

基于密度泛函的茶多酚分子EGCG和GCG的光谱计算

于建成¹, 唐延林^{1*}, 常 瑞², 魏晓楠¹, 袁 荔¹, 袁 园¹

1. 贵州大学物理学院, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州 贵阳 550025

摘要 茶多酚是绿茶中主要生化活性成分之一。选取茶多酚中含量较高, 同时也是性质较活泼、功效较明显的表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)及其异构体没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)分子做红外光谱和紫外光谱的计算和研究。使用 Gaussian 软件, 采用 B3LYP 密度泛函理论(DFT)在 6-311g(d,p)基组水平上优化其几何构型。频率计算得到红外光谱后, 再进行振动特征分析, 可以看到在 EGCG 和 GCG 的红外光谱图中每个振动模式下所有基团振动的权重, 结合谱图做出相应的振动归属和对比分析。发现: 两分子红外光谱图相似, 分别在 1 711 和 1 717 cm⁻¹ 处为羰基的伸缩振动吸收峰, 苯环上酚羟基的伸缩振动吸收峰集中在 3 500~3 800 cm⁻¹, 1 000~1 600 cm⁻¹ 的多个峰都有苯环面内弯曲振动参与, 在 1 350 和 1 280 cm⁻¹ 附近吸收峰是亚甲基次甲基面内弯曲振动引起的, 在 500 cm⁻¹ 以下吸收峰都为原子的面外弯曲振动。采用固相粉末压片法, 使用 IRPRESTIGE-21 红外光谱仪测量了 EGCG 分子的红外光谱(400~4 000 cm⁻¹), 对比理论计算的 EGCG 分子红外光谱各吸收峰位值, 发现在固相中实际测得的 EGCG 分子的红外光谱与气相下的理论计算值基本吻合, 理论计算值略微有些红移, 原因可能是理论计算在气相条件下采用的势函数存在误差, 相比于无分子相互作用力的气相, 实际测量固相光谱的分子键强度比气相条件下要略大些。使用 Gaussian 软件, 采用含时密度泛函理论(TD-DFT), 选取乙醇作为溶剂, 计算了 EGCG 分子的 15 个激发态, 分析了激发态的组成和能级跃迁情况。计算所得的 2 个吸收峰分别位于 229.3 和 276.4 nm 处, 主要对应 p 电子与苯环 π 键上电子形成的 p-π 共轭的电子跃迁及苯环、杂环上 π→π* 跃迁。从分析振子强度得知, 基态跃迁到 S4, S5, S6 和 S12 激发态为产生紫外光谱的主要原因, 另外的激发态可能为禁阻跃迁, 振子强度均小于 0.01。上述计算值与使用 UV-6100S 型紫外分光光度计所测得的 EGCG 分子在乙醇溶剂中 235.1 和 278.7 nm 的最大吸收峰吻合, 计算值略有蓝移, 可能是茶多酚提取时或本身就带有弱碱性所致。该研究可为研究 EGCG 分子和 GCG 分子的性质和生物活性及茶多酚的抗氧化性提供理论参考。

关键词 表没食子儿茶素没食子酸酯; 密度泛函; 红外光谱; 紫外光谱

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)06-1846-06

引 言

现阶段, 茶叶已经在 30 多个国家种植, 主要集中在亚洲、非洲和拉丁美洲。其中, 中国、印度、斯里兰卡、印尼、肯尼亚、土耳其的茶叶总产量占到全球产量的 80% 以上。流行病学观察和实验室研究表明, 茶中存在的多酚类化合物是天然抗氧化剂, 可以抑制细胞衰老^[1], 降低多种疾病的風險^[2], 包括多种癌症、动脉硬化、冠心病等^[3], 这也是茶叶广为流传的原因。本文主要涉及绿茶。绿茶采摘后主要通过

晾晒、杀青、搓揉、烘干等步骤完成, 与红茶、黑茶等相比, 最大程度上保存了新鲜茶叶中的有机活性成分。茶文化在中国更是历史悠久, 早有“宁可三日无米, 不可一日无茶”的说法便说明了中国人一直以来对茶这种特别而又健康的饮料的钟爱。

绿茶中最重要的有机活性成分是茶多酚, 占茶叶干重的 15% 左右, 是茶叶抗氧化性的主体, 其中表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)含量最高, 一般占茶多酚的 40% 以上^[4], 它有一种异构体没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)也主要存在于茶多酚中, 但含量较低。冯国栋^[5]等做了茶叶品种及采

收稿日期: 2018-08-29, 修订日期: 2019-01-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(11164004), 贵州省光子科学与技术创新人才团队(20154017), 黔教合 KY 字【2016】215 资助

作者简介: 于建成, 1990 年生, 贵州大学物理学院硕士研究生 e-mail: 18085112281@163.com

* 通讯联系人 e-mail: tylgz@163.com

摘时节对其活性成分的影响分析,余涛^[6]等做了茶叶光谱与叶绿素、茶氨酸、茶多酚含量关系分析,但没有分析茶多酚中的具体成分。苏怡^[7]等使用量子化学^[8]的方法考察茶多酚中羟基的抗氧化活性;王川丕^[9]等用密度泛函理论研究了本文中相同的儿茶素EGCG与其空间异构体GCG的抗氧化活性和反应活性。以上对茶叶性能的分析或基于部分实验或基于简单的理论计算,没有对茶叶中最大活性成分茶多酚的物理化学性质进行更详细的分析。

为更好的分析茶多酚的性质,本文针对茶多酚中EGCG和GCG两个分子,一方面采用量子化学中密度泛函理论计算得到了它们的红外光谱和紫外光谱,另一方面,通过实验测量EGCG红外光谱及紫外光谱。然后,从理论上分析了其红外光谱对应的振动归属及紫外光谱对应的电子能级跃迁情况,并将理论计算结果与实验结果进行比较,发现它们吻合较好,表明文中采用的计算基组及模拟方法是可行的。本研究可加深人们对茶多酚中EGCG和GCG分子的认知,以便今后更科学地运用茶多酚的功效。

1 计算及测试方法

本文光谱计算使用 Gaussian 09 软件的 D01 版本,辅助以 Gaussian view 6.0 建模。在气相环境下,用 B3LYP 密度泛函的方法在 6-311g(d,p) 的基组水平上分别对表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)进行几何优化和频率计算(opt+freq),结果均收敛,无虚频且达到能量极小点,得到稳定的结构。在优化完成的基础上,用关键字 freq=intmodes 进行分子骨架振动分析,用 TDDFT 方法计算了分子的 15 个激发态,另外用 Multiwfn^[10] 波函数分析软件计算处理得到分子的红外光谱图和紫外光谱图。

EGCG 粉末样品来源于西安博联特化工有限公司(纯度≥98%),光谱仪分别为日本岛津公司生产的 IRPRESTIGE-21 红外光谱仪和上海 MAPAD 公司生产的 UV-6100S 型紫外分光光度计^[11],红外光谱测量采用粉末压片法(将烘干了的 KBr 和 EGCG 分子粉末混合后研磨均匀再压片),紫外光谱测量采用液相法(以乙醇为溶剂)。

2 结果与讨论

2.1 分子构型

EGCG 分子与 GCG 分子优化后的稳定几何构型分别如图 1(a) 和 (b) 所示,EGCG 和 GCG 分子都有三个苯环,一个六元杂环,一个酯基。为了方便称呼,文中把连有两个羟基的苯环称为 1 号苯环,把与六元杂环的一个 C 原子单键相连的称为 2 号苯环,把连着 C=O 支链的苯环称为 3 号苯环。由于分子没有对称性,各个原子间作用力不同,导致整个分子被扭曲,六元杂环也并不共面,成较复杂的空间立体结构。

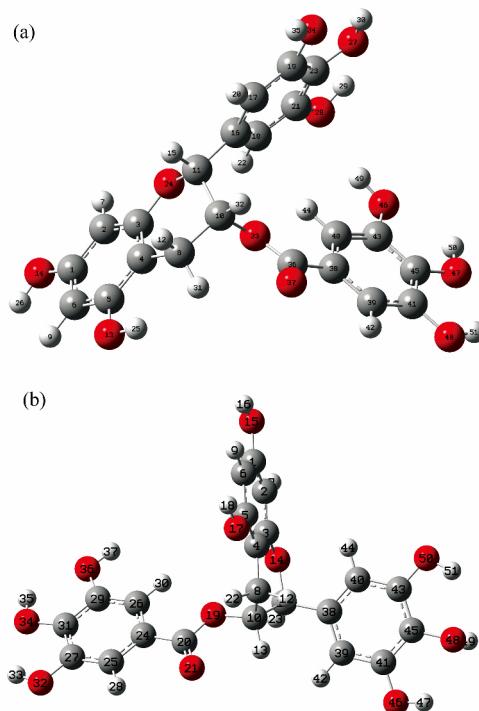


图 1 分子构型

(a): 表没食子儿茶素没食子酸酯; (b): 没食子儿茶素没食子酸酯

Fig. 1 Molecular configuration

(a): Epigallocatechin gallate; (b) Gallocatechin gallate

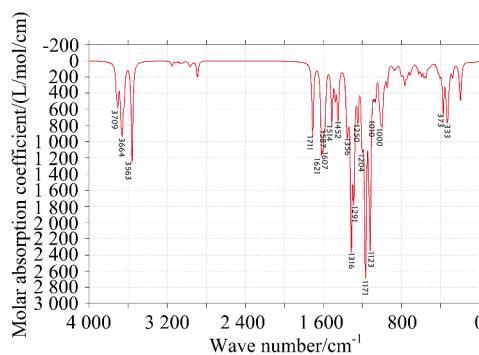


图 2 EGCG 的 IR 理论光谱图

Fig. 2 Theoretical IR spectrum of EGCG

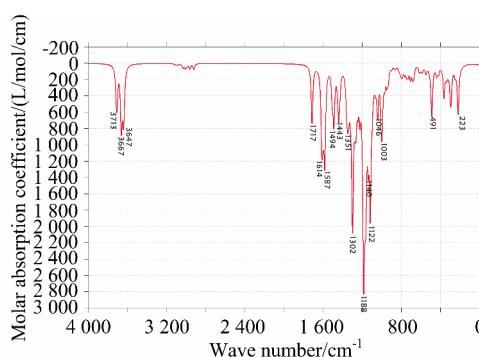


图 3 GCG 的 IR 理论光谱图

Fig. 3 Theoretical IR spectrum of GCG

2.2 IR光谱及分析

中红外光谱图可以反映分子转动和振动的特征，特别是部分基团的性质，利用红外光谱图都可以进行定性研究。将 Gaussian09 软件计算的频率数据，经 Multiwfn 软件进行频率校正因子(0.967)修正，得到 EGCG(图2)和 GCG(图3)分子气相下的红外光谱图。

表1给出了计算红外光谱图中EGCG分子较高的吸收峰的振动归属分析，EGCG与GCG两分子结构官能团都相同，只有部分结构的相对位置略微不同，故所得的IR谱图类似：

两分子苯环上酚羟基的伸缩振动都主要集中在 $3\ 500\sim3\ 800\text{ cm}^{-1}$ ，靠近分子的羟基振动会受到分子间作用力的影响产生一定的偏移，导致增强或减弱；EGCG的C=O伸缩振动位于 $1\ 711\text{ cm}^{-1}$ 处，GCG的位于 $1\ 717\text{ cm}^{-1}$ 处；因为有3个苯环， $1\ 000\sim1\ 600\text{ cm}^{-1}$ 范围的每个峰都有苯环面内振动参与；在 $1\ 356$ 和 $1\ 291\text{ cm}^{-1}$ 附近EGCG的亚甲基次甲基振动明显，而GCG中亚甲基在其面内振动主要位于 $1\ 443\text{ cm}^{-1}$ ，次甲基振动主要在 $1\ 272$ 和 $1\ 248\text{ cm}^{-1}$ 附近；在 500 cm^{-1} 以下吸收峰大都为边缘处原子的面外振动。

表1 EGCG振动归属

Table 1 Assigned of vibration of EGCG

序数	位置/ cm^{-1}	振动分析
1	3 709	1号苯环上羟基伸缩振动
2	3 664	3号苯环上远离分子的两个羟基和2号苯环上远离分子的两个羟基 一共四个羟基伸缩振动的耦合
3	3 564	3号苯环上靠近分子的羟基伸缩振动
4	1 711	酯键 C=O 伸缩振动以及引起的两边键角变化为主
5	1 621	1号苯环面内振动以及带来的所连羟基的键角变化为主
6	1 607	2号和3号苯环以及所连羟基平面内振动的耦合
7	1 587	1号苯环面内伸缩振动为主
8	1 514	2号和3号苯环以及所连H原子在平面内的振动为主
9	1 452	1号和2号苯环以及所连各原子在平面内的振动为主
10	1 356	除了3个苯环面内振动分别各占16.1%，11%和10.5%外还有6元杂环上亚甲基的振动占21.6%，两个次甲基的振动共占21.7%
11	1 316	3号苯环以及所连羟基在面内振动为主占31.5%
12	1 291	除了2号和3号苯环以及所连各原子的面内振动以外，还有六元杂环上亚甲基次甲基振动明显，其中与2号苯环直接相连的次甲基的C—H键振动最明显占28.5%
13	1 250	除了2号苯环以及所连羟基面内振动为主，还有六元杂环上次甲基的C—H键振动明显，其中与2号苯环直接相连的次甲基的H摆动最明显
14	1 204	1号、3号苯环和他们的连线上的原子整体的振动
15	1 171	整个分子的呼吸振动
16	1 123	1号苯环以及所连羟基在面内振动为主占37.8%
17	1 010	2号苯环面内振动占46.9%，其中直接与2号苯环连接的两个H原子面内的对称振动清晰占15%
18	1 000	1号、2号苯环和他们的连线上的原子整体的振动，其中1号苯环上两个H原子对称振动与六元杂环的扭动明显
19	373	羟基在苯环平面外的振动，其中3号苯环上的羟基权重较大
20	333	羟基在苯环平面外的振动，其中1号苯环上的羟基权重较大

特别指出的GCG的 $1\ 272\text{ cm}^{-1}$ 峰，当苯环上的酚羟基如果不与苯环在同一平面上时，苯环在面内振动带动羟基振动时也同时会造成苯环的二面角的改变，使苯环上6个C原子偏离平面，这里面外的H导致苯环二面角的改变振动占2%左右。位于 1180 cm^{-1} 附近的吸收峰最强，是由于多原子振动的耦合产生的。

图4是实验测得的EGCG分子的IR光谱图，对比理论计算的光谱图(图2)，发现理论计算数据与实验数据吻合较好。在实验谱图中，酚羟基的伸缩振动峰是宽峰，最大峰值位于 $3\ 556.7\text{ cm}^{-1}$ 处对应计算谱图中的多个峰；在 $2\ 368\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰为空气中测量光谱时 CO_2 的吸收峰， $1\ 697.4\text{ cm}^{-1}$ 峰对应理论计算图中 $1\ 711\text{ cm}^{-1}$ ； $1\ 643\text{ cm}^{-1}$ 对应计算图中 $1\ 621\text{ cm}^{-1}$ ； $1\ 533.4\text{ cm}^{-1}$ 对应 $1\ 514\text{ cm}^{-1}$ ， $1\ 463\text{ cm}^{-1}$ 对应 $1\ 452\text{ cm}^{-1}$ ， $1\ 377\sim1\ 145\text{ cm}^{-1}$ 宽峰对应计算谱图中多个苯环振动峰的耦合， $1\ 018\text{ cm}^{-1}$ 对应 $1\ 000\text{ cm}^{-1}$ 。

cm^{-1} 都对应较好。相对于实际测量的谱图，理论计算的谱图有轻微红移，原因可能是计算在气相条件下采用的势函数存

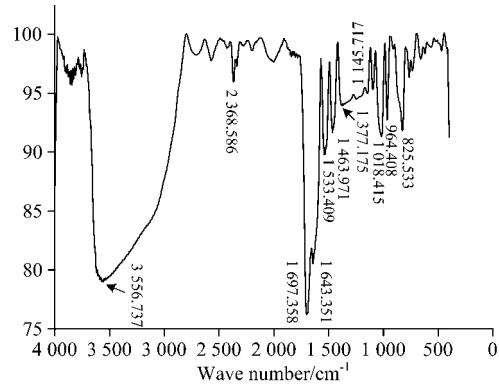


图4 EGCG的IR实验光谱图

Fig. 4 Experimental IR spectrum of EGCG

在误差，实际测量的固相光谱的分子键强度比气相条件下略大些。

2.3 UV 光谱及分析

分子的价电子吸收能量以后，会跃迁到高能级，所产生的吸收光谱波段一般在紫外到可见波段，也被称为电子光谱，本文中主要研究 EGCG 分子在 200~350 nm 波段的光谱。

采用 TD-DFT 方法，在结构优化的基础上计算了 EGCG 分子的 15 个激发态，并得到了相应的 UV 光谱[图 5(a)]。图中 S0 表示基态，Sx 表示第 x 个激发态。计算所得 2 个吸收峰分别位于 229.3 和 276.4 nm 处，主要分别对应 p 电子与苯环上 π 键电子形成的 $p\rightarrow\pi^*$ 共轭的电子跃迁及苯环、杂环上 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁：229.3 nm 处的峰包含了 1% 的 S0—S6 跃迁、82.5% 的 S0—S12 跃迁的贡献，276.4 nm 处吸收峰包含了 8.16% 的 S0—S4 跃迁、35.77% 的 S0—S5 跃迁和 53.43% 的 S0—S6 跃迁的贡献。对这几个贡献较大的激发态进行激发性质的分析，见表 2。

表 2 EGCG 激发性质
Table 2 Excited state of EGCG

激发态	波长 /nm	能量 /eV	振子强度	轨道跃迁	贡献权重/% (>10%)
4	287.4	4.317	0.030 20	H-4→L	67.500 6
				H-3→L	11.655 8
5	277.3	4.477	0.110 5	H-5→L	38.078 5
				H-4→L	23.192 1
				H-3→L	37.093 6
6	274.2	4.526	0.166 30	H-5→L	48.175 0
				H-3→L	46.590 2
12	228.6	5.426	0.102 80	H-2→L+1	37.487 4
				H-1→L+1	38.986 2

计算的 15 个激发态中，另外几个激发态的振子强度均低于所设阈值 0.01，故不标出。

实验测量的 EGCG 样品的紫外光谱如图 5(b) 所示，发现其吸收峰位置出现在 235.1 和 278.7 nm 处，与理论计算值相比出现了整体轻微红移，其原因可能是实验选用的茶多酚本身就具有的弱碱性或是在弱碱性环境下提取的，使得溶液的 pH 值升高，从而导致紫外吸收峰的整体红移。

本文中理论计算和实验测得的 EGCG 分子的紫外光谱与文献[12]中最大吸收峰 274 nm 测量值吻合较好，误差产生的原因可能是使用的溶剂不同或药品来源及纯度不同而导致的。

3 结 论

(1) 优化结果表明：EGCG 与 GCG 分子都成较复杂的空间立体结构而非平面或对称结构。

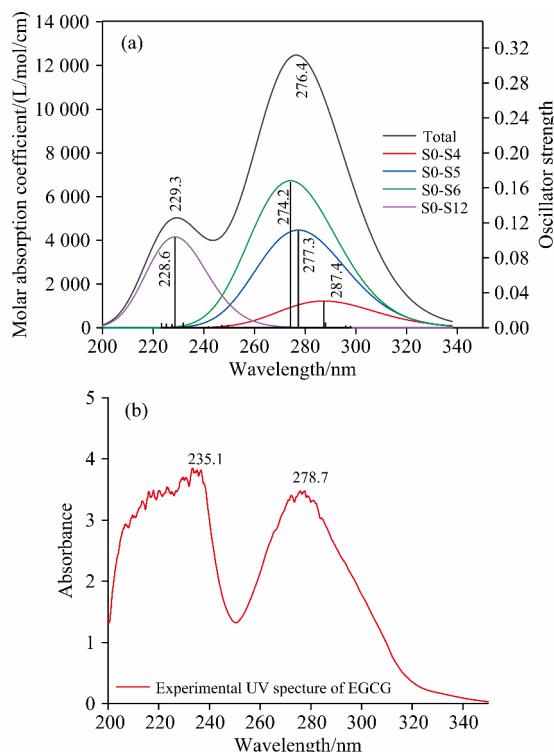


图 5 EGCG 分子紫外光谱

(a): EGCG 的 UV 计算光谱图；
(b): EGCG 的 UV 实验光谱图

Fig. 5 The ultraviolet spectrum of EGCG molecules

(a): Theoretical UV spectrum of EGCG;
(b): Experimental UV spectrum of EGCG

(2) 分析计算得到的 IR 谱图 EGCG 与 GCG 计算谱图大体一致，苯环上酚羟基的伸缩振动主要集中在 3 500~3 800 cm^{-1} ，C=O 伸缩振动分别位于 1 711 和 1 717 cm^{-1} 处，因为有 3 个苯环，1 000~1 600 cm^{-1} 的多个峰都有苯环面内振动参与，在 1 350 和 1 280 cm^{-1} 附近亚甲基次甲基振动明显，在 500 cm^{-1} 以下大都为原子的面外振动。计算值与实验值吻合较好，计算得到的谱图整体略微红移，表明实际固相条件下，由于分子间作用、外界干扰等多方面原因，分子键的强度要更大些。

(3) 紫外光谱图中，2 个吸收峰 229.3 和 276.4 nm 主要对应苯环上 $p\rightarrow\pi^*$ 键共轭的电子跃迁及杂环上 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁。分析振子强度得知，基态跃迁到 S4, S5, S6 和 S12 激发态为紫外光谱产生的主要原因。分析这四个激发态的性质，可以看到大多是由在 HOMO 和 LUMO 较近轨道的跃迁产生的。其余的激发态可能为禁阻跃迁，振子强度均小于 0.01。光谱的计算值与实验值和文献值均吻合较好，实验值较计算值略有红移，可能是因为分子本身的弱碱性条件所致。本文实验值与文献实验值误差产生的原因可能是使用的溶剂不同或药品来源不同而导致的。

References

- [1] ZHANG Cui-li, FU Li-na, YANG Xiao-yun, et al(张翠利, 付丽娜, 杨小云, 等). Guangzhou Chemical Industry(广州化工), 2015, 43(19): 5.
- [2] Hasan Mukhtar, Nihal Ahmad. The American Journal of Clinical Nutrition, 2000, 71(6): 1698.
- [3] Katiyar S K, Mukhtar H. International Journal of Oncology, 1996, 8(2): 221.
- [4] PU Bing-qing, XU Yi, DU Chun-hua, et al(普冰清, 徐怡, 杜春华, 等). The Food Industry(食品工业), 2017, 38(2): 301.
- [5] FENG Guo-dong, ZHANG Hong, MA Yi-long, et al(冯国栋, 张鸿, 马意龙, 等). Natural Product Research and Development(天然产物研究与开发), 2017, 29(11): 1882.
- [6] YU Tao, HU Bo, SUN Rui, et al(余涛, 胡波, 孙睿, 等). Remote Sensing Technology and Application(遥感技术与应用), 2016, 31(5): 872.
- [7] SU Yi, ZHOU Lu, ZUO Zhi-Li, et al(苏怡, 周鲁, 左之利, 等). Natural Product Research and Development(天然产物研究与开发), 2001, 13(6): 19.
- [8] Galano A, Mazzone G, Alvarez-Diduk R, et al. Annual Review of Food Science and Technology, 2016, 7: 335.
- [9] WANG Chuan-pi, ZHU Li, ZHOU Su-juan, et al(王川丕, 诸力, 周苏娟, 等). Natural Product Research and Development(天然产物研究与开发), 2015, 27(4): 645.
- [10] Lu Tian, Chen Feiwu. Computer Physics Communications 2012, 33: 580.
- [11] GONG Hong-ling, LIU Yan-hui, TANG Yan-lin, et al(龚红玲, 刘艳辉, 唐延林, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2017, 37(6): 1831.
- [12] Korul'kina L M, Shul'ts E E, Zhusupova G E, et al. Chemistry of Natural Compounds, 2004, 40(5), 465.

Spectral Calculations of Tea Polyphenols Molecules EGCG and GCG Based on Density Functional Theory

YU Jian-cheng¹, TANG Yan-lin^{1*}, CHANG Rui², WEI Xiao-nan¹, YUAN Li¹, YUAN Yuan¹

1. College of Physics, Guizhou University, Guiyang 550025, China

2. College of Wine and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract Tea polyphenol is one of the main biochemical active components in green tea. Being a higher content of components and more active and effective ingredient in tea polyphenols, the epigallocatechin-3-gallate (EGCG) molecule and its stereoisomer GCG are selected to calculate and study the infrared spectrum and ultraviolet spectrum in this paper. In Gaussian software 09, the B3LYP density functional theory (DFT) was used to optimize the molecular geometric configuration at the base ground level of 6-311G (d,p). After frequency calculation, the infrared spectrum was obtained, and then the vibration characteristics were analyzed. It can be seen that the weight of all groups' vibration in each vibration mode in the infrared spectrum of EGCG and GCG, and the corresponding vibration attribution and comparative analysis were made. It is found that the infrared spectra of molecule EGCG and GCG are similar. The absorption peaks for carbonyl stretching vibration are at 1 711 and 1 717 cm⁻¹, respectively. The absorption peak of stretching vibration of phenolic hydroxyl groups on the benzene ring is mainly concentrated in 3 500~3 800 cm⁻¹. Multiple absorption peaks in 1 000~1 600 cm⁻¹ are in-plane bending vibration of benzene. The absorption peaks near 1 350 and 1 280 cm⁻¹ are caused by methylene and methine in-plane bending vibration. The absorption peaks of out-plane bending vibrations are all below 500 cm⁻¹. The infrared spectrum of EGCG molecule (400~4 000 cm⁻¹) was measured through solid powder tabletting method by using the IRPRESTIGE-21 infrared spectrometer manufactured by Shimadzu Corporation of Japan. The experimental infrared spectrum of EGCG is compared with the theoretical infrared spectrum. The result shows that the IR spectrum measured in the solid phase is almost consistent with the values calculated in gas phase. The theoretical infrared spectrum has slightly red-shift. The reason may be that the potential function used in theoretical calculation under the gas phase exist error. Compared with the gas phase without molecular interaction, the actual bond strength in the solid phase is slightly higher than that under the gas phase condition. In Gaussian software 09, the time-dependent density functional theory (TD-DFT) was used to calculate 15 excited states of EGCG molecules in ethanol solvent. The composition and energy level transition of the excited state were analyzed. The two absorption peaks by theoretical calculation were 229.3 and 276.4 nm, respectively. They were main corresponding the transition of p-π conjugated electron of p-electron and benzene ring π bond and the π

π^* transition on benzene ring and heterocyclic ring. According to the analysis of the intensity of the oscillator, the transition from the ground state to S4, S5, S6 and S12 excited states is the main reason for the ultraviolet spectrum. The other excited state may be the forbidden transition, because the intensity of the oscillators are all less than 0.01. The above calculated value is almost consistent with the maximum absorption peak of the experimental values of EGCG. The absorption peak of experiment is at 235.1 and 278.7 nm in ethanol solvent. The calculated value is slightly blue-shift, which may be caused by the weak alkaline of the tea polyphenols or the weak alkaline of the molecules themselves. This study can provide theoretical reference for studying the properties and biological activities of EGCG and GCG molecules and the antioxidant properties of tea polyphenols.

Keywords Epigallocatechin-3-gallate; Density functional theory; Infrared spectrum; Ultraviolet spectrum

(Received Aug. 29, 2018; accepted Jan. 18, 2019)

* Corresponding author