

文章编号: 1674-8085(2015)04-0027-07

没食子酸及其衍生物抗氧化活性的理论研究

*裴 玲^{1,2}, 张海霞^{1,2}, 张 岩^{1,2}

(1.滨州学院化学工程系, 山东, 滨州 256603; 2.滨州市材料化学重点实验室, 山东, 滨州 256603)

摘 要: 采用量子化学密度泛函理论(DFT)中的 B3LYP 方法在 6-311+G(d,p)水平下对没食子酸(GA)及其衍生物没食子酸甲酯(MG)、没食子酸乙酯(EG)、没食子酸丙酯(PG)、没食子酸异丙酯(IPG)、没食子酸丁酯(BG)和没食子酸叔丁酯(TBG)进行了优化计算, 从 7 个分子的几何结构、氢原子的 NBO 电荷、羟基解离能、电离势、HOMO、LUMO、 $\Delta E_{\text{(LUMO-HOMO)}}$ 等方面分析了 7 种物质清除自由基的可能机理。结果表明, 7 种物质 C(2)位的酚羟基为最大可能活性位点, 容易发生抽氢反应, 其次是 C(1)位和 C(3)位。抽氢反应表明, 在非极性溶剂中其抗氧化能力大小为 TBG > BG > IPG > PG > EG > MG > GA; 电子转移机理表明, 极性溶剂中其抗氧化能力大小为 TBG > IPG > BG $\approx$ PG $\approx$ EG > MG > GA。

关键词: 没食子酸; 抗氧化性; 解离能; 密度泛函

中图分类号: O 641

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2015.04.006

THEORY STUDY ON THE ANTIOXIDATION ACTIVITY OF GALLIC ACID AND ITS DERIVATIVES

*PEI Ling^{1,2}, ZHANG Hai-xia^{1,2}, ZHANG Yan^{1,2}

(1.Department of Chemical Engineering, Binzhou University, Binzhou, Shandong 256603, China;

2. Binzhou Key Laboratory of Material Chemistry, Binzhou, Shandong 256603, China)

Abstract: The geometrical structures of gallic acid and its derivatives including methyl gallate (MG), ethyl gallate (EG), propyl gallate (PG), isopropyl gallate (IPG), butyl gallate (BG) and tertbutyl gallate (TBG) were calculated by using the Density Functional Theory (DFT) B3LYP method at the level of 6-311+G (d, p). The possible mechanism of scavenging free radicals of the seven compounds were discussed in detail based on the analysis of molecular structures, NBO charges on hydrogen atoms, the dissociation energy and ionization potential of O-H bonds, the energies of the highest occupied molecular orbital (HOMO) and the lowest unoccupied molecular orbital (LUMO), the energy gap between HOMO and LUMO, and etc. The calculated results showed that C2-OH should be the most active site for eliminating free radicals, next as the C1-OH and C3-OH. Pumping hydrogen reaction indicated that the order of the antioxidative activities of seven compounds in non-polar solvent listed as: TBG > BG > IPG > PG > EG > MG > GA. Electron transfer mechanism indicated that the order in polar solvent listed as: TBG > IPG > BG $\approx$ PG $\approx$ EG > MG > GA.

Key words: gallic acid; antioxidation; dissociation enthalpy; DFT

收稿日期: 2015-04-04; 修改日期: 2015-06-01

基金项目: 山东省滨州市科技发展计划项目 (2014ZC0306), 滨州学院科研基金项目 (BZXYG1210)

作者简介: *裴 玲(1980-), 女, 山东邹平人, 讲师, 硕士, 主要从事量子化学理论计算研究(E-mail: peiling1201@163.com);

张海霞(1988-), 女, 山东无棣人, 助教, 硕士, 主要从事胶体与界面化学研究(Email: angle00521@163.com);

张 岩(1983-), 女, 山东枣庄人, 讲师, 主要从事天然有机物的提取研究(E-mail: yanzhang19@163.com).

多酚类物质是一类广泛存在于植物体内的次生代谢物质的混合物,具有众多的生物活性,尤其是在清除自由基能力方面表现了很好的抗氧化性^[1-4],成为近年来备受关注的具有广泛开发前景的天然抗氧化剂。其抗氧化结构-活性相关性研究引起了人们研究的兴趣,并取得了一些研究成果^[5-8]。没食子酸(GA)及其衍生物是植物界中分布较广的一类多酚类物质,具有抗氧化性,作为常见的油溶性抗氧化剂,已被广泛应用于油脂及含油食品、油炸食品、肉类食品、花粉食品、化妆品等。马耀等人^[9]采用了循环伏安扫描和电子自旋共振相结合的方法对没食子酸(GA)及其衍生物没食子酸甲酯(MG)、没食子酸乙酯(EG)、没食子酸丙酯(PG)、没食子酸异丙酯(IPG)、没食子酸丁酯(BG)和没食子酸叔丁酯(TBG)的电子转移能力、清除自由基的能力和临床应用之间的关系进行了研究,结果表明 GA 类化合物能有效清除自由基,故而显示抗氧化性。为了进一步深入了解此类物质的抗氧化机理,本研究用 GA 类化合物清除自由基能力的大小代表其抗氧化性的相对强弱,运用密度泛函方法计算 GA 类化合物的结构性质,从理论上对其抗氧化活性进行详细的理论分析,以期能从理论的角度,深化 GA 类物质的抗氧化性机理研究,为能更好的开发利用天然

植物源多酚类提供理论依据。

1 计算方法

构建 GA 及其衍生物的初始构象后,运用密度泛函 B3LYP 方法,在 6-311+G(d,p)基组的水平下,对 GA 类化合物及其脱氢自由基的几何构型进行优化和能量计算,得到优势构象,频率分析表明无虚频,为势能面上的稳定驻点。所有的计算通过 Gaussian 03 程序完成^[10]。

2 结果与讨论

2.1 GA 类化合物及自由基的优化

2.1.1 GA 类化合物的优化

根据理论分析三个羟基成顺式时,相邻两 OH 可形成弱氢键,此时化合物较稳定,但三个 OH 的取向可能会影响化合物的稳定性,为了全面考虑化合物的稳定性,我们优化了三个 OH 成顺式取向的两种情况,两种情况下优化的 GA 类化合物几何构型见图 1。不同构型下优化的化合物的能量、相对能量列于表 1。由表 1 的数据可知,各个化合物构型 I 和构型 II 的能量相差 $2 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 左右,说明两种构型都是其稳定结构。

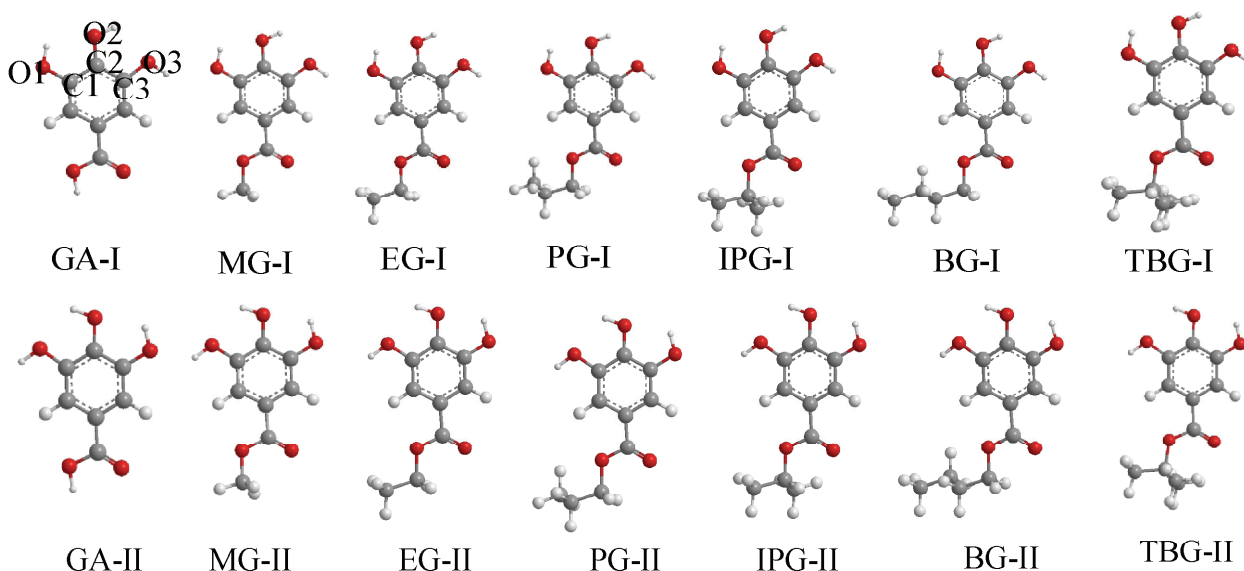


图 1 GA 及其衍生物的几何构型

Fig.1 The molecular structures of GA and its derivatives

表 1 GA 及其衍生物的能量
Table 1 The energies of GA and its derivatives

	E/a.u.(构型 I)	E/a.u.(构型 II)	RE(E _{II} -E _I)/kJ·mol ⁻¹
GA	-646.6941	-646.6934	1.82
MG	-686.0040	-686.0031	2.24
EG	-725.3334	-725.3325	2.47
PG	-764.6575	-764.6564	2.70
IPG	-764.6618	-764.6609	2.40
BG	-803.9818	-803.9808	2.71
TBG	-803.9849	-803.9839	2.43

2.1.2 GA 类化合物自由基的优化

由于酚类抗氧化剂在清除自由基过程中主要是通过抽氢反应产生较稳定的半醌自由基来终止链式反应，因此我们主要考虑生成半醌自由基的情

况，考虑到形成自由基后是否存在氢键，优化了 7 种物质可能形成的半醌式自由基，以 PG 为例画出形成自由基时有无氢键的结构，结果见图 2。各个物质自由基的能量列于表 2 中。

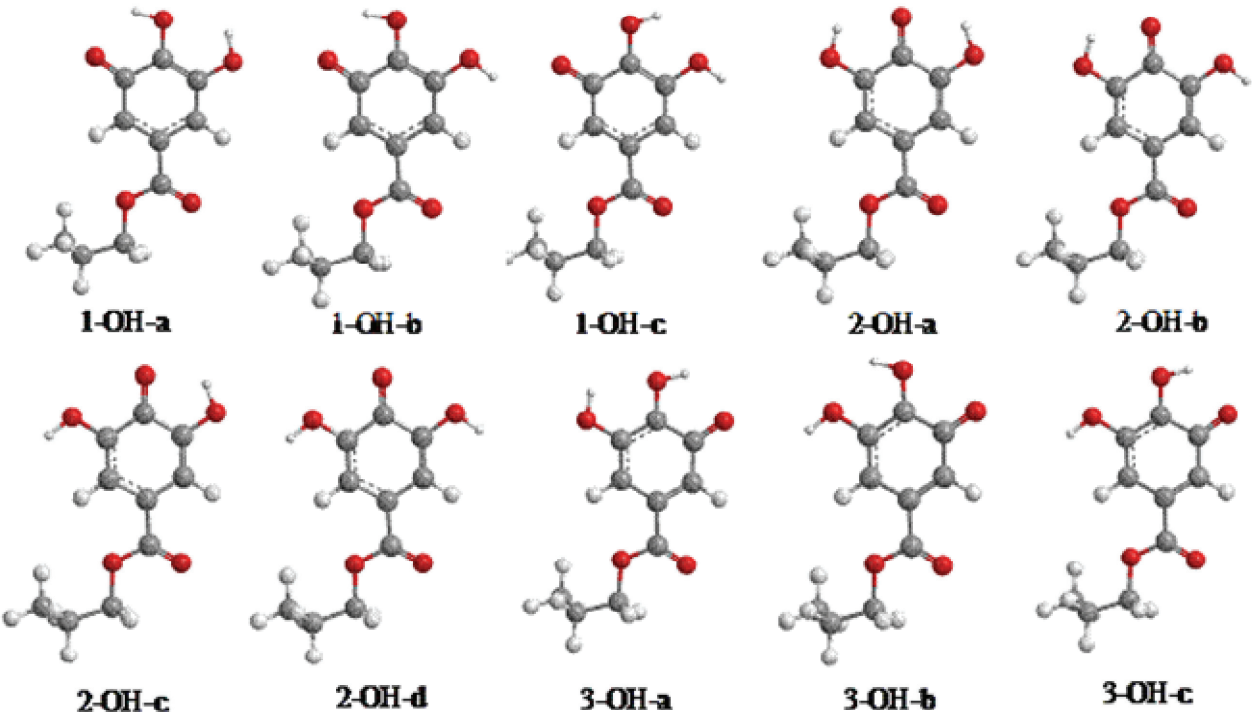


图 2 PG 的自由基构型
Fig.2 The molecular structures of propyl gallate's radical

酚类化合物清除自由基的活性，取决于环上羟基抽氢反应的难易和抽氢后生成自由基的稳定性。从每种分子自由基的能量来看，三个酚羟基各去掉一个 H 原子后形成的自由基，有两个氢键的自由基(1-OH-a、2-OH-a、3-OH-a)最稳定，其次是含有一个氢键的自由基(1-OH-b、1-OH-c、2-OH-b、2-OH-c、

3-OH-c)，最不稳定的是不含氢键的自由基(2-OH-d)。但含有一个氢键自由基时，OH 的 H 与相邻 C=O 双键的 O 形成氢键的自由基比 OH 的 H 与相邻 OH 的 O 形成氢键的自由基更稳定，如 1-OH-b 比 1-OH-c 稳定，3-OH-c 比 3-OH-b 稳定。

表 2 各个自由基的能量(单位: a.u.)
Table 2 The energies of every radicals

		GA	MG	EG	PG	IPG	BG	TBG
	1-OH-a	-646.0577	-685.3682	-724.6978	-764.0219	-764.0264	-803.3463	-803.3497
1-OH	1-OH-b	-646.0532	-685.3638	-724.6934	-764.0175	-764.0220	-803.3419	-803.3453
	1-OH-c	-646.0459	-685.3564	-724.6861	-764.0102	-764.0146	-803.3346	-803.3379
	2-OH-a	-646.0678	-685.3785	-724.7081	-764.0322	-764.0367	-803.3566	-803.3600
2-OH	2-OH-b	-646.0583	-685.3690	-724.6987	-764.0227	-764.0272	-803.3471	-803.3505
	2-OH-c	-646.0576	-685.3682	-724.6977	-764.0217	-764.0263	-803.3461	-803.3496
	2-OH-d	-646.0452	-685.3558	-724.6854	-764.0094	-764.0139	-803.3337	-803.3371
	3-OH-a	-646.0570	-685.3676	-724.6972	-764.0213	-764.0258	-803.3456	-803.3491
3-OH	3-OH-b	-646.0444	-685.3548	-724.6843	-764.0083	-764.0129	-803.3327	-803.3361
	3-OH-c	-646.0518	-685.3624	-724.6919	-764.0159	-764.0205	-803.3402	-803.3438

2.2 反应活性位点确定

2.2.1 GA 类化合物及其自由基的结构参数

根据表 1 知, 每种分子的结构 I 的能量较低, 较稳定, 表 3 列出了各化合物构型 I 的主要结构参数。酚类化合物清除自由基活性与酚羟基键强度成

反比, O-H 键长越长, 键强度越低, 则抗氧化剂活性越高。从表 2 可以看出, 7 种物质的 $R_{O(2)-H(2)} > R_{O(1)-H(1)} > R_{O(3)-H(3)}$, 说明 C(2)位的酚羟基键最弱, 即 7 种物质的 C(2)位的羟基氢原子可能更容易失去。

表 3 GA 及其衍生物的主要几何结构参数(键长单位: nm)
Table 3 The main geometry parameters of GA and its derivatives

	$R_{C(1)-O(1)}$	$R_{C(2)-O(2)}$	$R_{C(3)-O(3)}$	$R_{O(1)-H(1)}$	$R_{O(2)-H(2)}$	$R_{O(3)-H(3)}$
GA	0.1361	0.1365	0.1376	0.09661	0.09663	0.09626
MG	0.1362	0.1367	0.1376	0.09661	0.09662	0.09625
EG	0.1362	0.1367	0.1376	0.09661	0.09662	0.09625
PG	0.1362	0.1367	0.1376	0.09661	0.09663	0.09625
IPG	0.1362	0.1367	0.1377	0.09661	0.09663	0.09625
BG	0.1362	0.1367	0.1376	0.09661	0.09663	0.09625
TBG	0.1363	0.1367	0.1377	0.09661	0.09663	0.09625

鉴于各自由基的稳定性, 后面讨论半醌式自由基时主要以形成的双氢键自由基作为基础来讨论。比较表 2 含有两个氢键的自由基, 发现各个物质的 2-OH-a 自由基能量最低, 其次是 1-OH-a, 3-OH-a 自由基的能量最高, 据此我们可以初步判断当 C(2) 上 OH 失去 H 原子后形成的自由基最稳定。

2.2.2 NBO 电荷布居分析

亲电基团倾向于进攻负电荷多的原子, 亲核基团倾向于进攻正电荷多的原子。人体内自由基多是氧自由基, 其上的氧原子带有较大的负电荷。酚类

化合物清除自由基的最主要机制是酚羟基与自由基发生抽氢反应。所以酚羟基 H 原子所带正电荷越正, 与自由基上带负电荷的氧原子吸引作用越强, 就越容易与自由基发生反应。因此带较大正电荷的酚羟基 H 原子就是自由基反应的最大可能活性位点。表 4 列出了 7 种分子的酚羟基 H 的 NBO 电荷。从表 4 可以看出, 7 种分子的 C(2)位的羟基 H 原子所带正电荷稍大, 所以 2 位 C 原子上的羟基氢原子与自由基作用稍大, 2 位 C 原子上的羟基为最大可能活性位点。

表 4 羟基 H 原子上的 NBO 电荷布局数
Table 4 The NBO charge on the hydroxyl H atoms

	GA	MG	EG	PG	IPG	BG	TBG
1-OH	0.488	0.487	0.487	0.487	0.487	0.487	0.487
2 OH	0.501	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
3-OH	0.487	0.486	0.486	0.486	0.486	0.486	0.486

2.2.3 O-H 键解离焓与电离势

目前普遍认为^[11-12]在非极性溶剂中, 抗氧化剂倾向于通过一步抽氢反应清除自由基, 以键解离焓(BDE)为理论指标; 在极性溶剂中, 抗氧化剂清除自由基主要通过电子转移反应进行, 以电离势(IP)为理论指标。BDE 为理论指标对应抗氧化剂清除自由基的一步抽氢机理, BDE 越低说明 O-H 键越弱, 当与自由基反应时, 越容易断裂, 抽氢反应越容易进行, 相应的抗氧化剂活性可能越强。IP 为理论指标对应抗氧化剂清除自由基的电子转移机理, IP 越小越容易发生电子转移, 相应的抗氧化剂活性可能越强。键解离焓和电离势可根据文献[13]公式 $BDE = H_f + H_h - H_p$ 、 $IP = H_c - H_p$ 来计算, 其中 H_f 是母体分子失去氢原子后产生的自由基的焓, H_h 是氢原子的焓, H_p 是母体分子的焓, H_c

是相应的自由基阳离子的生成焓。计算时设定温度为标准温度, 校正因子 $v = 0.9804$ ^[14]。表 5 列出了计算得到的 GA 类化合物的不同羟基的脱氢解离焓和电离势。

从表 5 的结果发现, 当 GA 类化合物生成半醌自由基时, 比较这 3 种断键方式, 发现 C(2)上 O-H 键 BDE 最小, 其次是 C(1)上 O-H 和 C(3)上 O-H 键的 BDE, 分别比 2 号位要高大约 $25 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 和 $27 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, IP 也有类似现象。由此可以判断生成 3 种可能的半醌自由基由易到难依次为: 2-OH、1-OH、3-OH 自由基。此结论和表 2 中自由基能量分析的结果是一致的, 2 号位在容易发生反应, 体现出较好的抗氧化性。主要原因在于 2 号位上发生抽氢反应以后, 形成更加稳定的分子内氢键, 从而使其产物的稳定性较好, 容易发生反应。

表 5 GA 及其衍生物稳定自由基的 OH 键解离能和电离势(单位: $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)
Table 5 The BDE and IP of O-H bonds at different position of GA and its derivatives

	BDE(1-OH-a)	BDE(2-OH-a)	BDE(3-OH-a)	IP(1-OH-a)	IP(2-OH-a)	IP(3-OH-a)
GA	320.5163	295.9181	322.3548	2449.66	2415.09	2454.49
MG	317.1884	292.3038	318.8592	2434.69	2397.75	2438.53
EG	315.4951	290.4685	317.1454	2429.76	2393.30	2433.56
PG	313.7321	288.7385	315.5266	2428.57	2390.85	2432.53
IPG	313.8005	288.7798	315.3714	2425.55	2387.75	2429.19
BG	312.2457	287.5318	314.0187	2427.75	2390.07	2431.92
TBG	311.5122	286.5202	313.2091	2419.13	2381.20	2423.04

2.3 抗氧化活性比较

2.3.1 一步抽氢机理

当 GA 类化合物形成半醌自由基时, 各种物质的 BDE 大小顺序为: $TBG < BG < IPG < PG < EG < MG < GA$, 由此可以判定在非极性溶剂中 7 种物质的抗氧化活性为 $TBG > BG > IPG > PG > EG >$

$MG > GA$ 。影响 BDE 的一个很重要的因素是分子内的氢键效应, 分子内氢键可以稳定化合物, 也可以稳定自由基, 但对后者的稳定作用更大。另一个因素是电子效应, 给电子取代基降低 O-H 的 BDE, 吸电子取代基升高 O-H 的 BDE, 7 种基团(H , CH_3 , C_2H_5 , C_3H_7 , $CH(CH_3)_2$, C_4H_9 , $C(CH_3)_3$)的给电子能力

依次增强,因此其降低 O-H 的 BDE 依次增强,结果导致 7 种物质的 BDE 大小为 $TBG < BG < IPG < PG < EG < MG < GA$ 。

3.3.2 电子转移机理

(1) 电离势分析

根据表 5 中的数据可以看出,在形成半醌自由基时,各物质的 IP 大小顺序为: $TBG < IPG < BG < PG < EG < MG < GA$,由此可以判断在极性溶剂中 7 种分子的抗氧化性为 $TBG > IPG > BG > PG > EG > MG > GA$ 。

(2) 前线分子轨道及轨道能级分析

前线分子轨道理论认为分子在反应过程中优先起作用的是前线分子轨道。它对于分子的化学性质特别是其反应活性有着决定性作用。一般地讲, HOMO 对电子束缚较为松弛,具有电子给予体的性质,表现为 E_{HOMO} 越大,其上电子受核吸引力越小,电子越不稳定,越易失去。抗氧化机理中参数 IP

与最高占据轨道(HOMO)的能级密切相关。在以 IP 为指标的单电子转移机理中,从母体化合物中转移一个电子的难易程度,直接决定了化合物抗氧化能力的强弱。而对母体化合物而言,其最高占据轨道(HOMO)能级越高,轨道中的电子受到原子核的束缚越松弛,就越容易发生质子伴随的电子转移反应,分子的抗氧化性就越好。7 个分子的 HOMO 数值见表 6。从表 6 中可看到,7 种分子的 HOMO 能级顺序为 $TBG > IPG > BG \approx PG \approx EG > MG > GA$,由此可以判断在极性溶剂中,抗氧化性 TBG 优于 IPG, BG、PG、EG 三物质的抗氧化性相差不大,都比 MG、GA 的抗氧化性强。另外,对比 7 种分子的前线轨道能量和其去掉 H 原子以后的自由基前线轨道能量,可以看出失去 H 原子后,导致其电子最高占据轨道能级降低,从而使其失电子能力降低,即还原性降低。从理论上得出 7 种分子分子具有还原性的特征是由于它容易失去 H 自由基。

表 6 GA 及其衍生物的最高占据轨道能 (a.u.)

Table 6 The HOMO energies of GA and its derivatives

	母体分子	1-OH-a	2-OH-a	3-OH-a
GA	-0.2394	-0.2466	-0.2433	-0.2475
MG	-0.2354	-0.2425	-0.2387	-0.2432
EG	-0.2344	-0.2414	-0.2374	-0.2420
PG	-0.2345	-0.2414	-0.2374	-0.2420
IPG	-0.2337	-0.2405	-0.2366	-0.2411
BG	-0.2344	-0.2413	-0.2373	-0.2419
TBG	-0.2324	-0.2391	-0.2350	-0.2397

通过电离势和前线分子轨道分析知,在极性溶剂中抗氧化性 TBG 优于 IPG, BG、PG、EG 三物质的抗氧化性相差不大,都比 MG、GA 强。区别于抽氢反应机理,IPG 的抗氧化性优于 BG。

3 结论

采用 B3LYP/6-311+G(d,p)方法对 7 种 GA 类化合物抗氧化活性进行了研究,计算结果表明,7 种物质在生成半醌自由基时 2-OH 活性最高,羟基上的氢最容易被含氧自由基提取,最有可能参与自由基的清除,这主要是由于 GA 类化合物 C(2)位相邻羟基之间的弱氢键相互作用,这种额外的共轭稳定

性以及协同作用增强了 2-羟基的活性,这跟马耀等^[9]的实验研究结果是一致的。同时比较 7 种物质的抗氧化活性发现,在极性溶剂中 7 种化合物的抗氧化活性: $TBG > BG > IPG > PG > EG > MG > GA$,非极性溶剂中抗氧化性为 $TBG > IPG > BG \approx PG \approx EG > MG > GA$ 。GA 类化合物的抗氧化活性不同,主要受苯环上羰基取代基性质的影响。

参考文献:

- [1] Sun Y M,Zhang H Y,Chen D Z,et al. Theoretical elucidation on the antioxidant mechanism of curcumin: a DFT study[J]. Organic letters, 2002, 4(17): 2909-2911.
- [2] Lu L,Zhu S,Zhang H, et al. Improvement of antioxidative

- activity of resveratrol by elongating conjugated chain: A DFT theoretical study[J]. *Computational and Theoretical Chemistry*, 2013, 1019(1):39-47.
- [3] Moo-Huchin V M, Moo-Huchin M I, Estrada-León R J, et al. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico[J]. *Food chemistry*, 2015, 166: 17-22.
- [4] Deepa V, Praveena R, Sivakumar R, et al. Experimental and theoretical investigations on the antioxidant activity of isoorientin from *Crotalaria globosa*[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014, 121: 737-745.
- [5] 李新芳,王学业,刘万强,等. 酚类抗氧化剂结构—活性的 ab initio 研究[J]. *计算机与应用化学*, 2005, 22(4):287-290.
- [6] 张立伟,陈世荣,杨频. 肉桂酸类抗氧化剂结构—活性关系研究[J]. *结构化学*, 2003, 22(3), 341-345.
- [7] 谢湖均,雷群芳,方文军. 槲皮素抗氧化活性的密度泛函理论研究[J]. *化学学报*, 2010, 68(15):1467-1472.
- [8] Hou C Y. Theoretical study of antioxidative ability and antioxidative mechanism of norathyriol in solution[J]. *Computational and Theoretical Chemistry*, 2014, 1028:87-91.
- [9] 马耀,张建中,等. 没食子酸及其衍生物抗氧化机制的研究[J]. *科学通报*, 1993, 38(15):1411-1414.
- [10] Frisch M J, Trucks G W, Schlegel H B, et al. Gaussian03-Version c01; Gaussian Inc[J]. Wallingford, CT, 2004.
- [11] Zhang H Y, Wang L F, Sun Y M. Why B-ring is the active center for genistein to scavenge peroxy radical: a DFT study[J]. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2003, 13(5): 909-911.
- [12] Wang L F, Zhang H Y. A theoretical investigation on DPPH radical-scavenging mechanism of edaravone[J]. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2003, 13(21): 3789-3792.
- [13] 张军,陈德展. 橄榄油中两种酚类化合物的抗氧化性理论研究[J]. *山东师范大学学报:自然科学版*, 2005, 20(4):36-37.
- [14] 张红雨,王兰芬. 茶多酚清除过氧自由基分子机理的量子化学计算研究[J]. *淄博学院学报:自然科学与工程版*, 2002, 4(3):5-10.

(上接第 26 页)

- [12] Kumar A, Chauhan G S. Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 82(2): 454-459.
- [13] Lim J, Yoo J, Ko S, et al. Extraction and characterization of pectin from Yuza (*Citrus junos*) pomace: A comparison of conventional-chemical and combined physical-enzymatic extractions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 29(1): 160-165.
- [14] 陈建福,施伟梅. 响应面法优化纤维素酶辅助提取西
兰花总黄酮[J]. *四川农业大学学报*, 2014, 32(3): 298-304.
- [15] Masmoudi M, Besbes S, Abbes F, et al. Pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice: effect of extraction conditions on chemical composition of pectins[J]. *Food and bioprocess technology*, 2012, 5(2): 687-695.
- [16] 汪建明,赵博,乔长晟. 响应面法对出芽短梗霉黑色素提取工艺的研究[J]. *井冈山大学学报:自然科学版*, 2013, 34(4): 19-27.