

表没食子儿茶素没食子酸酯纳米化研究进展

徐瓦珍^{1,2}, 刘昌伟^{1,2}, 王阔飞^{1,2}, 胡腾飞^{1,2}, 黄建安^{1,2,3,4*}, 刘仲华^{1,2,3,4*}

(1. 湖南农业大学茶学教育部重点实验室, 长沙 410128; 2. 国家植物功能成分利用工程技术研究中心, 长沙 410128; 3. 植物功能成分利用省部共建协同创新中心, 长沙 410128; 4. 农业农村部园艺作物基因资源评价利用重点实验室, 长沙 410128)

摘 要: 表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)是茶叶中的主要活性成分, 具有抗炎、抗氧化等诸多生物活性。然而, 体内、体外实验结果与流行病学研究存在较大差异, 主要原因是 EGCG 不稳定、生物利用度低。EGCG 口服后只有极少数能被肠道所吸收, 难以发挥其药理特性。随着科技的发展, 科学家们发现纳米化技术能够提高 EGCG 稳定性, 改善 EGCG 生物利用度。还能够在纳米颗粒上添加靶向分子, 使其能定向输送到特定部位, 提高 EGCG 药理特性。纳米化 EGCG 在食品、医药领域具有广阔前景。碳水化合物、脂质和蛋白质等经过纳米化处理后可以作为包裹 EGCG 的材料。但是目前关于纳米化 EGCG 的研究主要集中在体内体外的实验, 缺少临床数据支撑, 还需要对其安全性和药代动力学等进一步补充和深入研究。因此, 本文综述了 EGCG 吸收、代谢及纳米化 EGCG 研究进展, 以期为 EGCG 进一步的开发利用提供借鉴。

关键词: 纳米包埋; 表没食子儿茶素没食子酸酯; 生物利用度; 抗氧化活性; 聚合纳米载体

Advances in epigallocatechin gallate nanotechnology

XU Wa-Zhen^{1,2}, LIU Chang-Wei^{1,2}, WANG Kuo-Fei^{1,2}, HU Teng-Fei^{1,2},
HUANG Jian-An^{1,2,3,4*}, LIU Zhong-Hua^{1,2,3,4*}

(1. Key Laboratory of Tea Science of Ministry of Education, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Functional Ingredients from Botanicals, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 3. Hunan Co-innovation Center for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha 410128, China; 4. Key Laboratory for Evaluation and Utilization of Gene Resources of Horticultural Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of China, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

ABSTRACT: Epigallocatechin gallate (EGCG) is the main active ingredients in tea, which has many biological activities, such as anti-inflammation, anti-oxidation and so on. However, there are significant differences between the

基金项目: 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-23)、茶叶功能成分优异资源高效利用技术研究项目(湘财农指202115 号)、天然产物高效提制与健康功能产品开发专利技术转化及产业化培育项目(长知发[2020]61 号)、茉莉花茶加工关键技术创新与示范项目(2020NK2026)

Fund: Supported by the National Modern Agricultural Industrial Technology System of the Ministry of Finance and Ministry of Agriculture and Rural Affairs (CARS-23), the Research on Tea Functional Components and Efficient Utilization Technology of Resources (Xiangcainongzhi No.202115), the Efficient Extraction of Natural Products, Patented Technology Transformation for Health Function Product Development and Industrialization Cultivation Projects (Changzhifa, No.[2020]61), and the Key Technological Innovation and Demonstration Project of Jasmine Tea Processing (2020NK2026)

*通信作者: 黄建安, 博士, 教授, 主要研究方向为茶叶加工与品质化学。E-mail: Jian7513@hunau.edu.cn

刘仲华, 博士, 院士, 主要研究方向为茶叶深加工及功能成分化学、茶与健康。E-mail: zhonghua-liu-ms@hunau.edu.cn

*Corresponding author: HUANG Jian-An, Ph.D, Professor, Key Laboratory of Tea Science of Ministry of Education, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China. E-mail: Jian7513@hunau.edu.cn

LIU Zhong-Hua, Ph.D, Academician, Key Laboratory of Tea Science of Ministry of Education, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China. E-mail: zhonghua-liu-ms@hunau.edu.cn

in vivo and *in vitro* results and the epidemiological studies, mainly due to the instability and low bioavailability of EGCG. Only a few of EGCG can be absorbed by the intestine after oral administration, which makes it difficult to exert its pharmacological properties. Many defects of EGCG have seriously hindered the development of pharmaceutical and dietary products related to EGCG. With the development of science and technology, scientists have found that nanotechnology can improve the stability of EGCG and improve the bioavailability of EGCG. In addition, targeting molecules can be added to the nanoparticles so that they can be delivered to specific sites and improve the pharmacological properties of EGCG. Nano-EGCG has broad prospects in the field of food and medicine. After nanocrystallization, carbohydrates, lipids and proteins can be used as EGCG-coated materials. However, at present, the research on nanocrystalline EGCG is mainly focused on *in vivo* and *in vitro* experiments, and lack of clinical data to support. Further studies are needed on its safety and pharmacokinetics. Therefore, this paper reviewed the research progress of EGCG absorption, metabolism and nanocrystalline EGCG, in order to provide references for the further development and utilization of EGCG.

KEY WORDS: nano-embedding; epigallocatechin gallate; bioavailability; antioxidant activity; polymerization of nanocarriers

0 引言

茶是一种饮用历史悠久的饮料,具有多种健康功效,而表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)是绿茶中的主要活性成分,具有巨大的研究价值。诸多研究表明,EGCG 具有优异的抗氧化活性^[1],并对基因表达^[2]、信号传导^[3]及其他细胞功能^[4]具有良好的作用。同时,EGCG 的健康益处已能够通过许多潜在的机制解释清楚,例如抗氧化活性^[1]、抑制脂肪细胞分化^[5]、诱导肿瘤凋亡^[6]等,使得 EGCG 有潜力成为治疗一些疾病的替代疗法。然而,EGCG 稳定性差、肠道吸收率低和生物利用度低等缺陷限制了其在预防和治疗某些疾病中的运用^[7]。

体外研究发现,EGCG 的浓度在 5~200 $\mu\text{mol/L}$ (或者 2~92 $\mu\text{g/mL}$)时对多种癌细胞有抑制作用,但是在人和动物细胞中,EGCG 的生物利用度显著低于体外实验的有效浓度,导致口服 EGCG 的效果有限^[8]。由于在胃肠道中的稳定性差和有限的膜渗透性,其治疗功效受到口服给药后吸收差的限制,主要原因包括吸收效率低、药代动力学和生物利用度差^[9],即使通过静脉注射,EGCG 在到达目标组织之前也会发生降解。除此之外,EGCG 的作用是依赖剂量的,而且 EGCG 的血浆半衰期较短,在高剂量的情况下才能达到预期效果,但是高剂量的 EGCG 会产生毒性和副作用^[10]。因此,提高 EGCG 的稳定性和生物利用度已成为有效利用 EGCG 的难题和亟待解决的问题。

纳米包埋是指运用纳米技术制备的粒径小于 100 nm 纳米颗粒包裹药物或者活性成分制作成纳米颗粒的过程。纳米材料的包埋使得 EGCG 稳定性显著增强,生物利用度大幅提高,还能够将 EGCG 靶向运输到病变组织,更加合理高效地预防和治疗疾病。纳米化包埋是高效利用 EGCG

的有效手段,而且有望减少不良反应和毒副作用,为医药现代化的发展提供新的研究思路与方法。但纳米化 EGCG 目前还停留在实验阶段,仍有诸多缺陷。因此,本文全面综述了纳米化 EGCG 原理、相关特性及目前存在的问题,以期 EGCG 的高效利用提供借鉴。

1 EGCG 理化特性

儿茶素是茶树[*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]的主要次级代谢产物,约占茶叶干重的 12%~24%^[11]。EGCG 属于儿茶素类物质(图 1),包含 3 个基本环,3 个环上含有较多的酚羟基(-OH),这一结构决定了其独特的化学性质,如能与蛋白质、生物碱、多糖等结合。这些化学性质使得 EGCG 具有优异的生物活性,如抑菌、抗炎、抗病毒、抗氧化、防癌抗癌、保护神经系统等^[12-16]。因此,EGCG 在功能性食品、化妆品和药物开发领域受到广泛关注。

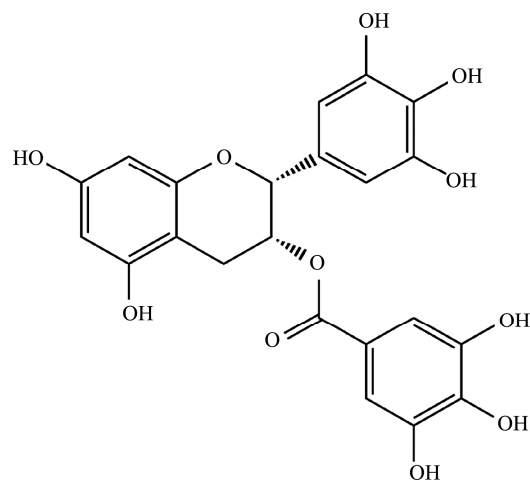


图 1 EGCG 结构图

Fig.1 EGCG structure diagram

1.1 EGCG 的代谢和生物利用度

EGCG 具有多个酚羟基,还原性强,易发生氧化、聚合反应。EGCG 在体内的消化过程主要分为 4 步:吸收、扩散、代谢和排泄^[17]。EGCG 经口服后通过食道进入胃和小肠,EGCG 在酸性胃液中,结构不会受影响,可以顺利进入小肠,绝大部分通过小肠进入到大肠,经历肠道微生物群的代谢^[8]。一小部分通过小肠黏膜进入血液,因此血液中 EGCG 的浓度很低,血液将其运输至全身后,会在肝脏中相关酶的作用下进行多种代谢反应,例如甲基化反应、硫酸盐化反应、葡萄糖醛酸化反应,转化为各种代谢物输送到全身各个组织器官发挥作用,最后其代谢物经尿液或粪便排出体外^[18-19]。除此之外,有实验表明,EGCG 还可通过血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)进入大脑,可以促进神经元的产生,并对神经性疾病发挥作用^[20]。相关研究者统计了包括 EGCG 在内的茶多酚在体内各器官和组织的分布大致可分为:肾>脑>肺>心>脾>肝^[21]。

早年研究显示,禁食大鼠单次口服 56 mg EGCG 后,其血浆中 EGCG 的最大浓度为 1047 ng/mL(约为摄入量 EGCG 的 0.012%),禁食的人单次口服 97 mg EGCG,血浆中 EGCG 的最大浓度为 156 ng/mL(约为摄入量 EGCG 的 0.32%)^[22]。由此可知,EGCG 的生物利用度较差,口服之后被吸收进入血液中的占比很少,而且还有可能出现外排现象^[23]。在体内代谢过程中,化学降解、微生物代谢、肠和肝代谢膜通透性和转运介质在内的许多过程都可能影响 EGCG 的生物利用度。剂量反应关系、EGCG 间的相互作用、重复多次摄取 EGCG 等也会对 EGCG 的生物利用度有影响^[24]。

1.2 EGCG 的安全性

尽管 EGCG 是茶叶中天然存在的一类植物化学物质,来源安全,可生物降解,表现出多种生理活性,但活性强弱与其所使用的剂量高低有关,要取得良好效果往往依赖于高剂量的使用^[25-26],而高剂量的使用则会引发一系列的毒副反应。临床研究发现,绿茶多酚的毒副症状包括:肝毒性、恶心、失眠、腹痛和腹泻等^[27-29]。

高剂量的 EGCG 会造成各种类型的细胞损害及增加促炎性代谢产物的积累,进而引起肝损伤^[30]。相关药理学研究报道显示,连续 6 周在小鼠的饮食中加入 1% 的 EGCG,小鼠脾脏中会出现许多致炎物,如白细胞介素、肿瘤坏死因子和前列腺素等,还会对免疫细胞造成干扰^[31]。欧洲食品安全局的临床试验同样显示,EGCG 摄入剂量超过 800 mg/d 时,受试者的血清转氨酶会出现显著增加^[32]。

尽管高剂量的儿茶素表现出毒性,但当茶作为饮料被日常饮用时,并未出现临床毒性的报告。因此,在使用含 EGCG 作为药品或者膳食补充剂时,建议在专业医护人员的建议和监督下服用。在实际应用中,EGCG 的效应剂量

会出现接近或高于毒性剂量的情况,这就提示在关注 EGCG 生物效应的同时,也应注意其潜在毒性,从而更好地指导 EGCG 安全应用。

2 纳米 EGCG 改善生物利用度机制

纳米材料空间尺寸为 1~100 nm,是具有至少一个纳米级尺寸的材料。由于其在空间尺寸上的特殊性,拥有不同于宏观材料的特性,如表面效应、小尺寸效应等^[33]。由于其较高的表面积与体积之比,它们具有不同于常规材料的化学、物理和生物学特性^[34]。纳米材料的多功能性使其成为极好的药物载体^[35]。另外,纳米载体可以改变某些药物的药代动力学性质^[36]和稳定性^[20]。EGCG 尤其是如此,其在肠道中不稳定,对氧气、pH 变化、金属离子和其他压力因素等环境条件高度敏感^[37],这使得 EGCG 的生物利用度极低。纳米化包埋可显著提升 EGCG 稳定性,改善 EGCG 的生物利用度^[21]。目前有多种用于 EGCG 递送的纳米系统,如脂质纳米颗粒、碳水化合物纳米载体、金纳米材料、蛋白质纳米载体和聚合纳米颗粒等^[10],其中,脂质和聚合物纳米载体是使用较为广泛的 EGCG 的递送物质。

体外研究表明,大多数纳米颗粒可改善 EGCG 的稳定性。在模拟胃肠道中,壳聚糖可以与 EGCG 之间相互作用形成稳定的聚电解质颗粒,抵御不良 pH 环境,从而克服了 EGCG 的不良胃肠道稳定性^[38]。此外,相关实验表明,纳米化 EGCG 会暂时打开 Caco-2 细胞之间的紧密连接,从而促进 EGCG 在细胞间的运输^[39]。大多数纳米载体可以直接进入肠道细胞内部,如壳聚糖可以通过网格蛋白介导的内吞作用、胞膜窖介导的内吞作用或者大胞饮作用等方式直接进入小肠细胞^[40],从而使 EGCG 免于接触肠道环境。负载在脂质上的 EGCG 相较于游离 EGCG 表现出更好的稳定性和渗透性,纳米脂质体可以将疏水性营养物质包裹在脂质双层中,提高 EGCG 的稳定性,减少胃肠道酶和酸对 EGCG 的损害。脂质体由于其特殊的脂质结构,容易与肠黏膜细胞融合,吸收和交换脂质,使包裹的营养物质容易进入体内,另外,纳米化 EGCG 相比游离 EGCG 更加稳定^[41]。

总之,纳米颗粒可以保护 EGCG 免受不利的环境条件的影响,延迟其在体液环境中的降解并增强渗透性,使其易于穿透各种障碍物到达靶器官,从而提高 EGCG 的生物利用度并改善 EGCG 可控释放的能力^[42](图 2)。

3 纳米化 EGCG 种类及生物特性

3.1 蛋白载体

蛋白质因其固有的物理功能(乳化、凝胶化、和水结合能力等)而使其在化工行业拥有极大的发展前景。蛋白质良好的生物相容性和体内可降解特性在形成包裹系统方面

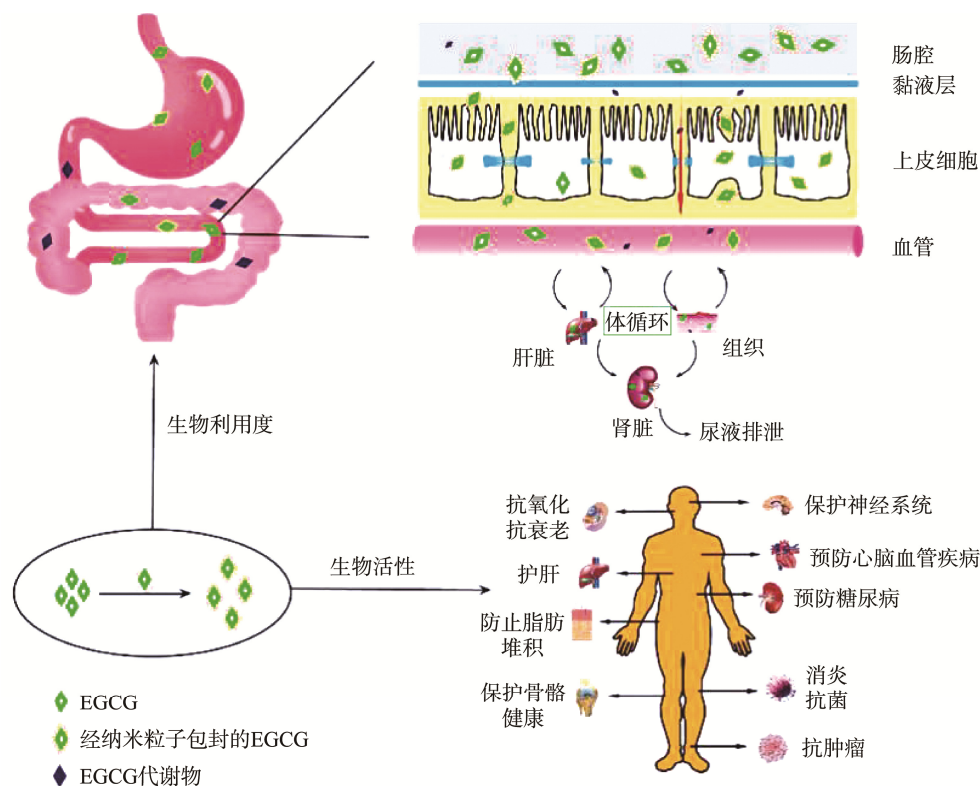


图 2 纳米化 EGCG 的生物活性和作用机制

Fig.2 Bioactivity and mechanism of action of nanocrystalline EGCG

尤为重要^[43]。牛血清白蛋白、乳铁蛋白、酪蛋白、 β -乳球蛋白及玉米醇溶蛋白(zein, ZP)是较为常用的载体蛋白。这些蛋白纳米材料具有更长的半衰期^[44]、更好的皮肤渗透性^[45]、更高的靶向性和对癌细胞的生长抑制能力^[46-47]。

EGCG 与蛋白质之间形成的共价键可以增强 EGCG 在恶劣环境中的稳定性,并减缓 EGCG 的释放^[21],这也使得 EGCG 蛋白质纳米粒子在消化道环境中留存更久。ZP 近年来已成为最常用的功能性成分传递系统之一^[48],它不仅成分天然、可降解和来源安全,而且还能物理包裹大量疏水化合物。DONSÌ 等^[48]在模拟消化实验中,将裸露的 EGCG 和包裹在 ZP 颗粒中的 EGCG 放置在模拟胃液(simulated gastric fluid, SGF, 盐酸溶液, pH 1.2)和模拟肠液(simulated intestinal fluid, SIF, 磷酸盐缓冲液, pH 7.4)的环境中孵化。ZP 胶体颗粒的平均粒径约为 100 nm,结果显示,EGCG-ZP 粒子相较于游离 EGCG 在模拟胃液和模拟肠液的情况下释放更慢,可以更好地保护 EGCG 免受消化液的降解。类似的,包裹在纳米化大麦醇溶蛋白中的 EGCG 的抗氧化活性、储存稳定性也均有所增强,比较其与游离 EGCG 在模拟肠液中的释放速率发现,其稳定性可分别提高 1.31 倍(4°C)和 1.52 倍(25°C)^[49]。

除此之外,蛋白质纳米颗粒还可调节 EGCG 的功能,例如,提高其抗氧化活性、加快脂肪的消化速度等。酪蛋白、乳清蛋白、大豆蛋白和米糠蛋白等牛奶蛋白同样是传

递 EGCG 的良好载体。这些载体均可通过增强控释性保护 EGCG 免受降解,大大增强 EGCG 生物利用度^[50-52]。

3.2 碳水化合物载体

碳水化合物的递送系统包括壳聚糖、纤维素聚合物、淀粉材料和海藻酸钠等。由于其生物相容性和无毒的特性^[10],可被用作 EGCG 的载体。其中壳聚糖是较为常用的纳米载体。胡冰^[53]详细阐明了壳聚糖作为纳米载体时提高药物渗透性的机制并且相关体外实验预测了壳聚糖-酪蛋白磷酸肽(chitosan-casein phosphopeptides, CS-CPP)对于 EGCG 渗透性的影响。结果显示,壳聚糖纳米颗粒能够与肠道细胞膜相互作用,打开细胞间的通道,可以使 EGCG 通过此通道进入细胞。除此之外,壳聚糖纳米颗粒也可以通过胞吞作用进入肠道细胞。由此可见,壳聚糖纳米载体有助于水溶性且肠道吸收差的物质如 EGCG 进入肠道细胞,从而提高其生物利用度。研究还提及在 CS/CPP 的质量比和 pH 适合的情况下,CS-CPP 的包封率最高可达 81.7%,包封之后的 EGCG 其渗透性与包封率成正比^[53]。Caco-2 单层细胞膜渗透性实验结果显示,游离 EGCG 细胞膜渗透速率(P_{app})在 30 min 之后急剧降低,90 min 之后停止^[53],而 CS-CPP 包封后的 EGCG 在 90 min 之后 P_{app} 仍然处于较高水平,许多研究也有类似结论^[54-57]。

在这项研究中,黏膜粘着的季铵壳聚糖被合成并与

岩藻依聚糖(或解聚的低分子量岩藻依聚糖)结合以制备载有 EGCG 的纳米颗粒, 该颗粒将 EGCG 的释放延长了 300 min, 该纳米颗粒还可保护 EGCG 免受磷酸盐缓冲液 (pH 6.8) 的降解^[58]。另外, ROCHA 等^[59]也探索了海藻酸盐和壳聚糖的比例对于 EGCG 的包封率和自由基清除效率的影响, 发现当海藻酸盐和壳聚糖被压制 3 次后制得的纳米颗粒尺寸很小(293 nm), 当 EGCG 浓度为 100 mg/g 时, 包封率可达 80.1%, 上述方法制得的海藻酸钠-壳聚糖纳米粒子不仅对 ECCG 有较强的包封性, 而且在 pH 2.6 时, 对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)的清除活性可达 81.8%。

3.3 脂质载体

脂质纳米颗粒是由脂质基质组成。脂质纳米载体至少包括 3 个组分, 即疏水脂质相、乳化剂和亲水水相。脂质纳米载体主要有固体脂质纳米颗粒(solid lipid nanoparticles, SLN)和纳米结构脂质载体(nanostructured lipid carriers, NLC)两种类型^[7,60]。有研究显示, SLN 和 NLC 对 EGCG 的封装效率分别为 80%和 90%^[61]。脂质纳米颗粒已经用于增强 EGCG 在生理环境中的稳定性, 用以促进化合物的持续释放及改善其口服生物利用度。RASIKI 等^[60]利用 SLN 作为 EGCG 的运载工具, EGCG-SLN 在体外试验中显示, SLN 包被的 EGCG 能促进乳腺癌细胞(MDA-MB-231)和前列腺癌细胞(DU-145)凋亡, 其效果分别是游离 EGCG 的 8.1 倍和 3.8 倍。

胆固醇运载的 EGCG 可以发挥不同的生物活性, 如抗菌性、抑制癌细胞生长、提高生物利用度等^[10,62]。GHARIB 等^[63]合成卵磷脂和胆固醇负载 EGCG 的纳米脂质体, 并研究了它们对耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的抑制作用, 金黄色葡萄球菌是烧伤伤口感染的常见原因。结果表明, 与游离 EGCG 相比, 脂质体包裹的 EGCG 抗 MRSA 感染的效果相比游离 EGCG 更强。由磷脂酰胆碱和胆固醇制成的合成脂质体, 在胃液条件下表现出高稳定性, 损耗率仅为 20%, 在肠液中略高, 约为 40%。另外, 高浓度的该试剂对肿瘤细胞有明显抑制作用。

3.4 金属纳米载体

金属纳米颗粒, 包括金、银、氧化钛、铜、钡、氧化锌和铂纳米颗粒。其中, 金纳米颗粒与银纳米颗粒的研究较为广泛^[64], 金、银纳米粒子等可以通过茶叶提取物制备, 也可以用作茶叶提取物的用药载体。有研究通过红茶、绿茶提取物制备出的金和银的两种金属纳米溶液, 在室温下稳定且粒径均匀(Au: 10 nm, Ag: 30 nm), 可以用作抗菌性的染料^[65]。金纳米粒子的大小、形状和形貌取决于金属盐和萃取物的浓度、反应时间、反应温度和溶液 pH^[66]。

通过其他多种方式合成的 EGCG 金纳米颗粒, 已被证实对层粘连蛋白 67R 受体有高亲和力和特异性, 可同时用作化学佐剂和靶向分子, 而层粘连蛋白 67R 受体在包括前列腺癌细胞在内的多种癌症中均可表达。除此之外, EGCG 的非放射性金纳米载体被证实在体内体外实验中均对小鼠黑色素瘤表现出较强的细胞毒性作用^[67-68]。且金纳米颗粒在胃肠道环境中也被证实较为稳定, 可以在 2 h 内持续释放^[69]。同时 EGCG-Au 纳米载体被证实可以通过内吞作用被吸收进入平滑肌和内皮细胞中。还可以抑制平滑肌细胞的迁移, 同时能够加强内皮细胞的活力和增殖能力。这为心脑血管疾病治疗提供了新的思路^[70]。

综上所述, 金属纳米材料生物合成方法简便, 有一定靶向性。不仅对肿瘤和心脑血管疾病有潜在治疗效果, 在纺织业中也有应用前景^[71]。

3.5 聚合纳米载体

聚合纳米载体由天然或合成的聚合物制成。在聚合物纳米载体中, 药物被截留在聚合物基质中, 免受外界环境的影响。为了增强药物的药代动力学特性, 或者在某些情况下靶向某些特定组织, 可以使用分子标记过的外层。

聚乳酸(poly lactic acid, PLA)和聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid, PLGA)]是两个研究较为广泛的聚合物, 具有极高的生物相容性。这些纳米载体的外层可以很容易地被官能团修饰以特异性地靶向某些细胞或结构, 并且可以合成具有高封装率和控制释放的物质。SANNA 等^[72]基于 PLGA 合成的包覆有聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)的纳米载体, 在用前列腺特异性膜抗原(prostate-specific membrane antigen, PSMA)抑制剂功能化之后, 可用于预防前列腺癌。在前列腺癌细胞系抑制作用测试中被证明具有较好抑制作用, 并提高了 EGCG 的生物利用度。SANNA 等^[73]合成了用两种对 PSMA 特异的小肽功能化的 PLGA-PEG 纳米载体。结果显示, 与游离 EGCG 相比, 其增强了不同前列腺癌细胞类型的体外抗增殖作用。然后, 在无胸腺裸鼠移植模型中进行体内研究也证实了这一结果。与游离 EGCG 相比, 其对肿瘤生长的抑制更显著, 靶向纳米载体在抑制肿瘤生长方面更有效。SRIVASTAVA 等^[74]使用了载有 EGCG 的 PLGA 纳米载体来预防 7,12-二甲基苯并蒽(7,12-dimethylbenzanthracene, DMBA)所引起的小鼠皮肤 DNA 损伤。在 DNA 受损之前, 先用 EGCG 和 PLGA-EGCG 纳米载体局部治疗小鼠。用游离 EGCG 进行预处理可以防止约 28%的 DNA 损坏, 而用载有 EGCG 的纳米载体进行预处理可保护 63%的 DNA 免受损坏。此外, 负载 EGCG 的纳米载体表现出对 DNA 修复基因的显著诱导和对炎症基因的抑制^[74]。但是 PLA 和 PLGA 聚合物在酸性环境中不稳定, 这使得它们不适合口服给药。

4 总结与展望

EGCG 有助于预防和治疗多种健康问题^[75-78], 如癌症、肥胖症、炎症以及免疫调节等。作为天然化合物的 EGCG 成为预防和治疗多种疾病的选择。然而, 该化合物生物利用度极低, 需要大剂量才能达到治疗效果, 然而大剂量的使用又会带来其他的健康问题, 因此目前应用纳米载体来改善 EGCG 的生物利用度。已经研发出不同类型的纳米载体, 包括脂质纳米颗粒、蛋白质纳米颗粒、聚合物纳米颗粒和金属纳米颗粒等, 大多数研究集中在脂质和聚合物纳米载体上, 这可能是由于它们的良好脂溶性和生物相容性。金属无机纳米载体虽然可以增加 EGCG 的生物利用度和稳定性, 但金属载体的安全性仍然不确定。另外, 在纳米载体表面上掺入靶配体可以使 EGCG 靶向异常细胞的递送。总的说来, EGCG 的生物利用度可以通过基于纳米结构的药物递送系统、分子修饰及与其他生物活性成分共同给药来改善。EGCG 在基于蛋白质、碳水化合物和脂质的纳米颗粒上的封装提高了其稳定性、可持续释放性和细胞膜渗透性, 从而提高其生物利用度。但是在提高 EGCG 生物利用度的研究领域中仍然有很大的改进空间^[79]。

EGCG 纳米化研究的发展与挑战: (1) EGCG 的稳定性、生物利用度等数据都来自于体外模拟实验, 但人体内环境与体外模拟环境差别大。因此, 应当进一步进行动物实验, 更深一步地进行 EGCG 在动物体内的药代动力学研究; (2) 纳米载体的生物活性和安全性与粒径大小相关联, 不同粒径的纳米颗粒之间在生物活性和安全性之间表现出较大差异。小尺寸的纳米颗粒比表面积高, 有些由于其表面化学特性, 存在潜在的毒性。大尺寸的粒径生物活性和效果与小尺寸完全不同; (3) 纳米载体的制备方法多以超声波法和粒子凝胶法为主, 这些方法条件较为苛刻, 成本也较高, 因此可以考虑开发更为高效且温和的制备方法, 并且还需加强对纳米尺寸更精准的控制; (4) 对于纳米材料的研究大多是用纳米材料作为 EGCG 的载体时的生物活性和对不同疾病的影响。但是 EGCG 很难单独作为临床药物使用, 因此可以研究 EGCG 与其他药物协同服用对于相关疾病的作用。除此之外, EGCG 纳米化也同样可以应用在轻工业领域, 如染料和纺织材料等。要想安全合理地运用好 EGCG 和纳米药物, 还需要更加深入且具有针对性的研究。本文对于各种类型的纳米粒子目前的研究状况进行了简单概述和总结, 以期为之后的研究提供一些建议。

参考文献

- [1] ALAM M, ALI S, ASHRAF G, *et al.* Epigallocatechin 3-gallate: From green tea to cancer therapeutics [J]. *Food Chem*, 2022, 379: 132135-132150.
- [2] KIM YJ, KIM KS, LIM D, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)-inducible SMILE inhibits STAT3-mediated hepcidin gene expression [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(6): 514-528.
- [3] NEGRI A, NAPONELLI V, RIZZI F, *et al.* Molecular targets of epigallocatechin-gallate (EGCG): A special focus on signal transduction and cancer [J]. *Nutrients*, 2018, 10(12): 1936-1959.
- [4] SUGIHARA N, KURODA N, WATANABE F, *et al.* Effects of catechins and their related compounds on cellular accumulation and efflux transport of mitoxantrone in Caco-2 cell monolayers [J]. *J Food Sci*, 2017, 82(5): 1224-1230.
- [5] ZHAN W, LIU Y, LI DP, *et al.* Advancing insights on the anti-obesity biochemical mechanism of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) by inhibiting α -amylase activity [J]. *RSC Adv*, 2016, 6(99): 96918-96927.
- [6] LI F, QASIM S, LI D, *et al.* Updated review on green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate as a cancer epigenetic regulator [J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 31: 335-352.
- [7] CAO Y, TENG J, SELBO J. Amorphous solid dispersion of epigallocatechin gallate for enhanced physical stability and controlled release [J]. *Pharmaceuticals*, 2017, 10(4): 88-104.
- [8] GAN RY, LI HB, SUI ZQ, *et al.* Absorption, metabolism, anti-cancer effect and molecular targets of epigallocatechin gallate (EGCG): An updated review [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2018, 58(6): 924-941.
- [9] SAHADEVAN R, SINGH S, BINOY A. Chemico-biological aspects of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) to improve its stability, bioavailability and membrane permeability: Current status and future prospects [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022. DOI: 10.1080/10408398.2022.2068500
- [10] YANG QQ, WEI XL, FANG YP, *et al.* Nanochemoprevention with therapeutic benefits: An updated review focused on epigallocatechin gallate delivery [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 60(8): 1243-1264.
- [11] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [12] WAN XC. Tea biochemistry [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003.
- [13] WANG YQ, LI QS, ZHENG XQ, *et al.* Antiviral effects of green tea EGCG and its potential application against COVID-19 [J]. *Molecules*, 2021, 26(13): 3962-3975.
- [14] KAYA Z, YAYLA M, CINAR I, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) exert therapeutic effect on acute inflammatory otitis media in rats [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2019, 124: 106-110.
- [15] SAFWAT MA, KANDIL BA, ELBLESY MA, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate-loaded gold nanoparticles: Preparation and evaluation of anticancer efficacy in ehrlich tumor-bearing mice [J]. *Pharmaceuticals*, 2020, 13(9): 254-273.
- [16] YOKOTANI K, UMEGAKI K. Evaluation of plasma antioxidant activity in rats given excess EGCG with reference to endogenous antioxidants concentrations and assay methods [J]. *Free Radical Res*, 2017, 51(2): 193-199.
- [17] CHEN W, ZOU M, MA X, *et al.* Co-encapsulation of EGCG and quercetin in liposomes for optimum antioxidant activity [J]. *J Food Sci*, 2019, 84(1): 111-120.
- [18] ANDREU-FERNÁNDEZ V, TOLEDANO LA, PIZARRO N, *et al.* Bioavailability of epigallocatechin gallate administered with different nutritional strategies in healthy volunteers [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(5): 440-458.
- [19] LU H, MENG XF, YANG CS. Enzymology of methylation of tea catechins and inhibition of catechol-O-methyltransferase by (-)-epigallocatechin gallate [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31(5): 572-579.
- [20] TENG H, CHEN L. Polyphenols and bioavailability: An update [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2019, 59(13): 2040-2051.
- [21] PERVIN M, UNNO K, TAKAGAKI A, *et al.* Function of green tea

- catechins in the brain: Epigallocatechin gallate and its metabolites [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): 3630–3641.
- [21] YIN ZY, ZHENG T, HO CT, *et al.* Improving the stability and bioavailability of tea polyphenols by encapsulations: A review [J]. *Food Sci Hum Well*, 2022, 11(3): 537–556.
- [22] NAKAGAWA K, MIYAZAWA T. Absorption and distribution of tea catechin, (-)-epigallocatechin-3-gallate, in the rat [J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 1997, 43(6): 679–684.
- [23] ZAGURY Y, KAZIR M, LIVNEY YD. Improved antioxidant activity, bioaccessibility and bioavailability of EGCG by delivery in β -lactoglobulin particles [J]. *J Funct Foods*, 2019, 52: 121–130.
- [24] 贾琳, 张玉梅. 儿茶素代谢动力学研究进展[J]. *食品与药品*, 2016, 18(3): 209–218.
- JIA L, ZHANG YM. Research progress in pharmacokinetics of catechins [J]. *Food Drug*, 2016, 18(3): 209–218.
- [25] CLIFFORD MN, HOOFT JJ, CROZIER A. Human studies on the absorption, distribution, metabolism, and excretion of tea polyphenols [J]. *Am J Clin Nutr*, 2013, 98(6S): 1619S–1630S.
- [26] LORENZ M, PAUL F, MOOBED M, *et al.* The activity of catechol-O-methyltransferase (COMT) is not impaired by high doses of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) *in vivo* [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740: 645–651.
- [27] SHARMA E, ATTRID C, SATI P, *et al.* Recent updates on anticancer mechanisms of polyphenols [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 1005910–1005931.
- [28] MITRA S, TAREQ AM, DAS R, *et al.* Polyphenols: A first evidence in the synergism and bioactivities [J]. *Food Rev Int*, 2022. <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2026376>
- [29] WANG D, WANG Y, WAN X, *et al.* Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate triggered hepatotoxicity in mice: Responses of major antioxidant enzymes and the Nrf2 rescue pathway [J]. *Toxicol Appl Pharm*, 2015, 283(1): 65–74.
- [30] BALAJI R, SUBRAMANI J, KANCHAN M, *et al.* Repeated dose studies with pure epigallocatechin-3-gallate demonstrated dose and route dependant hepatotoxicity with associated dyslipidemia [J]. *Toxicol Rep*, 2016, 3(C): 336–345.
- [31] PAE M, REN ZH, MEYDANI M, *et al.* Dietary supplementation with high dose of epigallocatechin-3-gallate promotes inflammatory response in mice [J]. *J Nutr Biochem*, 2012, 23(6): 526–531.
- [32] YOUNES M, AGGETT P, AGUILAR F, *et al.* Scientific opinion on the safety of green tea catechins [J]. *EFSA J*, 2018, 16(4): e05239–e05327.
- [33] 赵爽, 张少芳, 穆晓宇. 纳米药物的研究进展 [J]. *天津药学*, 2020, 32(2): 57–61.
- ZHAO S, ZHANG SF, MU XY. Research progress of nanomedicine [J]. *Tianjin Pharm*, 2020, 32(2): 57–61.
- [34] 范克龙, 魏辉, 许华平, 等. 生物活性纳米材料用于重大疾病治疗的研究进展[J]. *中国基础科学*, 2022, 24(1): 57–67.
- FAN KL, WEI H, XU HP, *et al.* Research progress of bioactive nanomaterials for the treatment of major diseases [J]. *China Basic Sci*, 2022, 24(1): 57–67.
- [35] 刘强强, 李宏霞, 肖凯. 纳米材料生物安全性的影响因素与评价方法[J]. *癌变·畸变·突变*, 2021, 33(4): 321–325.
- LIU QQ, LI HX, XIAO K. Influencing factors and evaluation methods of biological safety of nanomaterials [J]. *Carcinogenesis Teratogenesis Mutagenesis*, 2021, 33(4): 321–325.
- [36] KULANDAIVELU K, MANDAL AKA. Improved bioavailability and pharmacokinetics of tea polyphenols by encapsulation into gelatin nanoparticles [J]. *IET Nanobiotechnol*, 2017, 11(4): 469–476.
- [37] SHPIGELMAN A, ISRAELI G, LIVNEY YD. Thermally-induced protein-polyphenol co-assemblies: Beta lactoglobulin-based nanocomplexes as protective nanovehicles for EGCG [J]. *Food Hydrocolloid*, 2010, 24(8): 735–743.
- [38] HU B, TING Y, YANG X, *et al.* Nanochemoprevention by encapsulation of (-)-epigallocatechin-3-gallate with bioactive peptides/chitosan nanoparticles for enhancement of its bioavailability [J]. *Chem Commun*, 2012, 48(18): 2421–2423.
- [39] TANG DW, YU SH, HO YC, *et al.* Characterization of tea catechins-loaded nanoparticles prepared from chitosan and an edible polypeptide [J]. *Food Hydrocolloid*, 2013, 30(1): 33–41.
- [40] CHIU YL, HO YC, CHEN YM, *et al.* The characteristics, cellular uptake and intracellular trafficking of nanoparticles made of hydrophobically-modified chitosan [J]. *J Control Release*, 2010, 146(1): 152–159.
- [41] HE H, LU Y, QI J, *et al.* Adapting liposomes for oral drug delivery [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2019, 9(1): 36–48.
- [42] GHASEMIVEH P, MOHAMMADI-SAMANI S. Potential of nanoparticles as permeation enhancers and targeted delivery options for skin: Advantages and disadvantages [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2020, 14: 3271–3289.
- [43] TANG CH. Assembly of food proteins for nano-encapsulation and delivery of nutraceuticals (A mini-review) [J]. *Food Hydrocolloid*, 2021, 117: 106710.
- [44] YANG R, LIU Y, GAO Y, *et al.* Ferritin glycosylated by chitosan as a novel EGCG nano-carrier: Structure, stability, and absorption analysis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 105(1): 252–261.
- [45] SHETTY PK, MANIKKATH J, TUPALLY K, *et al.* Skin Delivery of EGCG and silibinin: Potential of peptide dendrimers for enhanced skin permeation and deposition [J]. *AAPS Pharm Sci Technol*, 2017, 18(6): 2346–2357.
- [46] YANG YY, JIN P, ZHANG XC, *et al.* New epigallocatechin gallate (EGCG) nanocomplexes co-assembled with 3-mercaptop-1-hexanol and β -lactoglobulin for improvement of antitumor activity [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2017, 13(7): 805–814.
- [47] WANG YQ, LU JL, LIANG YR, *et al.* Suppressive effects of EGCG on cervical cancer [J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2334–2350.
- [48] DONSÍ F, VOUDOURIS P, VEEN SJ. Zein-based colloidal particles for encapsulation and delivery of epigallocatechin gallate [J]. *Food Hydrocolloid*, 2017, 63: 508–517.
- [49] SONG H, WANG Q, HE A, *et al.* Antioxidant activity, storage stability and *in vitro* release of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) encapsulated in hordein nanoparticles [J]. *In Food Chem*, 2022, 388: 132903–132910.
- [50] HARATIFAR S, MECKLING KA, CORREDIG M. Antiproliferative activity of tea catechins associated with casein micelles, using HT29 colon cancer cells [J]. *J Dairy Sci*, 2014, 97(2): 672–678.
- [51] BHUSHANI JA, KARTHIK P, ANANDHARAMAKRISHNAN C. Nanoemulsion based delivery system for improved bioaccessibility and Caco-2 cell monolayer permeability of green tea catechins [J]. *Food Hydrocolloid*, 2016, 56: 372–382.
- [52] LIANG J, YAN H, WANG XL, *et al.* Encapsulation of epigallocatechin gallate in zein/chitosan nanoparticles for controlled applications in food systems [J]. *Food Chem*, 2017, 231: 19–24.
- [53] 胡冰. 壳聚糖纳米颗粒的形成机理、封装茶叶儿茶素及提高其生物利用率的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- HU B. The assembly mechanism of chitosan based nanoparticles as delivery system for tea catechins for enhancing its bioavailability [D].

- Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.
- [54] MORENO-VASQUEZ MJ, PLASCENCIA-JATOMEA M, SANCHEZ-VALDES S, *et al.* Characterization of epigallocatechin-gallate-grafted chitosan nanoparticles and evaluation of their antibacterial and antioxidant potential [J]. *Polymers*, 2021, 13(9): 1375–1398.
- [55] SAFER AM, LEPORATTI S, JOSE J, *et al.* Conjugation of EGCG and chitosan NPs as a novel nano-drug delivery system [J]. *Int J Nanomed*, 2019, 14: 8033–8046.
- [56] DAI W, RUAN C, SUN Y, *et al.* Controlled release and antioxidant activity of chitosan and beta-lactoglobulin complex nanoparticles loaded with epigallocatechin gallate [J]. *Colloid Surface B*, 2020, 188: 110802–110809.
- [57] DAI W, ZHOU L, GU S, *et al.* Preparation and characterization of chitosan films incorporating epigallocatechin gallate: Microstructure, physicochemical, and bioactive properties [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 211: 729–740.
- [58] HUANG TW, HO YC, TSAI TN, *et al.* Enhancement of the permeability and activities of epigallocatechin gallate by quaternary ammonium chitosan/fucoidan nanoparticles [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 242: 116312–116320.
- [59] ROCHA S, GENERALOV R, PEREIRA MDC, *et al.* Epigallocatechin gallate-loaded polysaccharide nanoparticles for prostate cancer chemoprevention [J]. *Nanomedicine*, 2011, 6(1): 79–87.
- [60] RASIKA R, HITEESH K, DEEP P, *et al.* Encapsulation of biophenolic phytochemical EGCG within lipid nanoparticles enhances its stability and cytotoxicity against cancer [J]. *Chem Phys Lipids*, 2016, 198: 51–60.
- [61] FRIAS I, NEVES AR, PINHEIRO M, *et al.* Design, development, and characterization of lipid nanocarriers-based epigallocatechin gallate delivery system for preventive and therapeutic supplementation [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2016, 10: 3519–3528.
- [62] ABDEL-MAGEED HM, AZIZ AEA, MOHAMED SA, *et al.* The tiny big world of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: An updated review [J]. *J Microencapsul*, 2022, 39(1): 72–94.
- [63] GHARIB A, FAEZIZADEH Z, GODARZEE M. Therapeutic efficacy of epigallocatechin gallate-loaded nanoliposomes against burn wound infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Skin Pharmacol Phys*, 2013, 26(2): 68–75.
- [64] 朱国帅. 基于纳米金的抗菌材料的制备及其应用研究[D]. 深圳: 深圳大学, 2020.
- ZHU GS. Based on the preparation of antibacterial material of gold nanoparticles and their application research [D]. Shenzhen: Shenzhen University, 2020.
- [65] ONITSUKA S, HAMADA T, OKAMURA H. Preparation of antimicrobial gold and silver nanoparticles from tea leaf extracts [J]. *Colloid Surface B*, 2019, 173: 242–248.
- [66] LEE YJ, AHN EY, PARK Y. Shape-dependent cytotoxicity and cellular uptake of gold nanoparticles synthesized using green tea extract [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2019, 14(1): 129–152.
- [67] SHUKLA R, CHANDA N, ZAMBRE A, *et al.* Laminin receptor specific therapeutic gold nanoparticles ($^{198}\text{AuNP-EGCG}$) show efficacy in treating prostate cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(31): 12426–12431.
- [68] CHEN CC, HSIEH DS, HUANG KJ, *et al.* Improving anticancer efficacy of (-)-epigallocatechin-3-gallate gold nanoparticles in murine B16F10 melanoma cells [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2014, 8: 459–474.
- [69] HSIEH DS, LU HC, CHEN CC, *et al.* The preparation and characterization of gold-conjugated polyphenol nanoparticles as a novel delivery system [J]. *Int J Nanomed*, 2012, 7: 1623–1633.
- [70] MENKA K, KAVITA K, ADAM M, *et al.* Laminin receptor-avid nanotherapeutic EGCG-AuNPs as a potential alternative therapeutic approach to prevent restenosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3): 316–332.
- [71] CUNHA L, COELHO SC, PEREIRA MDC, *et al.* Nanocarriers based on gold nanoparticles for epigallocatechin gallate delivery in cancer cells [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(3): 491–502.
- [72] SANNA V, PINTUS G, ROGGIO AM, *et al.* Targeted biocompatible nanoparticles for the delivery of (-)-epigallocatechin 3-gallate to prostate cancer cells [J]. *J Med Chem*, 2011, 54(5): 1321–1332.
- [73] SANNA V, SINGH CK, JASHARI R, *et al.* Targeted nanoparticles encapsulating (-)-epigallocatechin-3-gallate for prostate cancer prevention and therapy [J]. *Sci Rep-UK*, 2017, 7(1): 41573–41587.
- [74] SRIVASTAVA AK, BHATNAGAR P, SINGH M, *et al.* Synthesis of PLGA nanoparticles of tea polyphenols and their strong *in vivo* protective effect against chemically induced DNA damage [J]. *Int J Nanomed*, 2013, 8: 1451–1462.
- [75] ZHANG L, CHEN W, TU G, *et al.* Enhanced chemotherapeutic efficacy of PLGA-encapsulated epigallocatechin gallate (EGCG) against human lung cancer [J]. *Int J Nanomed*, 2020, 15: 4417–4429.
- [76] ZHAN W, LIU Y, LI D, *et al.* Advancing insights on the anti-obesity biochemical mechanism of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) by inhibiting α -amylase activity [J]. *RSC Adv*, 2016, 6(99): 96918–96927.
- [77] ZHAO Z, FENG M, WAN J, *et al.* Research progress of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on anti-pathogenic microbes and immune regulation activities [J]. *Food Funct*, 2021, 12(20): 9607–9619.
- [78] CHENG CY, BARRO L, TSAI ST, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate-loaded liposomes favor anti-inflammation of microglia cells and promote neuroprotection [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6): 3037–3051.
- [79] NIU L, LI ZQ, FAN W, *et al.* Nano-strategies for enhancing the bioavailability of tea polyphenols: Preparation, applications, and challenges [J]. *Foods*, 2022, 11(3): 387–408.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

作者简介



徐瓦珍, 硕士研究生, 主要研究方向为茶叶深加工及功能成分化学。
E-mail: xuwazhen2000@163.com



黄建安, 博士, 教授, 主要研究方向为茶叶加工与品质化学。
E-mail: Jian7513@hunau.edu.cn



刘仲华, 博士, 院士, 主要研究方向为茶叶深加工及功能成分化学、茶与健康。
E-mail: zhonghua-liu-ms@hunau.edu.cn