

儿茶素单体 EGCG 酶法修饰研究及其产物抗氧化活性评价

赵峰¹, 阙付有², 梁京², 谢君^{1*}

¹华南农业大学新能源与新材料研究所, 广州 510642; ²成都天然产物工程技术研究中心, 成都 611630

摘要: 利用 Novozym 435 脂肪酶在非水介质中催化儿茶素单体 EGCG(表没食子儿茶素没食子酸酯)的酶促酰化反应, 以增加 EGCG 的脂溶性。探讨了溶剂种类、水活度、加酶量、反应时间、反应温度、酰基供体等条件对酰化反应的影响。借助液质联用仪及红外光谱仪对合成产物进行鉴定, 表明在叔戊醇体系中, 脂肪酶可催化 EGCG 与丁酸乙酯的反应, 酰化后 EGCG 主体结构不变, 其分子中引入了四碳链的烷基。对修饰后 EGCG 抗氧化活性的评价表明: 在相同的添加量下, 酶修饰 EGCG 活性略低于未改性 EGCG, 但是清除 DPPH·、O₂^{·-} 自由基能力总体高于 TBHQ、维生素 C, 清除·OH 自由基能力低于 TBHQ, 高于维生素 C。

关键词: 酶法; 酶促酰化反应; EGCG; 抗氧化活性评价

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.03.025

Enzymatic Modification of Epigallocatechin Gallate and Antioxidant Activity Evaluation of the Synthesized Products

ZHAO Feng¹, QUE Fu-you², LIANG Jing², XIE Jun^{1*}

¹Institute of New Energy and New Materials, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

²Chengdu Natural Products Engineering Technical Research Center, Chengdu 611630, China

Abstract: The regioselective acylation of epigallocatechin gallate (EGCG) was catalyzed by Novozym 435 in a non-aqueous phase reaction system to increase the lipophilicity of EGCG. The effects of different organic solvents, water activity, enzyme amount, reaction time, reaction temperature and acyl donor on the enzymatic regioselective acylation of EGCG were discussed. The synthesized products were identified by LC-MS and infrared spectroscopy. The results showed that under tert-amyl alcohol media, Novozym 435 can catalyze selective acylation of EGCG with vinyl acetate butyrate. A single modified product was found in reaction mixture by LC-MS analysis. Infrared spectral analysis showed that the main structure of acylated EGCG was similar to that of EGCG, but a four-carbon alkyl chain was connected to EGCG. The antioxidant activity of modified EGCG indicated that the antioxidant activity of modified EGCG was slightly lower than that of EGCG with the same concentration, but its capacity of scavenging DPPH· and O₂^{·-} free radical was higher than that of TBHQ and VitC, and its capacity of scavenging hydroxyl free radical was lower than that of TBHQ, higher than that of VitC.

Key words: enzymatic method; enzymatic acylation; EGCG; antioxidant activity evaluation

茶多酚 (Tea polyphenols, TP) 主要由儿茶素类、黄酮甙类、花青甙类、酚酸类、缩酚酸类等 30 多种化学物质组成, 其中儿茶素类化合物是茶多酚的主要成分, 主要包括儿茶素 (C)、表儿茶素 (EC)、表儿茶素 (EGC)、表儿茶素没食子酸酯 (ECG)、儿茶素没食子酸酯 (GCG) 和表儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 六种物质, 其中以 EGCG 含量最高, 抗氧化活性作用最显

著^[1]。全世界有 60 多家科研院所在从事 EGCG 的开发研究, 美国 Sigma 公司和德国 Merck 公司生产的 EGCG 片剂和胶囊作为保健品已投入市场。但是 EGCG 脂溶性差, 生物利用度低, 不易被人体吸收, 影响了其在药物和保健品方面的应用, 必须对其进行改性, 增强它的脂溶性。目前有关 EGCG 改性的研究主要是化学法, 目前已报道的有 EGCG 与月桂酰氯、肉豆蔻酰、棕榈酰氯、硬脂酰氯、亚油酰氯等不同长度脂肪链制备成相应的 EGCG 酸酯儿茶素^[2-6], 但是化学法反应的立体选择性低、副产物多, 而且酰化后儿茶素类活性大大降低, 近年来已被逐步摒弃。

收稿日期: 2013-08-06 接受日期: 2014-07-10

基金项目: 四川省科技支撑计划 (2012GZ0027)

* 通讯作者 Tel: 86-20-85282633; E-mail: xiejun@scau.edu.cn

自从 1984 年首次报道非水介质中脂肪酶的催化活性和热稳定性以来,非水介质中的酶促反应受到广泛关注并取得突破性研究进展。儿茶素类酶法修饰可定位进行,主要是非酯型儿茶素分子的 3 位,反应不需基团保护,条件也较温和,并且羟基定位修饰,可使儿茶素生物活性保持最大化,可以解决化学方法难以解决的难题,成为近年研究热点,在药物及药物中间体和食品等方面具有较大的应用价值^[7-9]。

本实验主要研究了在非水介质中脂肪酶催化儿茶素单体 EGCG(表没食子儿茶素没食子酸酯)与丁酸乙酯的选择性酰化反应(EGCG 丁酰化过程见图 1),研究了有机溶剂种类、水活度、加酶量、反应时间、反应温度、酰基供体等条件对酶促酰化反应的影响,对反应混合物进行了初步结构鉴定,同时对 EGCG 修饰前后的结构进行了对比,同时利用体外活性评价体系对修饰后 EGCG 活性进行评价。

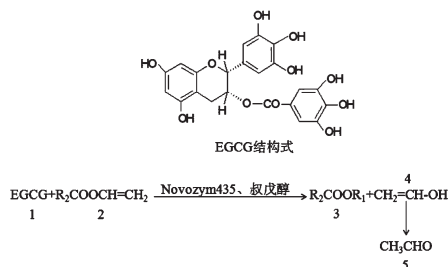


图 1 酶促 EGCG 与丁酸乙酯选择性酰化反应

Fig. 1 Enzymatic acylation reaction of EGCG and Vinyl butyrate

1: 表没食子儿茶素没食子酸酯 (R_1-OH); 2: 丁酸乙酯; 3: 表没食子儿茶素没食子酸酯羧酸; 4: 不稳定的烯醇; 5: 乙醛。

1: EGCG (R_1-OH); 2: Vinyl butyrate; 3: EGCG carboxylate; 4: Unstable enol; 5: Aldehyde.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

90% EGCG 由无锡太阳绿宝科技有限公司赠送; EGCG 标准品, Purity $\geq 99\%$ (HPLC), 购自成都曼思特生物科技有限公司; Novozym 435 (10 units/mg), 来源于 *Candida Antarctica*, type B, 固定化于大孔阴离子树脂, 购自北京高瑞森科技有限公司, 进口分装, 来源 Novozym 公司; 二苯基苦味酰基自由基 (DPPH), 购自 Sigma 公司; 叔丁基对苯二酚 (TBHQ)、月桂酸乙酯、丁酸乙酯均购自日本 TCI 公司; 苋菜红 (Amaranth), 上海试剂三厂; 氮蓝四唑 (Nitrotetrazolium Blue chloride) 纯度 $> 98\%$, 进口分

装; 高效硅胶板 (G), 购自青岛海洋化工厂; 磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、香草素、核黄素、甲硫氨酸、硫酸亚铁、30% 双氧水、盐酸、酚酞、氯仿、甲醇、叔丁醇、叔戊醇、四氢呋喃、二甲基亚砜、吡啶、乙腈、丙酮、无水乙醇等均为国产分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

Unic 7200 型可见分光光度计 (尤尼柯上海仪器有限公司); UV1102 型紫外-可见分光光度计 (上海天美科学仪器有限公司); Centrifuge 5417 R 型高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); XMT-DA 型数显电热恒温水浴锅 (余姚市亚星仪器仪表有限公司); DHG-9246A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); BR-2000 型悬涡振荡器 (美国伯乐公司); 5510E-MT BRAN 型超声波清洗器 (美国进口); RE-5299 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); LCQ^{DECA} 型高效液相色谱-质谱联用仪 (美国 Finnigan 公司); Vector 33 傅里叶变换红外光谱仪 (德国 Bruker 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 有机溶剂初始水活度的控制

将 4 Å 分子筛于 180 °C 干燥箱内活化 2 h, 置于干燥器中冷却后, 加入有机溶剂中, 室温水平摇床中振荡 48 h, 滤去分子筛, 得脱水有机溶剂。

在室温下 (25 °C) 下, 将溶剂、酶分别置于密闭容器中与下列不同的饱和化合物水溶液进行气相平衡 72 h, 以此来控制不同的反应体系初始水活度: NaCl ($a_w = 0.75$)、KCl ($a_w = 0.85$)、MgCl₂ ($a_w = 0.97$)、Mg(NO₃)₂ ($a_w = 0.55$)、K₂CO₃ ($a_w = 0.34$)、KAC ($a_w = 0.23$)、LiCl ($a_w = 0.11$)。有机溶剂经分子筛脱水 48 h 后, 水活度 ≈ 0 。

1.3.2 有机溶剂种类对酶促 EGCG 酯化反应的影响

在 5 个 5 mL Eppendorf 管中各加入 1 mL 已脱水处理的有机溶剂 (丙酮、吡啶、四氢呋喃、二甲基亚砜、乙腈)、5 mg EGCG、20 μL 丁酸乙酯、100 mg Novozym 435 ($a_w = 0.11$), 混合均匀, 置于气浴恒温振荡器内反应 (37 °C, 200 rpm), 反应进行 12 h 后, 取反应液 4 μL 点样, 层析约 45 min 后, 晾干硅胶板, 喷显色剂 (1% 香草醛浓盐酸溶液), 参照于建东等^[10]的方法做 TLC (硅胶薄层层析) 分析, 层析板为高效硅胶板; 展开剂为氯仿: 甲醇: 水 = 65: 30: 10 (V/V), 取下层; 显色剂为 1% 香草醛浓盐酸溶液。

1.3.3 初始水活度对酶促 EGCG 酯化反应的影响

在 7 个 5 mL Eppendorf 管中各加入 1 mL 在不同水活度(0.11、0.23、0.34、0.55、0.75、0.85、0.97)下平衡的叔戊醇、5 mg EGCG、20 μ L 丁酸乙烯酯、100 mg Novozym 435,混合均匀,置于气浴恒温振荡器内反应(37 $^{\circ}$ C,200 rpm),定时取样 4 μ L,做 TLC 分析。

1.3.4 不同酰基供体对酶促 EGCG 酯化反应的影响

在 2 个 5 mL Eppendorf 管中先各自加入 1 mL 已脱水处理的叔戊醇(叔丁醇)、5 mg EGCG、100 mg Novozym 435($a_w = 0.11$),其次各自加入 20 μ L 丁酸乙烯酯、20 μ L 月桂酸乙烯酯,混合均匀,置于气浴恒温振荡器内反应(37 $^{\circ}$ C,200 rpm),定时取样 4 μ L,做 TLC 分析,空白对照管不加酰基供体(丁酸乙烯酯或月桂酸乙烯酯)。

1.3.5 反应混合液的质谱鉴定

本实验以叔戊醇为反应介质,丁酸乙烯酯为酰基供体,反应混合液经过滤除酶后,吸取 1 mL 用甲醇稀释(1:1),经过滤后通过自动进样器进样,进行大气压化学电离(APCI)正、负离子分析,实验在 LCQ^{DECA}液质联用仪(FINNIGAN,美国)上进行,仪器操作参数:加热毛细管温度 200 $^{\circ}$ C,蒸发温度 450 $^{\circ}$ C,鞘气(氮气)流速 60 单位,辅助(氮气)气流速 10 单位,加热毛细管电压 5 V,放电电压 4.5 KV,放电电流 5 μ A,质量扫描范围 100~1000。

1.3.6 产物的分离纯化

将在汽浴恒温振荡器中反应 24 h 的反应混合物经过滤除酶,得到的反应液经真空减压蒸馏得到黄褐色粗产物,将其溶于一定量甲醇中至其完全溶解,离心(8 000 rpm)10 min,取上清液,经再次减压蒸馏后得到的粗产物,加入 20 mL 己烷/乙醇(1:1),静置 1 h 分层后收集乙醇相,置于恒温干燥箱中(60 $^{\circ}$ C)干燥 6 h,最后得到黄色固体。

1.3.7 EGCG 红外光谱分析

将 EGCG 标准品和酶修饰 EGCG 进行红外光谱分析,方法如下:

在玛瑙研钵中加入纯化并干燥后的酶修饰 EGCG 5 mg,同时加入一定量的固体溴化钾(KBr)作为固体分散介质,样品经过充分研细后用压片器压成透明的薄片进行测定,本底采用相应的分散介质 KBr。

采用同样的方法对 EGCG 标准品(纯度 \geq

99%)进行红外光谱分析。

1.3.8 酶修饰 EGCG 的抗氧化活性实验

运用已经建立的体外活性评价体系:直接反映样品的抗氧化活性采用 DPPH \cdot 法、清除 \cdot OH 能力以苋菜红褪色法、清除 O₂⁻能力采用光照核黄素-NBT 法^[11-13]。对比了酶修饰 EGCG 与维生素 C、TBHQ、EGCG 几种抗氧化剂之间的抗氧化性活性大小。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 不同有机溶剂体系酶法修饰结果

分别以丙酮、吡啶、四氢呋喃、二甲基亚砜、乙腈为反应介质,反应后取样进行硅胶薄层层析(TLC),结果如图 2 层析板 A 所示:点样点 1 为 EGCG 甲醇溶液(5 mg/mL)层析图,2、3、4、5、6 对应的反应介质依次为丙酮、吡啶、四氢呋喃、二甲基亚砜、乙腈,从图中可以看出在以上 5 种反应介质都没有修饰现象发生。

一般认为,酶在疏水性溶剂中的催化活性比在亲水性溶剂中高,酶促反应在非极性溶剂中更容易进行,Novozym 435 脂肪酶不能在以上 5 种溶剂体系中发生酯合成反应,分析是由于丙酮、吡啶、四氢呋喃、二甲基亚砜、乙腈几种溶剂亲水性较强,夺取酶分子表面的必需水而使酶失活,故而不发生酯合成反应。

2.1.2 初始水活度对酶促 EGCG 酯化反应的影响

以叔戊醇为反应介质,丁酸乙烯酯为酰基供体,不同水活度下进行酶法修饰,结果如图 2 层析板 B 所示,点样点 1 为对照,2、3、4、5、6、7 点样点对应的水活度依次为:0.11、0.23、0.34、0.55、0.75、0.85。在不同水活度下,修饰前后均有变化。一般认为,水是酶发挥催化作用的必需条件,酶分子的催化活性构象由水分子直接或间接地通过氢键、范德华力等非共价相互作用来维持,在水分子润滑下,酶分子能够很好维持其“柔性”结构,从而发挥其催化作用。

研究表明,Novozym 435 进行酶促酰化反应在水活度 0.11~0.85 范围内均可进行。

2.1.3 不同酰基供体酶法修饰

非水介质的性质,尤其是疏水性对酶活性有很大影响,选用叔丁醇、叔戊醇为反应介质,分别以丁酸乙烯酯、月桂酸乙烯酯为酰基供体,修饰结果如图 2 层析板 C、D 所示:

层析板 C 是以叔丁醇为反应介质,1、2、3 点样点依次为:对照、月桂酸乙酯、丁酸乙酯,从图中可以看出在叔丁醇介质两种酰基供体都没有发生位点修饰,修饰前后无变化;

层析板 D 是以叔戊醇为反应介质,1、2、3 点样点依次为:对照、月桂酸乙酯、丁酸乙酯,从图中可以看出在叔戊醇介质以月桂酸乙酯为酰基供体进行修饰,修饰前后无变化,而以丁酸乙酯为酰基供体进行修饰,与对照做比较修饰前后有变化。

酰基供体脂肪酸链的长短亦对 Novozym 435 催化 EGCG 酰化反应产生影响。一方面,随着脂肪酸

乙酯的碳链长度的增加,其疏水性增强,与酶活性中心的亲和力增加,利于酶促酰化反应;另一方面,脂肪酸乙酯碳链加长,空间位阻亦增大,不利于酶-底物中间物的形成,降低酶催化效果。

本实验结果分析是由于随着酰基供体分子增大,其空间位阻效应对酶促反应起主导效应,不利于酶促反应发生。从酶的结构上分析,Novozym 435 脂肪酶的结合中心呈一个 $9.5 \times 4.5 \text{ \AA}$ 的椭圆漏斗状,这一空间结构使得短链比中、长链的酰基供体更易于和酶的结合位点结合,形成酶-酰基供体中间体,利于酶促反应进行^[14]。

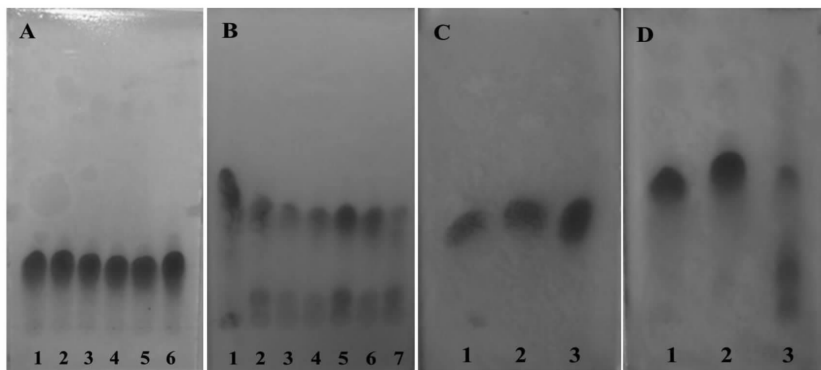


图2 不同有机溶剂(A)、不同水活度(B)、不同酰基供体(C:叔丁醇为介质,D:叔戊醇为介质)对酶法修饰影响

Fig. 1 Effects of different organic solvents (A), different water activity (B), different acyl donors (C: in tert-butyl alcohol system, D: in amylene alcohol system) on the enzymatic modification

2.2 反应混合液的质谱鉴定

将酶促反应体系过滤除酶,离心后取 1 mL 上清液,用甲醇(1:1)稀释,微孔滤膜过滤后直接进行 APCI 正、负离子分析,分析结果如图 3 所示,从图中可以看出与目标化合物分子量相符的有 $MW = 458$

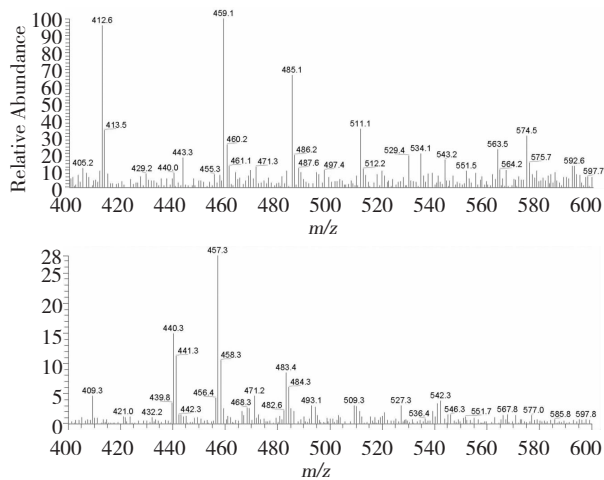


图3 酶修饰 EGCG 质谱分析结果

Fig. 3 Mass spectra of modified EGCG

($M-H = 457$ 、 $M+H = 459$) 和 $MW = 528$ ($M-H = 527$ 、 $M+H = 529$)。当 EGCG 分子上的羟基被酰基化后,EGCG 分子量理论上会增加 70 的整数倍,可以断定经过 Novozym 435 修饰后,EGCG 分子上某个羟基发生特异性酰化反应。458 (EGCG 分子量) 与 528 (修饰后 EGCG) 相对丰度显示,发生此单一修饰的产物含量较低。

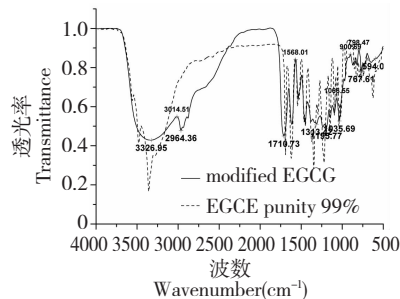


图4 酶修饰 EGCG (实线) 和 EGCG 标准品 (虚线) 的红外谱图

Fig. 4 IR spectra of modified EGCG (solid line) and EGCG standard (dash line)

2.3 纯化产物红外光谱分析

在分子结构的基础研究中,红外光谱的功效最为显著,可以根据光谱中吸收峰的位置和形状来推断未知物结构,依照特征吸收峰的强度来测定混合物中各组分的含量等。本研究参考 1.3.6 的方法,对反应产物进行纯化,将修饰后 EGCG 的红外光谱图与 EGCG 标准品进行对比,以研究酶修饰后 EGCG 的分子结构变化,红外光谱分析结果如图 4 所示。

图 4 中黑色实线为酶修饰 EGCG 的红外光谱

表 1 酶修饰 EGCG 和 EGCG 红外谱图主要吸收峰位置

Table 1 The main absorption peaks of the IR spectra of modified EGCG and EGCG

基团类型 Substituent group	吸收峰位置 Absorption peak (cm^{-1})	注释 Note
酚羟基(多分子缔和) phenolic hydroxyl group (Multiple molecular association)	3600 ~ 3100	O-H 伸展振动吸收,宽、强 Stretching vibration absorption, wide, strong
甲基 CH_3	2972 ~ 2952	CH_3 反对称伸展振动吸收,强 CH_3 anti-symmetric stretching vibration absorption, strong
亚甲基 CH_2	2880 ~ 2850	CH_2 反对称伸展振动吸收,强 CH_2 anti-symmetric stretching vibration absorption, strong
羰基(有氢键的芳香酯) -CO- (Aromatic ester containing hydrogen)	1690 ~ 1680	-CO-伸展振动吸收 -CO- stretching vibration absorption
苯环 Benzene ring	1600 ~ 1450	苯环 C=C 键整体伸展振动吸收,强 The benzene ring C=C bond stretching vibration absorption, strong
碳-氢键 C-H	1500 ~ 1300	烷链 C-H 弯曲振动吸收 Alkyl chain C-H bending vibration absorption
羧基 -COO-	1220 ~ 1210	C-O 伸展振动吸收 The C-O stretching vibration absorption
苯并吡喃结构 Benzopyran structure	1110 ~ 1105	C-H 弯曲振动吸收 C-H bending vibration absorption
苯并吡喃结构 Benzopyran structure	1040 ~ 1030	C-O 伸展振动吸收 The C-O stretching vibration absorption
碳链 $-(\text{CH}_2)_n-$	720 ~ 660	$n \geq 3$, CH_2 平面摇摆振动吸收 $n \geq 3$, CH_2 rocking vibration absorption

2.4 抗氧化活性比较

2.4.1 清除 $\cdot\text{OH}$ 能力比较

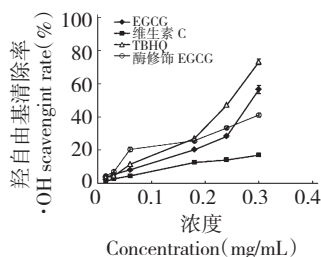


图 5 EGCG、维生素 C、TBHQ 及酶修饰 EGCG 清除 $\cdot\text{OH}$ 能力比较

Fig. 5 The $\cdot\text{OH}$ scavenging capacity of EGCG, VitC, TBHQ and modified EGCG

图,黑色虚线为 EGCG 标准品红外谱图,表 1 是图中各主要吸收峰的伸缩频率。

从酶修饰 EGCG 及 EGCG 的红外光谱图可以看出,两者在 $3600 \sim 3100 \text{ cm}^{-1}$ 处均有酚羟基的特征吸收峰,表明分子中都有酚羟基存在;在 $3000 \sim 2800 \text{ cm}^{-1}$ 处,酶修饰 EGCG 有甲基和亚甲基的特征吸收峰,而 EGCG 标准品没有,表明酶修饰 EGCG 分子中引入了烷链; 720 cm^{-1} 附近的吸收峰是酶修饰 EGCG 最特征吸收峰,是由碳原子数不小于 3 的烷基链中的 $-\text{CH}_2-$ 平面摇摆振动引起。

取 EGCG、维生素 C、TBHQ 及酶修饰 EGCG 各 15 mg,用蒸馏水溶解并定容于 50 mL 容量瓶中。在相同的反应体系中,各种物质浓度 (mg/mL) 分别是 0.015、0.03、0.06、0.18、0.24、0.3 时,对应的 $\cdot\text{OH}$ 清除率变化如图 5 所示,结果表明这四种物质都具有很强的清除 $\cdot\text{OH}$ 的能力,其清除能力依次为: TBHQ > EGCG > 酶修饰 EGCG > 维生素 C。

2.4.2 清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 能力比较

取 EGCG、维生素 C、TBHQ 及酶修饰 EGCG 各 5 mg,用蒸馏水溶解并定容于 50 mL 容量瓶中。在相同的反应体系中,各种物质浓度 (mg/mL) 分别是 0.014、0.017、0.02、0.025、0.033、0.05、0.1 时,对应

的清除率变化如图 6 所示,结果表明这四种物质都具有很强的清除 $O_2^{\cdot -}$ 的能力,其清除能力依次为:EGCG > 酶修饰 EGCG > TBHQ > 维生素 C。

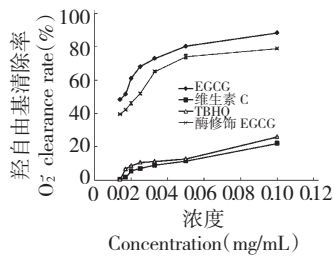


图 6 EGCG、维生素 C、TBHQ 及酶修饰 EGCG 清除 $O_2^{\cdot -}$ 能力比较

Fig. 6 The $O_2^{\cdot -}$ scavenging capacity of EGCG, VitC, TBHQ and modified EGCG

2.4.3 清除 DPPH· 能力比较

取 EGCG、维生素 C、TBHQ 及酶修饰 EGCG 各 2 mg,用无水乙醇溶解并定容于 10 mL 容量瓶中。在相同的反应体系中,各种物质浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 分别是 0.2、0.4、1、3、7、12、20 时,其对应的 DPPH· 清除率变化如图 7 所示,结果表明这四种物质都具有很强的清除 DPPH· 的能力,其清除能力依次为:酶修饰 EGCG > EGCG > TBHQ > 维生素 C。

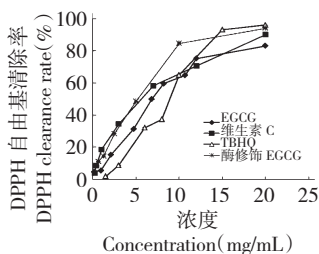


图 7 EGCG、维生素 C、TBHQ 及酶修饰 EGCG 清除 DPPH· 能力比较

Fig. 7 The DPPH· scavenging capacity of EGCG, VitC, TBHQ and modified EGCG

3 结论

本论文研究了非水介质中 Novozym 435 脂肪酶酶促 EGCG 的选择性酰化反应,研究发现,在叔戊醇体系中,水活度在 0.11 ~ 0.85 之间,Novozym 435 脂肪酶可以选择性催化 EGCG 与丁酸乙烯酯的反应。反应后混合液通过 LCQ^{DECA} 液质联用仪进行了初步鉴定,结果表明 EGCG 分子上有单一取代的修饰产物,EGCG 与酰化反应产物红外图谱对比表明,酰化

EGCG 主体结构 with EGCG 类似,其分子中引入了四碳链的烷基,但是酰化位点并不确定。将酶修饰 EGCG 与维生素 C、TBHQ、EGCG 之间进行了抗氧化性比较,结果表明,清除 $\cdot\text{OH}$ 的能力大小依次为:TBHQ > EGCG > 酶修饰 EGCG > 维生素 C,清除 $O_2^{\cdot -}$ 能力大小依次为:EGCG > 酶修饰 EGCG > TBHQ > 维生素 C,清除 DPPH· 能力大小依次为:TBHQ > EGCG > 酶修饰 EGCG > 维生素 C。

参考文献

- 1 Yang XQ(杨贤强), Wang YF(王岳飞), Chen LJ(陈留记), *et al.* Chemistry of Tea Polyphenols(茶多酚化学). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2003. 454-455.
- 2 Chen P(陈平), Sun D(孙东), Zheng XM(郑小明). Preparation, structure and antioxidant activity of EGCG palmitate. *J Zhejiang Univ(浙江大学学报)*, 2003, 30:422-425.
- 3 Liu XH(刘晓辉), Jiang HY(江和源), Zhang JY(张建勇), *et al.* Study on preparation of acetylated EGCG. *J Anhui Agri Sci(安徽农业科学)*, 2009, 37:11360-11363.
- 4 Liu XH(刘晓辉), Jiang HY(江和源), Zhang JY(张建勇), *et al.* Advances in researches on catechins acylation modification. *J Tea Sci(茶叶科学)*, 2009, 29:1-8.
- 5 Chebil L, Humeau C, Falcimaigne A. Enzymatic acylation of flavonoids. *Process Biochemistry*, 2006, 41:2237-2251.
- 6 Lam WH, Kazi A, Kuhn D, *et al.* A potential prodrug for a green tea polyphenol proteasome inhibitor: evaluation of the peracetate ester of (-)-epigallocatechin gallate [(-)-EGCG]. *Bioorganic & Med Chem*, 2004, 12:5587-5593.
- 7 Chen YJ(陈依军), Wang LL(王李礼). Enzymatic catalysis in non-aqueous solvents. *Chin J Biotech(生物工程学报)*, 2009, 25:1789-1794.
- 8 Sakai M. 3-O-Acetylated Catechins and Method of Producing Sample. JP6279430.
- 9 Wang H, Zong MH, Lou WY. Novel and highly regioselective route for synthesis of 5-fluorouridine lipophilic ester derivatives by lipozyme TL IM. *Journal of Biotechnology*, 2007, 129:689-695.
- 10 Yu JD(于健东), Wang GL(王钢力), Gao TB(高天兵), *et al.* Study on chemical composition of catechu(I) distinction between catechin and epicatechin by TLC. *China Pharmacist(中国药师)*, 2000, 3(1):3
- 11 Xiong QE(熊庆娥). The Experimental Course of Plant Physiology(植物生理学实验教程). Sichuan Science and Technology Press, 2003.