

表没食子儿茶素没食子酸酯烷基化衍生物合成及其体外抗癌活性

付丽香¹, 周焕弟², 温燕¹, 陈燕燕¹, 滕翠芳¹, 邱汉琛¹, 刘布鸣³, 梁钢^{1*}

(1. 广西医科大学药学院, 南宁 530021; 2. 海南省食品药品检验所, 海口 570216;
3. 广西中药质量标准研究重点实验室, 南宁 530022)

[摘要] **目的:**设计合成表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)烷基化程度较高的衍生物, 对其进行简单构效分析, 并对衍生物抑制肝癌细胞增殖的药理活性进行初步筛选, 旨在选出结构较稳定药效较好的 EGCG 衍生物。**方法:**以 EGCG, $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})_2\text{SO}_2$ 为原料, 通过乙基化反应合成 EGCG 衍生物, 采用噻唑蓝(MTT)法, 细胞密度 $1 \times 10^8/\text{mL}$, 将 EGCG 衍生物 **3, 4** 稀释成 4 个浓度, 对 SMMC-7721 细胞其质量质量浓度分别为 60, 80, 100, 150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 30, 40, 50, 60 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 对 HepG2 细胞其质量浓度为 60, 80, 100, 150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 20, 30, 40, 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 作为药物组, 并设空白组, 每个浓度组设 4 个复孔, 加药后继续培养 24 h, 测定乙基化 EGCG 对肝癌细胞 SMMC-7721, HepG2 的影响。**结果:**合成 4 个 EGCG 衍生物, 其结构通过 ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ²DNMR, 质谱等方法进行结构鉴定, 均为未见文献报道的新化合物, 乙基化 EGCG 产物 **3, 4** 对肝癌细胞 SMMC-7721, HepG2 增殖均有抑制作用。**结论:**乙基化 EGCG 产物 **3, 4** 对肝癌细胞 SMMC-7721, HepG2 均有抑制作用, 其中 **4** 的抑制作用比 EGCG 明显增强。

[关键词] 表没食子儿茶素没食子酸酯; 表没食子儿茶素没食子酸酯乙基化; 抗肿瘤活性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)02-0038-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016020038

Synthesis of Epigallocatechin Gallate Alkylated Derivatives and Their Anti-tumor Activity *in Vitro*

FU Li-xiang¹, ZHOU Huan-di², WEN Yan¹, CHEN Yan-yan¹, TENG Cui-fang¹,
QIU Han-chen¹, LIU Bu-ming³, LIANG Gang^{1*}

(1. School of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;
2. Hainan Institute for Drug Control, Haikou 570216, China; 3. Guangxi Key Laboratory of
Traditional Chinese Medicine Quality Standard, Nanning 530022, China)

[Abstract] **Objective:** To design the synthesis of high epigallocatechin gallate (EGCG) alkylated derivatives, analyze the structure-activity relationship and the pharmacological activity in inhibiting human hepatocellular carcinoma cell proliferation, in order to select the more stable and effective EGCG derivatives. **Method:** With EGCG and $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})_2\text{SO}_2$ as raw materials, a series of EGCG derivatives were ethylated. The effect of ethylated EGCG on the proliferation of human hepatocellular carcinoma cell SMMC-7721 and HepG2 were determined by 3-(4, 5 dimethylthiazol-2-yl) -2, 5 dimethyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) method. With the cell density at $1 \times 10^8/\text{mL}$, the **3/4** of EGCG derivatives were diluted into four concentrations, with 60, 80, 100, 150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and 30, 40, 50, 60 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ for SMMC-7721 cells, and 60, 80, 100, 150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and 20, 30,

[收稿日期] 20150504(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81160532); 广西自然科学基金项目(2012GXNSFAA053147); 广西中药质量标准研究重点实验室开放课题基金项目(桂中重开 201105)

[第一作者] 付丽香, 在读硕士, 从事抗肿瘤分子药理学及新药研究, Tel:15878172230, E-mail:635185483@qq.com

[通讯作者] *梁钢, 博士, 教授, 博士生导师, 从事抗肿瘤分子药理学及新药研究, Tel:0771-5302271, E-mail:lianggang22@aliyun.com

40, 50 mg · L⁻¹ for HepG2 cells, both were drug groups. A cell control group was also set up. Each concentration group has four complex wells, and the cells were continuously cultured for 24 h after addition of drugs. **Result:** We synthesized four EGCG derivatives. Their structures were identified by ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ²DNMR, mass spectrometry and other methods, all of them were novel compounds. Ethylated EGCG product **3** and **4** can inhibit proliferation of hepatocellular carcinoma cell SMMC-7721 and HepG2. **Conclusion:** Ethylated EGCG product **3** and **4** have inhibition effect on hepatocellular carcinoma cell SMMC-7721 and HepG2, and **4** has a much stronger effect than EGCG.

[**Key words**] epigallocatechin gallate; ethylated epigallocatechin gallate; antineoplastic activity

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一,发病率和死亡率在我国均排名前 3 位^[1],严重危害人们的健康与生命安全。近年来原发性肝癌在早期中采用手术、放化疗、介入等局部治疗方法取得了一定进展;但对肝癌的复发及晚期肝癌药物治疗仍面临着重大的挑战^[2];因此,从天然产物中发现和研究具有抗肝癌作用的化合物,并以此为先导化合物,进行结构修饰与优化,是目前国内外创制抗肿瘤新药的有效途径。

茶叶作为一种普遍饮用的绿色植物,富含多酚类化合物,其中表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)含量最高,占儿茶素的 80%^[3]。在抗肝癌研究中发现,EGCG 对人肝癌细胞株 SMMC-7721, HepG2 均有抑制作用^[4-5]。但由于 EGCG 结构中含有 8 个酚羟基,性质不稳定、易氧化变性、脂溶性差、生物利用度低从而限制了其应用^[6]。近年来,随着研究的不断深入,发现 EGCG 经过结构修饰后形成的一些衍生物生物利用度明显提高,并且在某些方面表现出比 EGCG 更强的生理活性。例如甲基化儿茶素具有更强的抗过敏活性^[7],乙酰化儿茶素对蛋白酶具有更强的抑制活性^[8],酯化制备所得的脂溶性儿茶素在水不溶体系中更能发挥抗癌活性^[9]等。本研究从化学合成的角度出发,对 EGCG 作进一步的结构修饰,硫酸二乙酯为乙基供体,合成乙基化 EGCG 衍生物,并用噻唑蓝(MTT)法对 EGCG 衍生物进行初步的抗肝癌药效筛选,从中探讨改构物的结构与活性之间的关系,并建立起一套相关的构效分析系统。筛选出抗癌活性更强,稳定性和生物利用度更好的 EGCG 衍生物,为 EGCG 衍生物抗肝癌活性研究提供实验参考以及拓宽绿茶资源提供重要依据。

1 材料

1.1 仪器 R-1001 型旋转蒸发器(郑州长城科工贸易有限公司),SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸易有限公司),DF-101S 型集热式磁力水浴搅拌器(郑州长城科工贸易有限公司),ZF-2 型

三用紫外仪(上海市安亭电子仪器厂),Cheatahm100 型中压快速制备色谱仪(天津博纳艾杰尔科技有限公司),Bruker Avance 600 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司),Q-tof Ultima Global 型质谱仪(美国 Waters 公司),3111 型 CO₂ 细胞培养箱(美国 ThermoForma 公司),Multiskan MK3 型酶标仪(美国 Thermo 公司)。

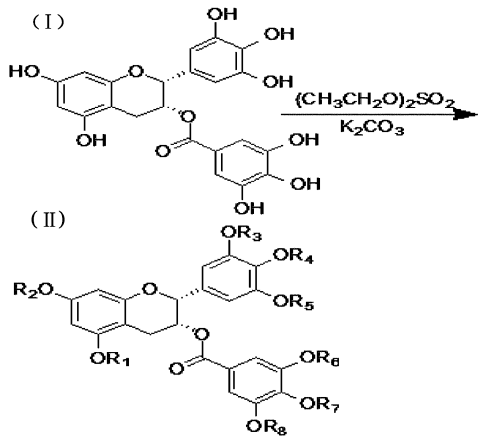
1.2 试剂 EGCG(杭州禾田生物技术有限公司,批号 140428), (CH₃CH₂O)₂SO₂(国药集团化学试剂有限公司,批号 2014611),冰乙酸(成都市科龙化工试剂厂,批号 20140220),乙酸乙酯(成都市科龙化工试剂厂,批号 201403070100518),石油醚(成都市科龙化工试剂厂,批号 2014030401),无水 K₂CO₃(天津市北辰方正试剂厂,批号 20131008),丙酮(天津市北辰方正试剂厂,批号 20140620),N₂(广西医科大学第一附属医院),二甲亚砜(DMSO,北京索莱宝科技有限公司,批号 141121),MTT(北京索莱宝科技有限公司,批号 141212),胎牛血清(浙江天杭生物科技有限公司,批号 150305),RPMI-1640 培养基(HyClone 公司,批号 150427),PBS(武汉博士德生物工程有限公司,批号 141203)。

1.3 细胞株 肝癌细胞株 SMMC-7721, HepG2 购自中国科学院细胞库。

2 方法

2.1 乙基化 EGCG 合成反应 以 EGCG 为原料药,对酚羟基进行乙基化合成 EGCG 衍生物(**1**~**4**)。称取 EGCG 2.538 g 为反应底物,丙酮 600 mL 作反应介质,K₂CO₃ 6.031 g 作催化剂,N₂ 为保护气,水浴 65 °C 磁力搅拌器搅拌回流,用恒压滴液漏斗滴加 (CH₃CH₂O)₂SO₂ 70 mL 做乙基供体反应 12 h。反应液于冰浴下用冰乙酸调节 pH 5~6,转移到梨形烧瓶内,减压蒸馏除去溶剂得到残留物,加入乙酸乙酯溶解残留物,转移到分液漏斗内,并用纯化水多次洗涤,直到下层流出液为中性为止。取乙酸乙酯层,减压蒸馏除去溶剂,得到乙基化反应的混合产物,参

考制备液相色谱分离法的研究报道^[10-11],采用中压快速制备色谱仪对乙基化 EGCG 混合产物进行分离、纯化,洗脱液为石油醚-乙酸乙酯体系。乙基化 EGCG 合成路线见图 1。



(I). 反应物为 EGCG, 硫酸二乙酯; (II). 反应产物 $R_{1-8} = H$ 或 CH_2CH_3

图 1 目标化合物合成路线

Fig.1 Synthetic route of target compounds

2.2 抑制肝癌细胞 SMMC-7721, HepG2 增殖作用

2.2.1 EGCG 及 EGCG 衍生物抑制肝癌细胞 SMMC-7721 增殖作用

取对数生长期的 SMMC-7721 细胞消化,细胞密度调为 1×10^8 /mL,接种于 96 孔培养板,每孔接种 100 μ L,置于 5% CO_2 ,37 $^\circ C$ 培养箱,饱和湿度下培养 24 h。EGCG 及 EGCG 衍

表 1 目标化合物的结构

Table 1 Structure of target compounds

化合物	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
1	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃
2	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃
3	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	OH
4	CH ₂ CH ₃	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	OH	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃

3.1.2 4 个 EGCG 衍生物的特征

化合物 1 5,7,3',4',5',3'',4'',5''-八-O-乙基-EGCG,分子式为 $C_{38}H_{50}O_{11}$,¹H-NMR(DMSO, 600 MHz) δ : 6.97 (s, 2H, C2''-H 和 C6''-H), 6.77 (s, 2H, C2'-H 和 C6'-H), 6.20 (d, 1H, $J = 1.7$ Hz, C6-H), 6.15 (d, 1H, $J = 1.7$ Hz, C8-H), 5.53 (m, 1H, C3-H), 5.22 (br, 1H, C2-H), 3.77 ~ 4.00 μ m, 16H, -O-CH₂- \times 8), 3.03 (dd, 1H, $J = 17.6, 4.4$ Hz, C4-Ha), 2.85 (d, 1H, $J = 17.0$ Hz, C4-Hb), 1.16 ~ 1.32 (m, 24H, -CH₃ \times 8)。¹³C-NMR(DMSO, 600 MHz) δ : 164.30 (C = O), 158.45 (C-7), 157.64 (C-5), 155.09 (C-8a), 152.20 (C-3''

和 C-5'), 152.09 (C-3' 和 C-5'), 141.62 (C-4''), 136.58 (C-4'), 133.39 (C-1'), 124.36 (C-1''), 107.64 (C-2'' 和 C-6''), 105.15 (C-2' 和 C-6'), 99.51 (C-4a), 93.69 (C-6), 92.82 (C-8), 76.47 (C-2), 68.73 (C-3), 68.12 (-O-CH₂-), 67.73 (-O-CH₂-), 64.25 (-O-CH₂- \times 2), 64.00 (-O-CH₂- \times 2), 63.29 (-O-CH₂-), 63.04 (-O-CH₂-), 25.29 (C-4), 15.32 (-CH₃ \times 2), 14.69 (-CH₃ \times 2), 14.59 (-CH₃ \times 4)。MS(ESI) m/z 683 ([M + 1]⁺)。

2.2.2 EGCG 及 EGCG 衍生物抑制肝癌细胞 HepG2 增殖作用

取对数生长期的 HepG2 细胞消化,按照 2.2.1 的方法把 EGCG 及 EGCG 衍生 3,4 稀释成 4 个质量浓度分别 100, 150, 200, 250 $mg \cdot L^{-1}$, 60, 80, 100, 150 $mg \cdot L^{-1}$, 20, 30, 40, 50 $mg \cdot L^{-1}$, 按照 2.2.1 的方法求算 IC_{50} 。

2.2.3 统计学处理

采用 SPSS 16.0 软件进行数据统计,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 乙基化 EGCG 的结构确证^[12-13]

3.1.1 4 个乙基化 EGCG 产物结构解析

目标化合物的结构 1 ~ 4 见表 1。

和 C-5''), 152.09 (C-3' 和 C-5'), 141.62 (C-4''), 136.58 (C-4'), 133.39 (C-1'), 124.36 (C-1''), 107.64 (C-2'' 和 C-6''), 105.15 (C-2' 和 C-6'), 99.51 (C-4a), 93.69 (C-6), 92.82 (C-8), 76.47 (C-2), 68.73 (C-3), 68.12 (-O-CH₂-), 67.73 (-O-CH₂-), 64.25 (-O-CH₂- \times 2), 64.00 (-O-CH₂- \times 2), 63.29 (-O-CH₂-), 63.04 (-O-CH₂-), 25.29 (C-4), 15.32 (-CH₃ \times 2), 14.69 (-CH₃ \times 2), 14.59 (-CH₃ \times 4)。MS(ESI) m/z 683 ([M + 1]⁺)。

化合物 2

5,7,3',4',3'',4'',5''-七-O-乙基-EGCG,分子式为 $C_{36}H_{46}O_{11}$,¹H-NMR(DMSO, 600

MHz) δ : 9.07 (s, 1H, C5'-OH), 6.99 (s, 2H, C2''-H 和 C6''-H), 6.57 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, C2'-H), 6.55 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, C6'-H), 6.15 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz, C8-H), 6.11 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz, C6-H), 5.22 (m, 1H, C3-H), 5.06 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, C2-H), 3.87 ~ 4.00 (m, 14H, -O-CH₂- $\times 7$)。3.01 (dd, 1H, $J = 16.3, 5.5$ Hz, C4-Ha), 2.69 (dd, 1H, $J = 16.3, 8.2$ Hz, C4-Hb), 1.16 ~ 1.32 (m, 21H, -CH₃ $\times 7$)。¹³C-NMR (DMSO, 600 MHz) δ : 164.62 (C=O), 158.76 (C-7), 157.50 (C-5), 154.81 (C-8a), 152.27 (C-3'' 和 C-5''), 152.36 (C-3'), 150.87 (C-5'), 141.50 (C-4''), 135.11 (C-4'), 132.97 (C-1'), 124.33 (C-1''), 107.68 (C-6'), 107.52 (C-2'' 和 C-6''), 103.78 (C-2'), 100.20 (C-4a), 93.69 (C-6), 92.91 (C-8), 78.06 (C-2), 70.19 (C-3), 68.19 (-O-CH₂-), 67.51 (-O-CH₂-), 64.30 (-O-CH₂- $\times 2$), 63.89 (-O-CH₂-), 63.47 (-O-CH₂-), 63.12 (-O-CH₂-), 24.96 (C-4), 15.43 (-CH₃), 15.22 (-CH₃), 14.75 (-CH₃), 14.67 (-CH₃ $\times 2$), 14.65 (-CH₃ $\times 2$)。MS (ESI) m/z 655 ([M+1]⁺)。

化合物 **3** 5,7,3',4',3'',4''-六-O-乙基-EGCG, 分子式为 C₃₄H₄₂O₁₁, ¹H-NMR (DMSO, 600 MHz) δ : 9.45 (s, 1H, C5''-OH), 8.95 (s, 1H, C5'-OH), 6.98 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, C6''-H), 6.84 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, C2''-H), 6.61 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, C6'-H), 6.60 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, C2'-H), 6.15 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz, C6-H), 6.14 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz, C8-H), 5.45 (m, 1H, C3-H), 5.12 (br, 1H, C2-H), 3.86 ~ 4.01 (m, 12H, -O-CH₂- $\times 6$), 3.03 (dd, 1H, $J = 17.6, 4.6$ Hz, C4-Ha), 2.78 (d, 1H, $J = 16.9$ Hz, C4-Hb), 1.17 ~ 1.32 (m, 18H, -CH₃ $\times 6$)。¹³C-NMR (DMSO, 600 MHz) δ : 164.69 (C=O), 158.42 (C-7), 157.74 (C-5), 155.20 (C-8a), 152.36 (C-3''), 152.16 (C-3'), 150.85 (C-5''), 150.49 (C-5'), 139.81 (C-4''), 134.72 (C-4'), 133.29 (C-1'), 124.25 (C-1''), 110.45 (C-6''), 107.68 (C-6'), 105.48 (C-2''), 103.01 (C-2'), 99.65 (C-4a), 93.87 (C-6), 92.78 (C-8), 76.57 (C-2), 68.48 (C-3), 67.77 (-O-CH₂-), 67.55 (-O-CH₂-), 64.04 (-O-CH₂-), 63.76 (-O-CH₂-), 63.34 (-O-CH₂-), 63.07 (-O-CH₂-), 25.46 (C-4), 15.27 (-CH₃ $\times 2$), 14.73 (-CH₃), 14.69 (-CH₃), 14.65 (-CH₃ $\times 2$)。MS (ESI) m/z 627 ([M+1]⁺)。

化合物 **4** 5,3',4',3'',4'',5''-六-O-乙基-EGCG,

分子式为 C₃₄H₄₂O₁₁, ¹H-NMR (DMSO, 600 MHz) δ : 9.31 (s, 1H, C7-OH), 8.97 (s, 1H, C5'-OH), 6.97 (s, 2H, C2''-H 和 C6''-H), 6.66 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, C6'-H), 6.57 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, C2'-H), 6.01 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, C6-H), 6.00 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, C8-H), 5.42 (m, 1H, C3-H), 5.13 (br, 1H, C2-H), 3.87 ~ 3.98 (m, 12H, -O-CH₂- $\times 6$), 2.99 (dd, 1H, $J = 17.5, 4.5$ Hz, C4-Ha), 2.82 (dd, 1H, $J = 17.6, 1.9$ Hz, C4-Hb), 1.17 ~ 1.32 (m, 18H, -CH₃ $\times 6$)。¹³C-NMR (DMSO, 600 MHz) δ : 164.76 (C=O), 157.71 (C-7), 157.13 (C-5), 155.00 (C-8a), 152.25 (C-3'' 和 C-5''), 152.17 (C-3'), 150.57 (C-5'), 141.45 (C-4''), 134.62 (C-4'), 133.58 (C-1'), 124.51 (C-1''), 107.45 (C-2'' 和 C-6''), 107.36 (C-6'), 102.78 (C-2'), 97.95 (C-4a), 95.15 (C-6), 92.92 (C-8), 76.17 (C-2), 69.22 (C-3), 68.16 (-O-CH₂-), 67.54 (-O-CH₂-), 64.27 (-O-CH₂- $\times 2$), 63.79 (-O-CH₂-), 63.17 (-O-CH₂-), 25.10 (C-4), 15.40 (-CH₃), 15.24 (-CH₃), 14.74 (-CH₃), 14.69 (-CH₃), 14.65 (-CH₃ $\times 2$)。MS (ESI) m/z 627 ([M+1]⁺)。

3.2 EGCG 衍生物体外活性 衍生物 **1,2** 的水溶性较小,难溶于培养基,在培养基内析出沉淀,难对细胞产生作用。而衍生物 **3** 和 **4** 均有药理活性。对肝癌 SMMC-7721, HepG2 细胞, **3** 的 IC₅₀ 比 EGCG 的偏大, EGCG 活性优; 而 **4** 的 IC₅₀ 明显小于 EGCG, 活性明显优于 EGCG。 **3,4** 及 EGCG 对肝癌细胞 SMMC-7721, HepG2 的抑制作用结果见表 2~3。

4 讨论

由于 EGCG 含有多个酚羟基,脂溶性差、生物利用度低等问题,使其在应用方面存在很多局限性。本研究通过对 EGCG 进行结构修饰后,得到烷基化数目较多的乙基化 EGCG 产物。

从结构上分析,EGCG 烷基化数目越多,其脂溶性越好,水溶性越差。 **1,2** 都是烷基化数目较多的衍生物,EGCG 的 8 个酚羟基都被烷基化或 7 个酚羟基被烷基化。由于脂溶性较大,水溶性较小,衍生物难溶于培养基,在培养基内析出沉淀,难于对细胞产生作用。衍生物 **3** 和 **4** 结构中均有 2 个酚羟基未被烷基化,具有一定的水溶性,可以对细胞产生抑制作用。其中 **3** 对肝癌细胞 SMMC-7721, HepG2 有抑制作用,但未表现出比 EGCG 强。而 **4** 对肝癌细胞 SMMC-7721, HepG2 的抑制作用明显强于 EGCG。由此可见 EGCG 含有酚羟基数目较多时,易氧化变性、脂溶性差、生物利用度低; 而 EGCG 烷基化数目

表 2 EGCG 及 3, 4 对 SMMC-7721 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Inhibitory effect of EGCG and 3, 4 on cell proliferation of SMMC-772 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	A	抑制率 /%	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹
空白	-	0.848 ± 0.016	-	-
EGCG	60	0.547 ± 0.049 ²⁾	35.50	113.59
	80	0.511 ± 0.057 ²⁾	39.74	
	100	0.492 ± 0.026 ²⁾	41.98	
	150	0.347 ± 0.022 ²⁾	59.08	
空白	-	0.711 ± 0.015	-	-
3	60	0.552 ± 0.028 ²⁾	22.36	145.91
	80	0.538 ± 0.025 ²⁾	24.33	
	100	0.483 ± 0.055 ²⁾	32.07	
	150	0.345 ± 0.019 ²⁾	51.48	
空白	-	0.986 ± 0.044	-	-
4	30	0.564 ± 0.039 ²⁾	42.80	38.46
	40	0.480 ± 0.026 ²⁾	51.32	
	50	0.404 ± 0.028 ²⁾	59.03	
	60	0.223 ± 0.014 ²⁾	77.38	

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 3 EGCG 及 3, 4 对 HepG2 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Inhibitory effect of EGCG and 3, 4 on cell proliferation of HepG2 cell ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	A	抑制率 /%	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹
空白	-	1.053 ± 0.033	-	-
EGCG	100	0.731 ± 0.057 ²⁾	30.58	163.68
	150	0.545 ± 0.041 ²⁾	48.24	
	200	0.455 ± 0.024 ²⁾	56.79	
	250	0.385 ± 0.016 ²⁾	63.44	
空白	-	0.992 ± 0.028	-	-
3	60	0.793 ± 0.024 ²⁾	20.06	144.00
	80	0.722 ± 0.027 ²⁾	27.22	
	100	0.604 ± 0.048 ²⁾	39.11	
	150	0.438 ± 0.029 ²⁾	55.85	
空白	-	0.843 ± 0.054	-	-
4	20	0.639 ± 0.040 ²⁾	24.20	27.24
	30	0.260 ± 0.025 ²⁾	69.16	
	40	0.202 ± 0.015 ²⁾	76.04	
	50	0.155 ± 0.018 ²⁾	81.61	

较多时,脂溶性较大,水溶性较小,难溶于培养基,难对肝癌细胞产生抑制作用。研究结果为 EGCG 的进一步结构修饰提供了实验参考。同时,通过 MTT 法筛选出对肝癌细胞 SMMC-7721, HepG2 抑制作用较强的衍生物 4, 以其作为一个候选化合物, 进行更深入的抗肿瘤机制和药效学研究, 对开发新型的抗肿瘤药物有重大意义。

[参考文献]

[1] Mc Clune A C, Tong M J. Chronic hepatitis B and hepatocellular carcinoma [J]. Clin Liver Dis, 2010, 14 (3):461-476.

[2] 任红艳,方肇勤,梁超. 预知子、白花蛇舌草抑制肝癌细胞恶性增殖的研究[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40 (12):2553-2555.

[3] 赵志成,庄莉,贾长库,等. EGCG 抑制肝癌细胞株 HepG2 增殖及 HIF-1 α /VEGF 的表达[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(4):713-720.

[4] 蒲霞,肖秀丽,郭欢喜,等. 绿茶提取物 EGCG 对人肝癌细胞株增殖和凋亡的影响[J]. 四川医学, 2009, 30 (5):627-629.

[5] 赵新. 儿茶素抑制肝癌细胞增殖、诱导凋亡作用研究[J]. 中国现代医学杂志, 2012, 22(10):17-21.

[6] 李丽. EGCG 结构修饰衍生物抗肝癌及对蒽环类药物增效减毒作用的研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2014.

[7] 伍妍俊,汪小钢,宛晓春. 甲基化 EGCG 的研究现状及展望[J]. 茶叶科学, 2010, 30(6):407-413.

[8] 刘晓辉,江和源,张建勇,等. 儿茶素酰基化修饰研究进展[J]. 茶叶科学, 2009, 29(10):1-8.

[9] 赖榕辉,黄亚辉. EGCG 衍生物研究进展[J]. 福建茶叶, 2010(9):14-17.

[10] 谢春燕,徐新军,谢鸷生,等. 快速制备液相色谱制备管花肉苁蓉中的松果菊苷[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2012, 14(2):1451-1454.

[11] 王华,营蓁,郭耀东. 制备高效液相色谱法分离制备葡萄果皮中二甲花翠素 3-O-葡萄糖苷单体[J]. 酿酒科技, 2007, 11(11):19-21.

[12] 吴立军. 有机化合物波谱分析[M]. 3 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2004:117-290.

[13] 吴立军. 天然药物化学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011:414-415.

[责任编辑 聂淑琴]