



基于密度泛函理论对比研究 EGCG 与茶黄素的抗氧化活性

徐愉聪¹, 李雯政¹, 范茂梅¹, 步营^{1,3}, 朱文慧¹, 励建荣^{1,2}, 李学鹏¹

1. 渤海大学 食品科学与工程学院/生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心, 辽宁 锦州 121013;

2. 大连工业大学 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 辽宁 大连 116034;

3. 渤海大学 海洋研究院, 辽宁 锦州 121013

摘要: 采用量子化学的密度泛函理论 (Density Functional Theory, DFT) 方法, 对绿茶和红茶中主要功能性成分表没食子儿茶素没食子酸酯 (Epigallocatechin Gallate, EGCG) 和茶黄素 (Theaflavin) 的分子结构及其相应自由基进行理论计算, 并通过不同抗氧化指标对 EGCG 和茶黄素的抗氧化活性差异及溶剂化效应进行分析, 探究 EGCG 和茶黄素的抗氧化活性与其分子结构之间的构效关系。结果表明: 茶黄素的抗氧化活性高于 EGCG, 其前线分子轨道能级差 $\Delta E_{(LUMO-HOMO)}$ 仅为 5.67 eV, $C_{7'}$ -OH 键解离能 (BDE) 仅为 321.9 kJ/mol, 电离势 (IP) 仅为 461.4 kJ/mol, C_{1b} -OH 氧原子自旋布居数仅为 0.218。在非极性溶剂中, 顺序质子损失电子转移 (Sequential Proton-loss Electron Transfer, SPLET) 是优先反应机制; 而在极性溶剂中, 单电子转移后质子转移 (Single Electron Transfer Followed by Proton Transfer, SET-PT) 是优先反应机制。B 环的 $C_{5'}$ -OH 可能是 EGCG 的反应活性位点, 而 A' 环的 $C_{7'}$ -OH 可能是茶黄素的反应活性位点。因此, 茶黄素具有较强的抗氧化活性, 酚羟基的位置对其影响较为明显; DFT 方法可为茶叶功能性成分的抗氧化活性研究提供新的视角。

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯; 茶黄素; 密度泛函理论; 抗氧化活性; 自由基

中图分类号: TS201.2 **文献标识码:** A

0 引言

表没食子儿茶素没食子酸酯 (Epigallocatechin Gallate, EGCG) 和茶黄素 (Theaflavin) 分别是绿茶和红茶中的主要活性成分。EGCG 是绿茶中含量最多且活性最强的多酚类化合物, 占绿茶总儿茶素含量

的 50%~80%^[1-2]。茶黄素是在红茶发酵过程中发现的一种茶色素, 是由儿茶素类物质经氧化缩合形成的一类具有苯骈卓酚酮结构的物质^[3]。众多^[4-6]研究已证实, EGCG 和茶黄素均具有抗氧化功能, 能够清除机体过量自由基, 防止细胞损伤, 有助于降低动脉粥样硬化、高血压等疾病的发生风险。研

收稿日期: 2024-09-05; 修回日期: 2025-02-27

基金项目: 辽宁省教育厅基本科研项目面上项目 (LJKMZ20221486); 辽宁省自然科学基金面上项目 (2023-MS-297)

作者简介: 徐愉聪 (2000—), 女, 陕西省西安市人, 渤海大学硕士研究生, 主要研究方向为水产品加工与贮藏。E-mail: xuyucong0719@163.com

通信作者: 步营 (1981—), 男, 山东省曲阜市人, 渤海大学副教授, 主要研究方向为水产品加工与贮藏。E-mail: buying130@126.com



究^[7-8]显示,二者的抗氧化活性主要取决于其分子结构中的羟基化程度和羟基位置。

多酚类化合物的抗氧化机制主要有氢原子转移(Hydrogen-atom Transfer, HAT)、单电子转移后质子转移(Single Electron Transfer Followed by Proton Transfer, SET-PT)和顺序质子损失电子转移(Sequential Proton-loss Electron Transfer, SPLET) 3种^[9-10],但目前其抗氧化活性与分子结构之间的构效关系尚不明确。已有研究对 EGCG 与茶黄素的抗氧化活性进行了比较,例如, V. E. Steele 等^[11]利用四豆蔻的佛波醇醋酸酯(TPA)在 HL-60 细胞中诱导自由基产生,发现茶黄素对 H₂O₂ 的清除能力强于 EGCG; S. V. Jovanovic 等^[12]研究发现,茶黄素与自由基的反应速率比 EGCG 高,能更有效地清除过氧化物自由基。以上研究均得出茶黄素的抗氧化活性强于 EGCG 的结论,但未能从理论上深入解析其抗氧化机制。此外,基于实验的抗氧化活性评价方法仅能定性或宏观定量多酚类化合物的抗氧化能力,不能深入探究其在特定环境下的抗氧化机制、抗氧化活性差异及活性位点^[13]。

近年来,随着计算机软硬件技术的高速迭代及量子化学中密度泛函理论(Density Functional Theory, DFT)的发展,理论计算方法已成为进一步解释实验结果或预测物质抗氧化活性的重要工具^[14]。DFT 方法具有计算精度高、速度快等特点,已被广泛用于揭示化合物的抗氧化活性与其分子结构之间的构效关系^[15-17]。例如, E. H. Anouar 等^[18]通过 DFT 方法研究了酚类希夫碱的自由基清除机制,发现其强抗氧化活性主要来源于分子中存在的酚羟基。董梦依等^[19]采用量子化学计算分析了 12 种自由基清除肽的理论基础,发现自由基清除肽清除自由基活性的强弱顺序与其清除 DPPH 自由基的能力顺序高度一致,表明能隙值能够作为判断多肽清除 DPPH 自由基能力的有效理论指标。

基于此,本文拟采用 DFT 方法对 EGCG 和茶黄素的抗氧化活性进行对比研究,通过理论计算揭示二者的抗氧化活性差异及与其分子结构之间的构效关系,以期为天然抗氧化剂的开发、茶类主要活性成分的深入挖掘及天然产物的探索等方面提供

参考,同时拓展 DFT 方法在天然产物抗氧化活性研究中的应用。

1 研究方法

所有计算均由 Gaussian 16 软件包^[20]完成,使用 GaussView 6 软件^[21]构建分子模型。由于 M06-2X 方法在计算分子弱相互作用时精密度更高,故在 DFT 的基础上采用 M06-2X/6-311++G(d,p)//M06-2X/6-311G(d,p)理论水平。通过基于密度的溶剂化模型(Solvation Model Based on Density, SMD)描述溶剂环境,其中苯和水用于模拟细胞膜内的生理介质和脂质膜。闭壳层的分子选用限制性的计算,而开壳层的自由基选用非限制性的计算。对化合物及其相应的脱氢自由基、阳离子自由基进行量子化学参数计算,分析其抗氧化活性与分子结构之间的构效关系。

1.1 分子优化结构参数分析方法

通过频率计算验证 EGCG 和茶黄素的分子优化构型,当虚频为 0 时,即得到能量极小值^[22]。通过 Multiwfn 软件^[23]对分子结构的参数(键长和键角)进行分析。

1.2 前线分子轨道(Frontier Molecular Orbitals, FMO)分析方法

通过 Multiwfn 软件对 EGCG 和茶黄素的 FMO 及其能级差进行分析。

1.3 分子表面静电势(Molecular Surface Electrostatic Potential, MSEP)分析方法

通过 Multiwfn 和 VMD 软件^[24]对 EGCG 和茶黄素进行电子密度为 0.05 a. u. 的等值面分析,主要分析二者 MSEP 及分布情况。

1.4 自由基清除机制分析方法

DFT 研究自由基清除机制的一般过程为:首先对目标分子在合适的理论水平下进行几何构型优化,确定能量最低结构;其次对反应前后的结构进行优化和焓值计算;最后对相关评价指标进行比较和判定。EGCG、茶黄素等芳香族酚类化合物对活性氧自由基(R[·])的清除活性可考虑 3 种最常见的抗氧化机制,通常由以下热力学参数描述:键解离能(Bond Dissociation Energy, BDE)、电离势(Ionization



Potentials, IP)、质子解离焓 (Proton Dissociation Enthalpy, PDE)、质子亲和势 (Proton Affinity, PA) 和电子转移焓 (Electron Transfer Enthalpy, ETE)。本文使用的气相和溶剂中的质子和电子的热力学数据参考 Z. Marković 等^[25]的方法进行计算。对于芳香族酚类化合物 (Aromatic Phenol, $ArOH$), 以上焓值定义如下:

$$BDE = H(ArO\cdot) + H(H\cdot) - H(ArOH)$$

$$IP = H(ArOH^+) + H(e^-) - H(ArOH)$$

$$PDE = H(ArO\cdot) + H(H^+) - H(ArOH^+)$$

$$PA = H(ArO^-) + H(H^+) - H(ArOH)$$

$$ETE = H(ArO\cdot) + H(e^-) - H(ArO^-)$$

式中, H 指溶剂环境下相应物质的焓/ $(kJ \cdot mol^{-1})$ 。

1.5 自旋密度分布分析方法

使用 M06-2X/6-311++G(d,p) 理论水平进行单点能计算, 并运用 Multiwfn 软件得到产物自由基中原子的自旋布居数。为了清晰可见, 选择各自自由基高活性位点的自旋密度分布图进行对比分析。

2 结果与分析

2.1 分子优化结构参数分析

抗氧化剂的分子结构和电子性质是影响抗氧化剂功效关系的重要因素。EGCG 和茶黄素的结构示意图如图 1 所示。运用 M06-2X/6-311G(d,p)

方法优化得到 EGCG 和茶黄素的主要分子结构参数见表 1。由图 1 和表 1 可知, 计算所得化合物的酚羟基键长几乎没有差异。根据分子价键理论, 同种类型化学键的键长越长, 键能越小, 键越容易断裂, 反应越容易进行, 抗氧化活性越强^[26], 因此, 可通过键长对化合物的抗氧化活性进行初步判断。

由表 1 可知, EGCG 中 C_{5r} 位酚羟基的键长是 0.096 9 nm, 大于其他酚羟基的键长, 这可能是由于该酚羟基可与 C_{4r} 位酚羟基形成分子内氢键, 而氢键的作用可使 $C_{5r}-OH$ 的键长有所伸长^[27]。因此, C_{5r} 位酚羟基更易失去氢原子, 即 EGCG 的 C_{5r} 位可能是最大活性位点。茶黄素中 C_i 位酚羟基的键长是 0.098 2 nm, 大于其他酚羟基的键长, 这可能是由于该酚羟基可与 $C_a=O$ 形成分子内氢键, 而氢键的作用可使 C_i-OH 的键长有所伸长^[27]。因此, C_i 位酚羟基更易失去氢原子, 即茶黄素的苯骞卓酚酮结构中 C_i 位可能是最大活性位点。鉴于茶黄素中 C_i 位酚羟基的键长最长, 且茶黄素所含酚羟基数比 EGCG 多, 初步推测茶黄素的抗氧化活性较高。几何结构的计算表明, 茶黄素中自由基主要以半醌式结构存在, 这正是其较高抗氧化活性的结构特征。半醌式结构越稳定, 则自由基越稳定, 二者呈正相关关系。邻、对位上的酚羟基能有效分散苯氧自由基上的单电子, 稳定相应的自由基, 进而使形成的自由基更稳定, 抗氧化活性更强^[28-29]。对比二者的酚羟基 $C-O-H$ 键角, 发现该键角介于 $107^\circ \sim 110^\circ$ 之间。其中, 茶黄素中 C_i-O-H 键角 (107.4°) 相对较小, 可能是由于茶黄素 C_i 位酚羟基中的氢原子与相邻羰基中电负性较大的氧原子形成了弱的氢键作用。

2.2 FMO 分析

根据 FMO 理论, 最高占据分子轨道 (Highest Occupied Molecular Orbital, HOMO)、最低未占据分子轨道 (Lowest Unoccupied Molecular Orbital, LUMO) 及其能级差常用来判断分子的稳定性、化学活性等。 E_{HOMO} 能量越高, 电子越不稳定, 越容易给出电子; E_{LUMO} 能量越低, 越容易接受电子; LUMO 轨道和 HOMO 轨道的能级差 $\Delta E_{(LUMO-HOMO)}$ 可反映电子从 HOMO 轨道跃迁到 LUMO 轨道需要的能量, 能级

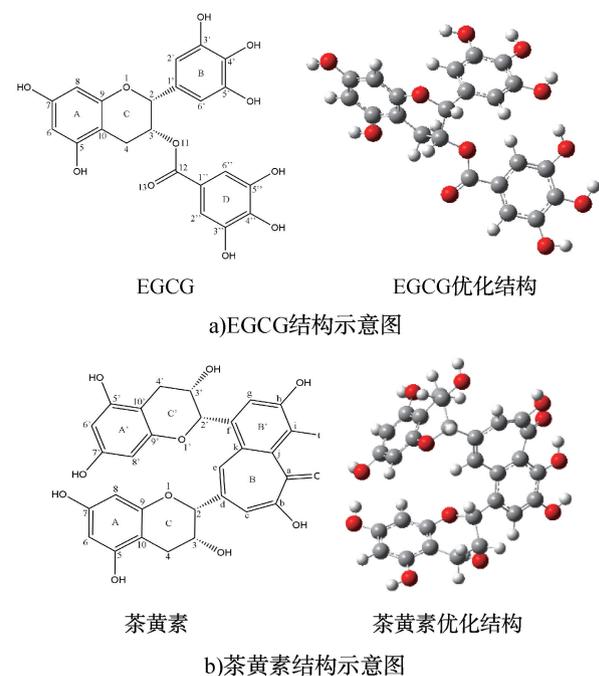


图 1 EGCG 和茶黄素的结构示意图

Fig. 1 Structure diagram of EGCG and theaflavin



表1 EGCG 和茶黄素的酚羟基 O—H 键长和 C—O—H 键角

Table 1 The phenolic hydroxyl O—H bond length and C—O—H bond angle of EGCG and theaflavin

羟基位点	EGCG 酚羟基 O—H 键长/nm	茶黄素酚羟基 O—H 键长/nm	羟基位点	EGCG 酚羟基 C—O—H 键角/(°)	茶黄素酚羟基 C—O—H 键角/(°)
C ₃ O—H	—	0.096 1	C ₃ —O—H	—	107.9
C ₅ O—H	0.096 0	0.096 0	C ₅ —O—H	109.7	109.8
C ₇ O—H	0.096 0	0.096 1	C ₇ —O—H	109.5	109.9
C _{3'} O—H	0.096 1	0.096 4	C _{3'} —O—H	110.0	107.6
C _{4'} O—H	0.096 4	—	C _{4'} —O—H	108.3	—
C _{5'} O—H	0.096 6	0.096 1	C _{5'} —O—H	107.4	109.2
C _{7'} O—H	—	0.096 7	C _{7'} —O—H	—	108.7
C _{3''} O—H	0.096 4	—	C _{3''} —O—H	108.0	—
C _{4''} O—H	0.096 5	—	C _{4''} —O—H	107.9	—
C _{5''} O—H	0.096 9	—	C _{5''} —O—H	109.1	—
C _b O—H	—	0.096 2	C _b —O—H	—	108.9
C _h O—H	—	0.096 6	C _h —O—H	—	107.4
C _i O—H	—	0.098 2	C _i —O—H	—	107.4

注:—表示该结构此处无酚羟基。

差越小,电子越容易被激发,分子越活泼,反应活性越高,与之相关的反应越容易发生^[30-31]。由 FMO 图可直观地分析分子中参与反应的活性位点及其分布情况,分子的 HOMO 电子云密度越高,越有可能与自由基发生反应,且密度较高的区域可能是抗氧化反应的活性位点。EGCG 和茶黄素的 E_{LUMO} 、 E_{HOMO} 及 $\Delta E_{(\text{LUMO}-\text{HOMO})}$ 见表 2。由表 2 可知,茶黄素的 $\Delta E_{(\text{LUMO}-\text{HOMO})}$ 小于 EGCG,可推测茶黄素具有更强的抗氧化活性。EGCG 和茶黄素的 FMO 结构图如图 2 所示。由图 2 可知,EGCG 的 HOMO 轨道在 D 环上的 C_{3'} 和 C_{4'} 位酚羟基电子云分布较多,茶黄素的 HOMO 轨道在苯骞卓酚酮结构中 B' 环上的 C_h 和 C_i 位酚羟基电子云分布较多,这使得二者具有较强的抗氧化活性。

2.3 MSEP 分析

MSEP 是指将单位正电荷从无穷远处移到分子周围空间某点处所做的功,是研究非共价相互作用的重要参数之一。分子在化学反应初始阶段大都通过静电作用缩短距离,故静电势在研究分子之间静电作用、预测反应活性位点等方面具有重要意义。电位高的部分代表亲核反应位点,电位低的部分

表 2 EGCG 和茶黄素的 E_{LUMO} 、 E_{HOMO} 及 $\Delta E_{(\text{LUMO}-\text{HOMO})}$ Table 2 E_{LUMO} , E_{HOMO} and $\Delta E_{(\text{LUMO}-\text{HOMO})}$ of EGCG and theaflavin eV

分子	E_{LUMO}	E_{HOMO}	$\Delta E_{(\text{LUMO}-\text{HOMO})}$
EGCG	-0.05	-7.35	7.30
茶黄素	-1.13	-6.80	5.67

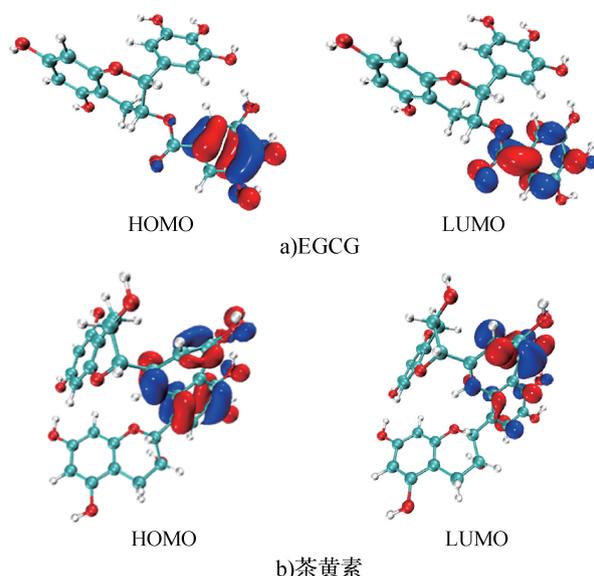


图 2 EGCG 和茶黄素的 FMO 结构图

Fig. 2 FMO structure diagram of EGCG and theaflavin 分代表亲电反应位点^[32-33]。EGCG 和茶黄素的 MSEP 如图 3 所示,其中,颜色深浅反映静电势的强弱,静电势为正的区用红色表示,静电势为负的区域用蓝色表示,分子表面极大值点通过黄色小圆球显示,极小值点通过绿色小圆球显示。由图 3 可知,EGCG 分子在当前计算模型下,MSEP 最小值为 -160.29 kJ/mol,位于羰基附近;MSEP 最大值为 254.81 kJ/mol,位于 C₃ 位酚羟基附近。茶黄素分子中 MSEP 最小值为 -177.40 kJ/mol,位于苯骞卓酚酮结构中 C_b 位酚羟基附近;MSEP 最大值为 276.23 kJ/mol,位于 C₇ 位酚羟基附近。因此,在化学反应初始阶段,亲电试剂和亲核试剂通过静电作

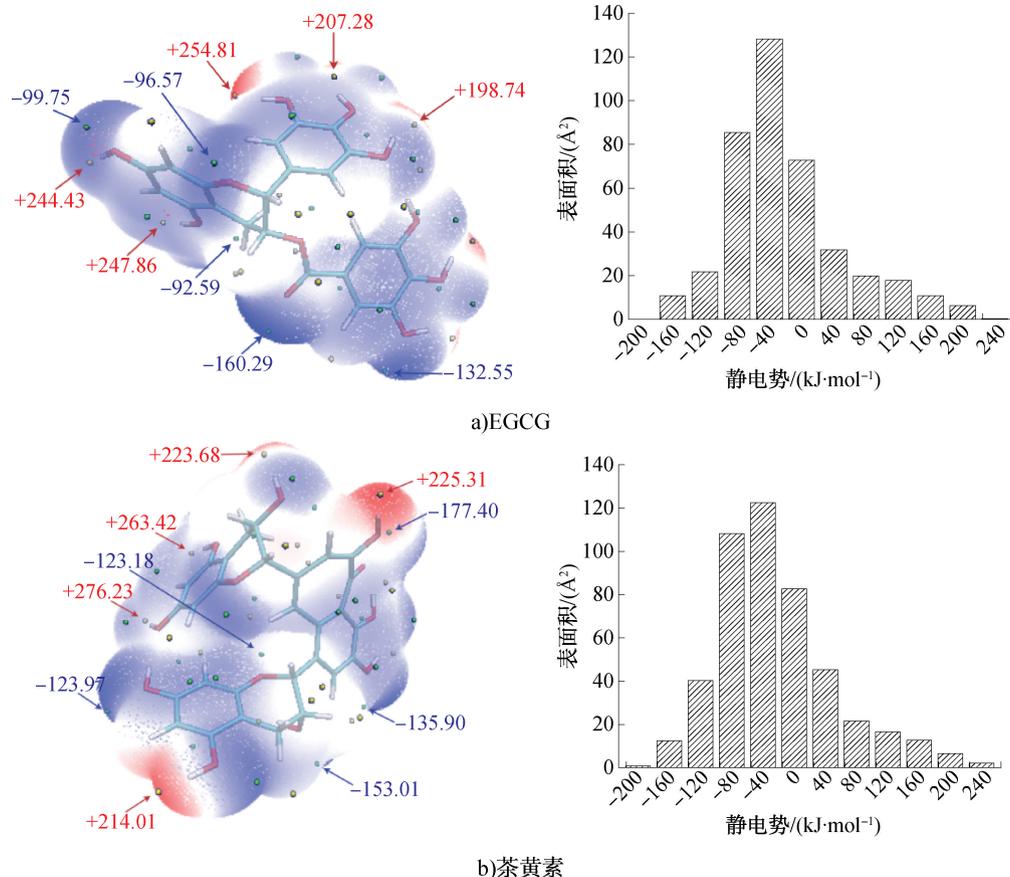


图3 EGCG 和茶黄素的 MSEP
Fig. 3 MSEP of EGCG and theaflavin

用与酚羟基发生作用。这一结果与 FMO 分析结果相一致。同时,图3的直方图显示了 MSEP 分布范围,EGCG 和茶黄素的 MSEP 均主要分布在 $-80 \sim 40$ kJ/mol, 该区间分子表面积分别占总表面积的 70.65% 和 66.46%。

2.4 自由基清除机制分析

2.4.1 HAT 机制

ArOH 通过 O—H 键断裂将 1 个氢原子转移给活性氧自由基 (R^\cdot), 生成无毒的 RH 和酚氧自由基 (ArO^\cdot)。BDE 是与这一机制相关的参数^[34-35], BDE 越低, 抗氧化活性越强。

EGCG 和茶黄素在气相、苯和水溶剂中的 BDE 见表 3。由表 3 可知, EGCG 和茶黄素在不同介质中的 BDE 在 321.9 ~ 476.0 kJ/mol 范围内, 这与文献^[36]中其他多酚类化合物的 BDE 值范围相似。对于 EGCG, 在 3 种介质条件下均表现为 C₅—OH 处 BDE 最小, 表明当 EGCG 与活泼基团反应时, 与 C₅ 位相连的酚羟基更易断裂, 发生抽氢反应生成新的物质, 进而表现出更好的自由基清除能力; C₇—OH

处 BDE 最大, 则 C₇ 位抽氢反应较难进行。对于茶黄素, 在 3 种介质条件下均表现为 C₇—OH 处 BDE 最小, 即 C₇ 位抽氢反应较易进行, 进而表现出更好的自由基清除能力; 气相条件下 C₇—OH 处 BDE 最大, 苯和水溶剂条件下 C₆—OH 处 BDE 最大, 抽氢反应较难进行。其中, 茶黄素 (C₇) 的 BDE 最低, 因此, 茶黄素具有更好的抗氧化活性, 且 C₇ 是其最活跃位点。

2.4.2 SET-PT 机制

SET-PT 机制包括两步反应。在第一步反应中, 电子首先从 ArOH 转移到自由基上, 形成阳离子自由基 $ArOH^{\cdot+}$; 在第二步反应中, 质子从 $ArOH^{\cdot+}$ 转移到 ArO^\cdot 。IP 是与第一步反应相关的参数, PDE 是与第二步反应相关的参数^[37-39]。EGCG 和茶黄素在气相、苯和水溶剂中的 IP 和 PDE 见表 3。由表 3 可见, 不同介质条件下茶黄素的 IP 均小于 EGCG, 表明茶黄素的供电子能力强于 EGCG。经对比, IP 与 HAT 机制中的 BDE 趋势相同。阳离子自由基是带电荷的, 且对各种介质



表3 EGCG和茶黄素在气相、苯和水溶剂中的BDE、IP、PDE、PA和ETE

Table 3 BDE, IP, PDE, PA and ETE of EGCG and theaflavin in gas, benzene and aqueous solvents

羟基位点	HAT			SET-PT			SPLET						
	BDE			IP/PDE			PA			ETE			
	气相	苯溶剂	水溶剂	气相	苯溶剂	水溶剂	气相	苯溶剂	水溶剂	气相	苯溶剂	水溶剂	
EGCG				IP	764.5	6 084.1	11 336.2						
C ₅ -OH	374.0	369.0	369.1	PDE	920.7	-5 302.0	-10 804.1	1 448.6	459.1	145.0	236.6	323.0	387.2
C ₇ -OH	452.7	456.2	372.8		999.4	-5 214.8	-10 800.4	1 389.1	423.2	145.2	374.7	446.2	390.6
C ₃ -OH	390.1	453.9	370.6		936.8	-5 217.1	-10 802.6	1 401.9	432.1	149.5	299.4	434.9	384.2
C ₄ -OH	362.6	359.3	363.7		909.3	-5 311.7	-10 809.5	1 353.9	391.5	126.6	319.8	381.0	400.1
C _{5'} -OH	340.6	337.5	339.1		887.3	-5 333.5	-10 834.1	1 374.3	411.3	136.5	277.5	339.4	365.7
C _{3'} -OH	343.8	341.3	348.9		890.5	-5 329.7	-10 824.2	1 392.4	413.8	122.3	262.5	340.7	389.7
C _{4'} -OH	362.9	360.0	367.5		909.6	-5 311.0	-10 805.7	1 397.9	421.5	133.9	276.1	351.6	396.7
C _{5''} -OH	342.7	343.1	353.2		889.4	-5 327.9	-10 820.0	1 362.6	402.4	136.9	291.2	353.8	379.4
茶黄素				IP	691.8	577.9	461.4						
C ₃ -OH	358.2	360.4	370.6	PDE	977.6	195.6	72.3	1 344.9	404.7	152.2	324.5	368.9	381.5
C ₅ -OH	365.3	363.0	370.4		984.7	198.3	72.1	1 418.1	405.2	147.8	258.4	370.9	385.7
C ₇ -OH	442.4	434.3	450.2		1061.7	269.6	151.8	1 508.3	508.4	201.3	245.2	339.0	412.0
C _{3'} -OH	364.8	343.9	344.1		984.1	179.1	45.8	1 407.5	441.5	139.8	268.5	315.5	367.3
C _{5'} -OH	368.3	364.7	358.9		987.7	199.9	60.5	1 386.2	441.6	136.9	293.3	336.2	385.0
C _{7'} -OH	332.4	321.9	337.5		951.8	157.2	39.1	1 333.1	410.6	122.3	310.5	324.4	378.2
C _b -OH	425.9	436.5	476.0		1045.3	271.8	177.7	1 333.1	485.3	194.2	404.0	364.4	444.8
C _h -OH	362.7	363.1	372.7		982.0	198.4	74.4	1 369.2	414.0	145.0	304.6	362.3	390.8
C _i -OH	353.9	329.9	374.6		973.3	165.1	76.2	1 322.6	347.7	149.7	342.4	395.3	387.9

的极性非常敏感。对于 EGCG, 苯和水溶剂中的 *IP* 显著高于气相中的 *IP*, 表明在此机制中介质对第一步反应影响较大; 对于茶黄素, 水溶剂中的 *IP* 明显低于气相和苯溶剂中的 *IP*, 表明在该条件下极性介质可促进电子的供给。此外, EGCG 在 3 种介质条件下的 *PDE* 均为 C₅'-OH 处最小, C₇-OH 处最大; 茶黄素在 3 种介质条件下的 *PDE* 均为 C₇'-OH 处最小, 但气相条件下 C₇'-OH 处最大, 苯和水溶剂条件下苯骈卓酚酮结构中 C_b-OH 处最大。这与 HAT 机制中的 *BDE* 计算结果一致。其中, EGCG (C₅') 的 *PDE* 最低, 因此, 不同介质条件下 EGCG 具有更好的抗氧化活性, 且 C₅' 是其最活跃位点。对于 EGCG 和茶黄素, 水溶剂中的 *PDE* 显著低于气相和苯溶剂中的 *PDE*, 且顺序为水溶剂 < 苯溶剂 < 气相, 因此, 极性介质可促进质子解离。另外, 对于 EGCG 和茶黄素, 气相条件下, *IP* 远远低于 *PDE*, 表明气相条件对 SET-PT 机制中第一步反应具有重要影响, 而气相条件下的 *BDE* 比 *IP* 低, 表明 HAT 机制比 SET-PT 机制有优势; 溶剂条件下, *PDE* 远远低于 *IP*, 表明 SET-

PT 机制中第二步反应对自由基清除能力具有重要影响, 而溶剂条件下的 *PDE* 比 *BDE* 低, 表明 SET-PT 机制比 HAT 机制有优势。

2.4.3 SPLET 机制 SPLET 机制包括两步反应。在第一步反应中, ArOH 解离为阴离子 ArO⁻ 和质子; 在第二步反应中, 电子从阴离子 ArO⁻ 转移到 ArO[·]。通过计算 *PA* 和 *ETE*, 可了解酚羟基的去质子化和电子转移趋势。EGCG 和茶黄素在气相、苯和水溶剂中的 *PA* 和 *ETE* 见表 3。由表 3 可知, 对于 EGCG, 气相和苯溶剂条件下 C_{4'}-OH 处 *PA* 最小, C₅-OH 处 *PA* 最大; 水溶剂条件下 C_{3'}-OH 处 *PA* 最小, C₃-OH 处 *PA* 最大。对于茶黄素, 3 种介质条件下的 *PA* 均为 C₇'-OH 处最大, 但气相和苯溶剂条件下苯骈卓酚酮结构中 C_i-OH 处最小, 水溶剂条件下 C_{7'}-OH 处最小。对于 EGCG 和茶黄素, 苯和水溶剂中的 *PA* 显著低于气相中的 *PA*, 且顺序为水溶剂 < 苯溶剂 < 气相, 可见极性介质可促进去质子化进程。此外, 对于 EGCG, 气相和苯溶剂条件下 C₅-OH 处 *ETE* 最小, C₇-OH 处 *ETE* 最大; 水溶剂



条件下 $C_{5'}$ -OH 处 *ETE* 最小, $C_{4'}$ -OH 处 *ETE* 最大。对于茶黄素,气相条件下 C_7 -OH 处 *ETE* 最小,苯和水溶剂条件下 C_3 -OH 处 *PA* 最小,气相和水溶剂条件下苯骈卓酚酮结构中 C_b -OH 处 *ETE* 最大,苯溶剂条件下 C_i -OH 处 *ETE* 最大。

对于 EGCG 和茶黄素,气相条件下,*ETE* 远远低于 *PA*,表明气相条件对 SPLET 机制中第二步反应具有重要影响,而气相条件下的 *ETE* 比 *BDE* 低,*BDE* 又比 *PDE* 低,表明 SPLET 机制是主要的自由基清除机制,其次是 HAT 机制;水溶剂条件下,*PA* 远远低于 *ETE*,表明水溶剂条件对 SPLET 机制中第一步反应具有重要影响,而水溶剂条件下的 *PDE* 比 *PA* 低,*PA* 又比 *BDE* 低,表明 SET-PT 机制是主要的自由基清除机制,其次是 SPLET 机制。这一结论与 SET-PT 机制分析结果一致。

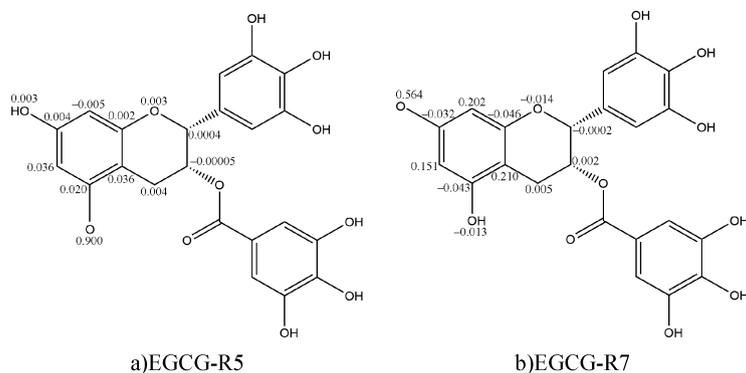
2.5 自旋密度分布分析

多酚类物质的自由基清除活性不仅取决于羟基位点的给氢难易程度,更取决于产物自由基的稳定性,自旋密度分布是评价自由基稳定性的重要指标。一般自旋密度分布越均匀、对称性越好,自由基越容易形成,自由基清除活性越强^[40]。气相条件下 EGCG 和茶黄素自由基的自旋密度分布如图 4 所示,其中 a)—h) 为 EGCG 各自由基的自旋密度分布;i)—q) 为茶黄素各自由基的自旋密度分布。由图 4 可知,EGCG 中 B 环 (C_3 -OH、 C_4 -OH 和 C_5 -OH) 和 D 环 ($C_{3'}$ -OH、 $C_{4'}$ -OH 和 $C_{5'}$ -OH) 失去酚羟基氢原子后自旋密度分布比 A 环 (C_5 -OH 和 C_7 -OH) 更均匀,其中,由于 C_5 -OH 可与 C_4 -OH 形成分子内氢键, C_5 -OH 自由基中失去酚羟基氢原子后氧原子的自旋布居数最小,为 0.313,而 C_5 -OH 自由基中相应氧原子的自旋布居

数则较高,为 0.900。因此,EGCG 中 B 环 $C_{5'}$ -OH 的自由基清除活性较高。茶黄素中 B 环 (C_b -OH) 和 B'环 (C_h -OH 和 C_i -OH) 失去酚羟基氢原子后自旋密度分布比 A 环、A'环、C 环和 C'环更均匀,其中,由于 C_b -OH 可与 C_a =O 形成分子内氢键, C_b -OH 自由基中失去酚羟基氢原子后氧原子的自旋布居数最小,为 0.218,而 C_3 -OH 自由基中相应氧原子的自旋布居数则较高,为 0.837。因此,茶黄素中苯骈卓酚酮结构的 B 环 C_b -OH 的自由基清除活性较高。对比二者活性位点的氧原子自旋布居数,可知茶黄素具有相对更高的自由基清除活性。

3 结论

本研究基于 DFT 方法,采用 M06-2X/6-311++G(d,p)//M06-2X/6-311G(d,p)理论水平,从分子优化结构参数分析、FMO 分析、MSEP 分析、自由基清除机制分析和自旋密度分布分析这 5 个方面研究了绿茶和红茶中主要功能成分 EGCG 和茶黄素的抗氧化活性与其分子结构之间的构效关系,得到如下结论:EGCG 和茶黄素均具有抗氧化活性,而茶黄素的抗氧化活性更高,且其抗氧化活性高低受酚羟基位置的影响。在非极性溶剂中,SPLET 机制是优先反应机制;而在极性溶剂中,SET-PT 是优先反应机制。酚羟基的位置对自由基清除活性的影响较为明显。EGCG 在抗氧化反应过程中的主要作用位点可能是 B 环的 C_5 -OH,而茶黄素的反应活性位点可能是 A'环的 C_7 -OH。本文对 EGCG 和茶黄素抗氧化活性的结构因素进行了深入分析,揭示了其抗氧化机制,可为抗氧化活性较强的天然活性物质的筛选和结构修饰提供理论参考和数据支撑,对茶叶中典型的功能性成分抗氧化活性的理论研究提供新的视角。



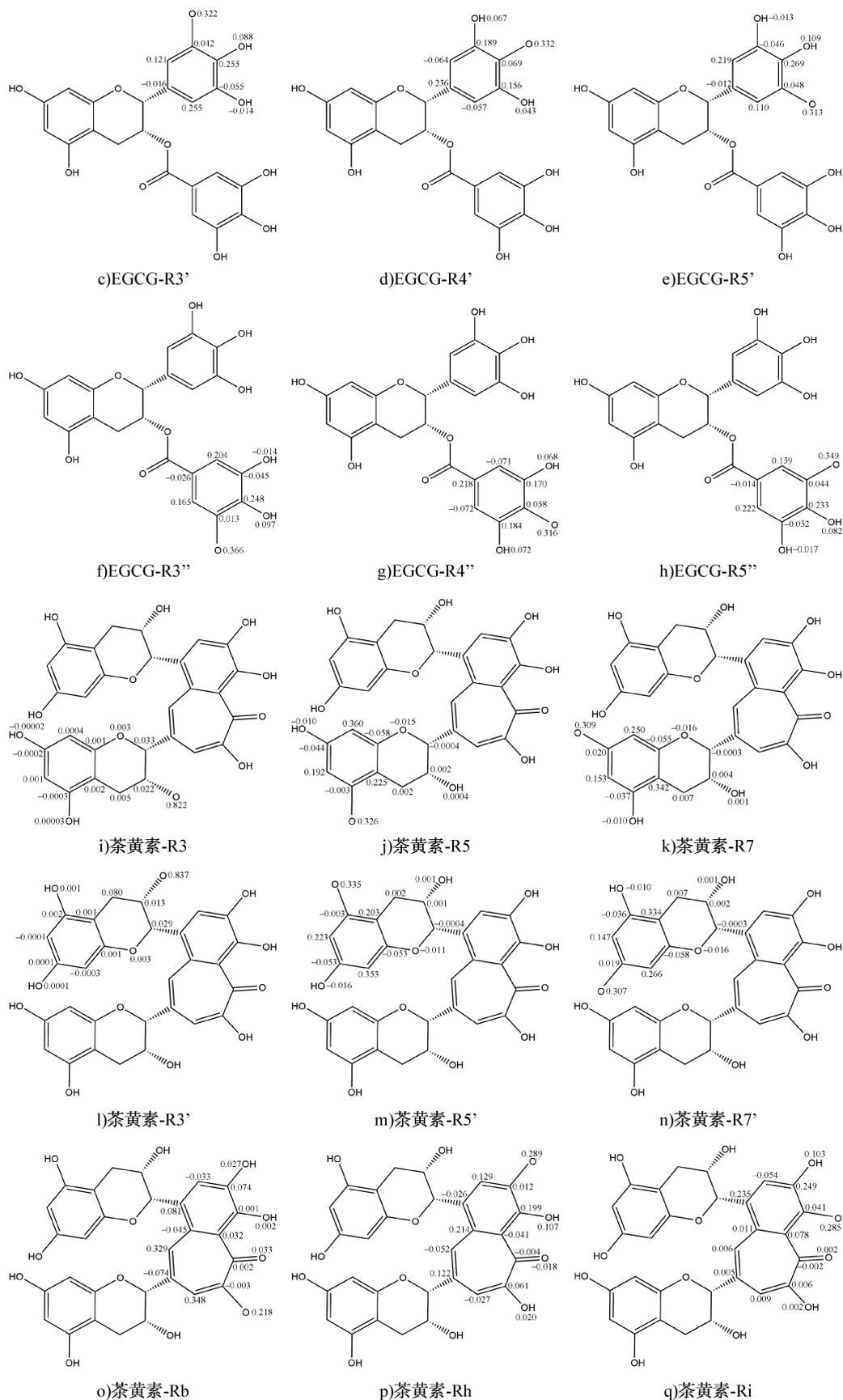


图4 气相条件下EGCG和茶黄素自由基的自旋密度分布

Fig. 4 Spin density distribution of EGCG and theaflavin free radicals in gas phase



参考文献:

- [1] 李朝云,邱树毅,班世栋,等. 绿茶中表没食子儿茶素没食子酸酯生物活性研究进展[J]. 中国酿造,2019,38(9):12-18.
- [2] 闫晓佳,梁秀萍,李思琪,等. 表没食子儿茶素没食子酸酯性质、稳定性及其递送体系的研究进展[J]. 食品科学,2020,41(1):258-266.
- [3] 刘昌伟,张梓莹,王俊懿,等. 茶黄素生物学活性研究进展[J]. 食品科学,2022,43(19):318-329.
- [4] 谢虹,罗志聪,李熙灿. 茶黄素抗氧化化学机制研究[J]. 食品与机械,2018,34(3):23-26.
- [5] AHMAD A, NOSHEEN F, ARSHADM U, et al. Isolation and antioxidant characterization of theaflavin for neuroprotective effect in mice model[J]. Food Science & Nutrition,2023,11(6):3485-3496.
- [6] 刘晓慧,揭国良,林康,等. EGCG 和茶氨酸对细胞氧化损伤的协同保护和修复作用研究[J]. 茶叶科学,2014,34(3):239-247.
- [7] 王伟伟,苏威,江和源,等. EGCG 乙酰化衍生物清除自由基活性的构效分析[J]. 食品工业科技,2017,38(7):59-63.
- [8] LEE H J, CHO H S, PARK E, et al. Rosmarinic acid protects human dopaminergic neuronal cells against hydrogen peroxide-induced apoptosis[J]. Toxicology,2008,250(2/3):109-115.
- [9] VAGÁNEK A, RIMARČÍK J, DROPKOVÁ K, et al. Reaction enthalpies of OH bonds splitting-off in flavonoids: The role of non-polar and polar solvent[J]. Computational and Theoretical Chemistry,2014,10(1050):31-38.
- [10] 卢俊,高涵,卢庆华,等. 酚酸物质抗氧化性及溶剂化效应的理论计算[J]. 食品科学,2024,45(7):52-60.
- [11] STEELE V E, KELLOFF G J, BALENTINE D, et al. Comparative chemopreventive mechanisms of green tea, black tea and selected polyphenol extracts measured by *in vitro* bioassays[J]. Carcinogenesis,2000,21(1):63-67.
- [12] JOVANOVIĆ S V, HARA Y, STEENKEN S, et al. Antioxidant potential of theaflavins. A pulse radiolysis study[J]. Journal of the American Chemical Society,1997,119(23):5337-5343.
- [13] 常瑞,朱秋劲. 密度泛函理论在多酚抗氧化机制中的应用[J]. 山地农业生物学报,2019,38(2):52-60.
- [14] GALANO A, MAZZONE G, ALVAREZ-DIDUK R, et al. Food antioxidants: Chemical insights at the molecular level[J]. Annual Review of Food Science and Technology,2016,7:335-352.
- [15] JOMOVA K, LAWSON M, DROSTINOVA L, et al. Protective role of quercetin against copper (II)-induced oxidative stress; A spectroscopic, theoretical and DNA damage study[J]. Food and Chemical Toxicology,2017,110:340-350.
- [16] 裴玲,徐秋红. 白藜芦醇类似物结构与抗氧化活性关系研究[J]. 天然产物研究与开发,2017,29(8):1277-1283,1306.
- [17] 杨怡萌,陈星宇,吴娅,等. 蒲公英黄酮抗氧化活性的构效关系分析[J]. 化学通报,2020,83(11):1031-1037.
- [18] ANOUAR E H. A quantum chemical and statistical study of phenolic schiff bases with antioxidant activity against DPPH free radical[J]. Antioxidants,2014,3(2):309-322.
- [19] 董梦依,王倩芸,刘科梅,等. 量子化学计算对自由基清除剂的构效关系[J]. 食品工业科技,2018,39(16):21-26.
- [20] FRISCH M J, TRUCKS G W, SCHLEGEL H B, et al. Gaussian 16[M]. Rev. A.03. Wallingford:Gaussian Inc.,2016.
- [21] DENNINGTON R, KEITH T A, MILLAM J M. GaussView [M]. 6th ed. Shawnee Mission:Semichem Inc.,2016.
- [22] 吴莉,齐婧敏,吕庆章. 六种花青素类化合物抗氧化活性的 DFT 研究[J]. 化学研究与应用,2014,26(7):997-1003.
- [23] LU T, CHEN F W. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer[J]. Journal of Computational Chemistry,2012,33(5):580-592.
- [24] HUMPHREY W, DALKE A, SCHULTEN K. VMD: Visual molecular dynamics[J]. Journal of Molecular Graphics,1996,14(1):33-38.
- [25] MARKOVIĆ Z, TOŠOVIĆ J, MILENKOVIĆ D, et al. Revisiting the solvation enthalpies and free energies of the proton and electron in various solvents[J]. Computational and Theoretical Chemistry,2016,1077:11-17.
- [26] 刘靖丽,于海东,梁艳妮. 中药黄芪中黄酮类化合物抗氧化活性的 DFT 研究[J]. 化学与生物工程,2019,36(1):36-40.
- [27] MISHRA S, TANDON P, ERAVUCHIRA P J, et al. Vibrational spectroscopy and density functional theory analysis of 3-O-caffeoylquinic acid[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,2013,104:358-367.
- [28] 张鑫,杨英杰,吕庆章. 4 种甘草黄酮类化合物抗氧化活性的密度泛函理论研究[J]. 计算机与应用化学,2012,29(6):656-660.
- [29] 张鑫,杨英杰,吕庆章. 黄芪异黄酮类化合物抗氧化活性的密度泛函理论研究[J]. 化学研究与应用,2012,24(11):1662-1669.
- [30] HUANG Y, RONG C Y, ZHANG R Q, et al. Evaluating frontier orbital energy and HOMO/LUMO gap with descriptors from density functional reactivity theory[J]. Journal of Molecular Modeling,2017,23(1):3.
- [31] 胡彦彦,于浩飞,张荣平. 人参皂苷 Rg₃ 对 H₂O₂ 导致海马神经元损伤的保护作用研究[J]. 中成药,2014,36(4):670-674.
- [32] ZHOU B, HU X Q, ZHU J J, et al. Release properties of tannic acid from hydrogen bond driven antioxidative cellulose nanofibrous films[J]. International Journal of Biolog-



- ical Macromolecules, 2016, 91: 68–74.
- [33] SHANG Y X, LI X Z, LI Z S, et al. Theoretical study on the radical scavenging activity and mechanism of four kinds of Gnetin molecule [J]. Food Chemistry, 2022, 378: 131975.
- [34] 王淳纯, 覃小丽, 阚建全, 等. 量子化学计算法比较不同脂肪酸分子的反应活性位点 [J]. 食品科学, 2021, 42(8): 74–80.
- [35] 王兰娇, 李大婧, 张良聪, 等. 利用密度泛函理论分析蓝莓花色苷抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2020, 41(17): 53–59.
- [36] XUE Y S, ZHENG Y G, AN L, et al. Density functional theory study of the structure-antioxidant activity of polyphenolic deoxybenzoins [J]. Food Chemistry, 2014, 151: 198–206.
- [37] ZHENG Y Z, DENG G, CHEN D F, et al. Theoretical studies on the antioxidant activity of pinobanksin and its ester derivatives: Effects of the chain length and solvent [J]. Food Chemistry, 2018, 240: 323–329.
- [38] ZHENG Y Z, CHEN D F, DENG G, et al. The antioxidative activity of piceatannol and its different derivatives: Antioxidative mechanism analysis [J]. Phytochemistry, 2018, 156: 184–192.
- [39] MARKOVIĆ S, TOŠOVIĆ J. Comparative study of the antioxidative activities of caffeoylquinic and caffeic acids [J]. Food Chemistry, 2016, 210: 585–592.
- [40] 齐婧敏. 几种天然黄酮类化合物清除自由基活性的密度泛函理论研究 [D]. 新乡: 河南师范大学, 2014: 47–48.

Comparative study on antioxidant activity of EGCG and theaflavin based on density functional theory

XU Yucong¹, LI Wenzheng¹, FAN Maomei¹, BU Ying^{1,3}, ZHU Wenhui¹, LI Jianrong^{1,2}, LI Xuepeng¹

1. College of Food Science and Technology/National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, Bohai University, Jinzhou 121013, China;

2. Collaborative Innovation Center for Key Technology of Seafood Deep Processing Co-constructed by Liaoning Province and Ministry of Education, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;

3. Institute of Ocean Research, Bohai University, Jinzhou 121013, China

Abstract: The molecular structures and corresponding free radicals of the main functional components epigallocatechin gallate (EGCG) and theaflavin in green tea and black tea were theoretically calculated by using the density functional theory (DFT) method of quantum chemistry. The differences in antioxidant activity and solvation effect between EGCG and theaflavin were analyzed using various antioxidant indicators, and the structure-activity relationship between the antioxidant activity of EGCG and theaflavin and their corresponding molecular structures was explored. The results showed that theaflavin had higher antioxidant activity than EGCG, and its frontier molecular orbital energy level $\Delta E_{(LUMO-HOMO)}$ was only 5.67 eV, phenol hydroxyl BDE of C_7-OH was only 321.9 kJ/mol, IP was only 461.4 kJ/mol, and the spin density of C_6-OH oxygen atom was only 0.218. In non-polar solvents, sequential proton-loss electron transfer (SPLET) is the preferred reaction mechanism. In polar solvents, single electron transfer followed by proton transfer (SET-PT) is the preferred reaction mechanism. C_5-OH of B ring may be the reactive site of EGCG, while C_7-OH of A' ring may be the reactive site of theaflavin. Therefore, theaflavin has strong antioxidant activity, and the position of the phenol hydroxyl group has a significant influence on it. The DFT method can provide a new perspective for studying the antioxidant activity of tea's functional components.

Key words: epigallocatechin gallate; theaflavin; density functional theory; antioxidant activity; free radical

[责任编辑: 杨晓娟 申慧珊]