallate on ligature-induced periodontitis in rats [J]. J Period Res, 2013, 48(6): 781–9.
- [16] Rassameemasmaung S, Phusudsawang P, Sangalungkarn V. Effect of green tea mouthwash on oral malodor [J]. ISRN Prev Med, 2013, 2013: 975148.
- [17] Kawarai T, Narisawa N, Yoneda S, *et al.* Inhibition of *Streptococcus* mutans biofilm formation using extracts from Assam tea compared to green tea [J]. Arch Oral Biol, 2016, 68: 73–82.
- [18] Xu X, Zhou XD, Wu CD. Tea catechin epigallocatechin gallate inhibits *Streptococcus* mutans biofilm formation by suppressing *gtf* genes [J]. Arch Oral Biol, 2012, 57(6): 678–683.
- [19] Xu X, Zhou XD, Wu CD. The tea catechin epigallocatechin gallate suppresses cariogenic virulence factors of *Streptococcus* mutans [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(3): 1229–1236.
- [20] Yu H, Zhang L, Yu F, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate and epigallocatechin-3-O-(3-O-methyl)-gallate enhance the bonding stability of an etch-and-rinse adhesive to dentin [J]. Materials, 2017, 10(2): 183.
- [21] Fournier-Larente J, Morin M, Grenier D. Green tea catechins potentiate the effect of antibiotics and modulate adherence and gene expression in *Porphyromonas gingivalis* [J]. Arch Oral Biol, 2016, 65: 35–43.
- [22] Haghighi B, Lee LH, Habiba U, *et al.* The synergistic effects of green tea polyphenols and antibiotics against potential pathogens [J]. Adv Biosci Biotechnol, 2013, 04(11): 959–967.
- [23] Passat DN. Interactions of black and green tea water extracts with antibiotics activity in local urinary isolated *Escherichia coli* [J]. J Al-Nahrain Univ, 2012, 15(3): 134–142.
- [24] Aboulmagd E, Al-Mohamme HI, Al-Badry S. Synergism and postantibiotic effect of green tea extract and imipenem against methicillin-resistant [J]. Microbiol J, 2011, 1(3): 89–96.
- [25] 许培仁, 王亚强, 刘强, 等. EGCG、ECG 对异质性耐万古霉素球菌抗药性的逆转作用研究[J]. 中国抗生素杂志, 2013(1): 68–72.
Xu PR, Wang YQ, Liu Q, *et al.* Reverse effect of EGCG, ECG on antibiotic resistance of heterogeneous vancomycin-resistant *Staphylococcus* [J]. Chin J Antibiot, 2013(1): 68–72.
- [26] 华德兴, 彭青, 曾香连, 等. 绿茶及其提取物抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌作用研究[J]. 中国抗生素杂志, 2010(3): 228–233.
Hua DX, Peng Q, Zeng XL, *et al.* Progress of green tea antibacterial activity and mechanism against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Chin J Antibiot, 2010(3): 228–233.
- [27] 刘强, 王亚强, 许培仁, 等. 儿茶素类对 h-VRS 的体外抗菌活性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2011(7): 557–561.
Liu Q, Wang YQ, Xu PR, *et al.* Study on the antibacterial activity of catechins against the heterogeneous vancomycin resistant *Staphylococcus* [J]. Chin J Antibiot, 2011(7): 557–561.
- [28] 刘瑜新, 康文艺, 许培仁, 等. ECG 和 EGCG 对 h-VRSA 感染小鼠体内抗菌作用研究[J]. 国外医药(抗生素分册), 2012(6): 258–260.

- Liu Q, Wang YQ, Xu PR, *et al.* Study on the antibacterial activity of catechins against the heterogeneous vancomycin resistant *Staphylococcus* [J]. *Chin J Antibiot*, 2011(07): 557–561.
- [29] Palacios L, Rosado H, Micol V, *et al.* Staphylococcal phenotypes induced by naturally occurring and synthetic membrane-interactive polyphenolic beta-lactam resistance modifiers [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93830.
- [30] Stapleton PD, Shah S, Anderson JC, *et al.* Modulation of β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2004, 23(5): 462–467.
- [31] Hamilton-Miller JMT. Antibacterial agent containing tea extract or active fraction thereof and β -lactam antibiotic: US, US5879683 [P]. 1999.
- [32] 肖康康, 覃容欣, 李斌, 等. 儿茶素类化合物增强 β -内酰胺类抗生素抗MRSA的作用[J]. *中国抗生素杂志*, 2012(5): 397–404.
- Xiao KK, Qin RX, Li B, *et al.* The enhanced anti-MRSA effect by catechins on β -lactam antibiotics [J]. *Chin J Antibiot*, 2012(05): 397–404.
- [33] 张建华, 李敏, 张波, 等. 8种单体多酚对葡萄酒微生物的抑菌活性比较[J]. *食品与发酵工业*, 2016(7): 101–106.
- Zhang JH, Li M, Zhang B, *et al.* Comparison on antibacterial activities of 8 polyphenols in wine microorganisms [J]. *Food Ferment Ind*, 2016(07): 101–106.
- [34] Kajiya K, Kumazawa S, Nakayama T. Effects of external factors on the interaction of tea catechins with lipid bilayers [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2002, 66(11): 2330–2335.
- [35] Gradišar H, Pristovšek P, Plaper A, *et al.* Green tea catechins inhibit bacterial DNA gyrase by interaction with its ATP binding site [J]. *J Med Chem*, 2007, 50(2): 264–271.
- [36] Amarowicz R, Pegg RB, Bautista DA. Antibacterial activity of green tea polyphenols against *Escherichia coli* K 12 [J]. *Nahrung*, 2000, 44(1): 60–62.
- [37] Maeyama R, Kwon I K, Mizunoe Y, *et al.* Novel bactericidal surface: Catechin-loaded surface-erodible polymer prevents biofilm formation [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2005, 75(1): 146–155.
- [38] Wingender J, Flemming HC. Autoaggregation of microorganisms: Floes and biofilms [M]. Weinheim: Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008.
- [39] 钱丽红, 陶妍, 谢晶. 茶多酚对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的抑菌机理[J]. *微生物学通报*, 2010(11): 1628–1633.
- Qian LH, Tao Y, Xie J. Antimicrobial mechanisms of tea polyphenol against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Microbiol China*, 2010(11): 1628–1633.
- [40] 仪淑敏. 茶多酚对鱼糜制品的冷藏保鲜作用及抑菌机理[D]. 浙江: 浙江工商大学, 2011.
- Yi SM. Effect of tea polyphenols on quality of chilling fish surimi products and antibacterial mechanism [D]. Zhejiang: Zhejiang Gongshang University, 2011.
- [41] 王慧敏, 朱军莉, 陆海霞, 等. 茶多酚抑制腐败希瓦氏菌机理研究[J]. *茶叶科学*, 2014(2): 149–155.
- Wang HM, Zhu JL, Lu HX, *et al.* The antimicrobial mechanism of tea polyphenols against *Shewanella putrefaciens* [J]. *J Tea Sci*, 2014(2): 149–155.
- [42] 曾亮, 黄建安, 李赤翎, 等. 儿茶素的抑菌效果及机理研究[J]. *食品工业科技*, 2009(5): 89–92.
- Zeng L, Huang JA, Li CX, *et al.* Research on the bacteriostatic activity and mechanism of catechin [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2009(5): 89–92.
- [43] 董璐, 代增英, 韩晴, 等. 茶多酚对大肠杆菌抑菌机理的研究[J]. *生物学杂志*, 2015(1): 72–75.
- Dong L, Dai ZY, Han Q, *et al.* Research on the antibacterial mechanism of tea polyphenols on *Escherichia coli* [J]. *J Biol*, 2015(1): 72–75.
- [44] Wang Y, Lee SM, Dykes GA. Potential mechanisms for the effects of tea extracts on the attachment, biofilm formation and cell size of *Streptococcus mutans* [J]. *Biofouling*, 2013, 29(3): 307–318.
- [45] Caturla N, Vera-Samper E, Villalain J, *et al.* The relationship between the antioxidant and the antibacterial properties of galloylated catechins and the structure of phospholipid model membranes [J]. *Free Radic Biol Med*, 2003, 34(6): 648–662.
- [46] Yam T S, Shah S, Hamilton-Miller J M T. Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components [J]. *Fems Microbiol Lett*, 1997, 152(1): 169–174.
- [47] Yoda Y, Hu Z, Zhao W, *et al.* Different susceptibilities of *Staphylococcus* and *Gram-negative* rods to epigallocatechin gallate [J]. *J Infect Chemother*, 2004, 10(1): 55–58.
- [48] Serra DO, Mika F, Richter AM, *et al.* The green tea polyphenol EGCG inhibits *E. coli* biofilm formation by impairing amyloid curli fibre assembly and down-regulating the biofilm regulator CsgD via the $\sigma(E)$ -dependent sRNA RybB [J]. *Mol Microbiol*, 2016, 101(1): 136–151.
- [49] Wan MLY, Ling KH, Wang MF, *et al.* Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate improves epithelial barrier function by inducing the production of antimicrobial peptide pBD-1 and pBD-2 in monolayers of porcine intestinal epithelial IPEC-J2 cells [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2016, 60(5): 1048–1058.
- [50] Imlay JA. The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: Lessons from a model bacterium [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11(7): 443–454.
- [51] Dwyer DJ, Belenky PA, Yang JH, *et al.* Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of their lethality [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(20): E2100–E2109.
- [52] Umezawa N, Arakane K, Ryu A, *et al.* Participation of reactive oxygen species in phototoxicity induced by quinolone antibacterial agents [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1997, 342(2): 275–281.
- [53] Keren I, Wu Y, Inocencio J, *et al.* Killing by bactericidal antibiotics does not depend on reactive oxygen species [J]. *Science*, 2013, 339(6124): 1213–1216.
- [54] Liu Y, Imlay JA. Cell death from antibiotics without the involvement of reactive oxygen species [J]. *Science*, 2013, 339(6124): 1210–1213.
- [55] Akagawa M, Shigemitsu T, Suyama K. Production of hydrogen peroxide by polyphenols and polyphenol-rich beverages under quasi-physiological conditions [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2003, 67(12): 2632–2640.
- [56] Arakawa H, Maeda M, Okubo S, *et al.* Role of hydrogen peroxide in bactericidal action of catechin [J]. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27(3): 277–281.
- [57] Long LH, Clement MV, Halliwell B. Artifacts in cell culture: rapid generation of hydrogen peroxide on addition of (-)-epigallocatechin, (-)-epigallocatechin gallate, (+)-catechin, and quercetin to commonly used cell culture media [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 273(1): 50–53.
- [58] Long LH, Kirkland D, Whitwell J, *et al.* Different cytotoxic and clastogenic effects of epigallocatechin gallate in various cell-culture media due to variable rates of its oxidation in the culture medium [J]. *Mutat Res*,

- 2007, 634(1-2): 177-183.
- [59] Liu X, Li J, Wang Y, *et al.* Green tea polyphenols function as prooxidants to inhibit *Pseudomonas aeruginosa* and induce the expression of oxidative stress-related genes [J]. *Folia Microbiol (Praha)*, 2013, 58(3): 211-217.
- [60] Kim HS, Quon MJ, Kim JA. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties: Lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate [J]. *Redox Biol*, 2014, 2: 187-195.
- [61] Rojkind M, Dominguezrosales JA, Nieto N, *et al.* Role of hydrogen peroxide and oxidative stress in healing responses [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2002, 59(11): 1872-1891.
- [62] Akagawa M, Suyama K. Oxidative deamination by hydrogen peroxide in the presence of metals [J]. *Free Radical Res*, 2002, 36(1): 13.
- [63] Cabisco E, Tamarit J, Ros J. Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species [J]. *Int Microbiol*, 2000, 3(3): 8.
- [64] Zhang H, Cao D, Cui W, *et al.* Molecular bases of thioredoxin and thioredoxin reductase-mediated prooxidant actions of (-)-epigallocatechin-3-gallate [J]. *Free Radical Biol Med*, 2010, 49(12): 2010-2018.
- [65] Liang W, Fernandes A P, Holmgren A, *et al.* Bacterial thioredoxin and thioredoxin reductase as mediators for epigallocatechin 3-gallate-induced antimicrobial action [J]. *FEBS J*, 2016, 283(3): 446-458.
- [66] Xiong L, Chen Y, Tong J, *et al.* Tea polyphenol epigallocatechin gallate inhibits *Escherichia coli* by increasing endogenous oxidative stress [J]. *Food Chem*, 2017, 217: 196-204.
- [67] 杜荣茂, 刘梅森, 何唯平. 天然功能性食品添加剂茶多酚[J]. 中国食品添加剂, 2004(2): 56-60.
- Du RM, Liu MS, He WP. Natural and functional food additive-tea polyphenol [J]. *China Food Addit*, 2004(2): 56-60.
- [68] 茅林春, 段道富, 许勇泉, 等. 茶多酚对微冻鲫鱼的保鲜作用[J]. 中国食品学报, 2006, 6(4): 106-110.
- Mao LC, Duan DF, Xu YQ, *et al.* Effects of tea polyphenols on fresh-keeping of partial-frozen crucian (*Carassius Auratus*) [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2006, 6(4): 106-110.

(责任编辑: 姜 姗)

作者简介



陈书媛, 主要研究方向为茶叶功能成分化学研究。
E-mail: 584533826@qq.com



龚雨顺, 博士, 教授, 主要研究方向为茶叶功能成分化学研究。
E-mail: gongyushun@hunau.net