

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

類黃酮與過渡金屬離子反應探討：金屬螯合與電子轉移反應 (II) 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 97-2113-M-029-009-
執行期間：97年08月01日至98年07月31日
執行單位：東海大學化學系

計畫主持人：葉玉堂

計畫參與人員：碩士班研究生-兼任助理人員：陳怡心
碩士班研究生-兼任助理人員：朱文得
碩士班研究生-兼任助理人員：李維軒
碩士班研究生-兼任助理人員：姚靖農
碩士班研究生-兼任助理人員：程冠豪
碩士班研究生-兼任助理人員：陳緯霖
博士班研究生-兼任助理人員：林律銘
博士班研究生-兼任助理人員：宋杰

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 98 年 10 月 29 日

本年度計畫以探討 flavonoids 的螯合及電子轉移反應為主，分為三部分：

Al(III)- flavonoids 錯合物形成反應，DPPH-flavonoids 之電子轉移反應及

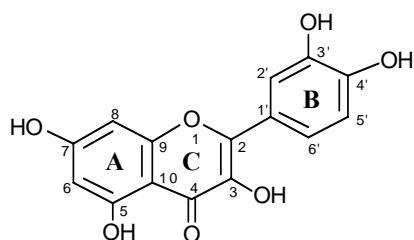
Fe(CN)₅L²⁺-flavonoids 外圍電子轉移反應。其中有關 Fe(CN)₅L²⁺-flavonoids 反應我們

遭遇一些問題，有許多現象為 Ru(NH₃)₅L³⁺ 氧化反應¹ 未出現的，目前仍在探討之中，

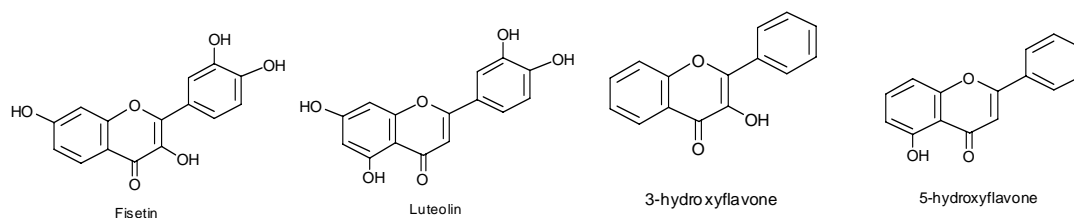
因此本報告將僅就前二子題論述。

一. Al(III)- flavonoids 錯合物探討

Quercetin 在醫藥上，已被證明具有防止老人癡呆的能力²，一般認為可能是 quercetin 與 Al(III)作用形成螯合物的像徵，因此引發我們的興趣。由於 quercetin 的水溶性低，因此反應在 MeOH/H₂O (9 : 1)混合溶劑下進行。除 quercetin 外，我們同時探討 Fisetin, Luteolin, 3, 5 – hydroxyflavone (scheme 1).



Quercetin



1. 錯合物的鑑定

類黃酮及其 Al(III)錯合物之吸收光譜皆列於 **Table 1**，從表中看出所有類黃酮的吸收均在紫外區，主要有兩個發光團 resorcinol(A 環)及 catechol(B 環)所引起，屬於 $\pi \rightarrow \pi^*$ 電子躍遷，其中波長在 255~270 nm 屬於 A 環之吸收，而波長範圍在 314~372 nm 屬於 B 環的吸收[3]。

當 Al(III)金屬離子與類黃酮螯合，相對於自由配位，吸收光譜均有明顯紅位移現象 ($\Delta\lambda \geq 34$ nm)，主要乃因 Al(III)為典型路易士酸，當與類黃酮鍵結時，強拉電子能力會降低 π^* 能量之故，**Fig. 1** 為 quercetin 及其 Al(III)錯合物光譜圖。

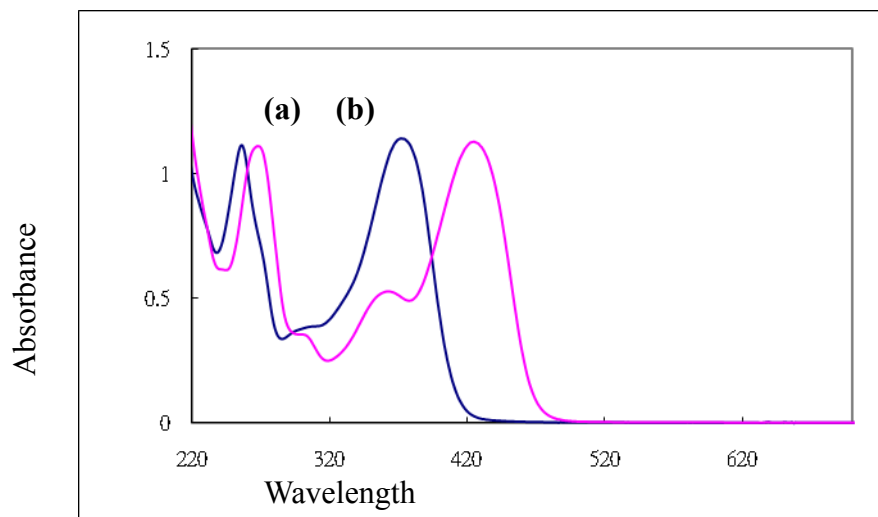


Figure 1、quercetin 與 Al-quercetin 錯合物吸收光譜圖

(a) free HF, (b) AlF^{2+}

Table 1、類黃酮(F)與螯合錯合物(AlF)之 UV-vis 光譜^a

Flavonoid	$\lambda_{\max}(10^{-4}\epsilon_{\max})$		Flavonoid	$\lambda_{\max}(10^{-4}\epsilon_{\max})$	
	Free	Complex([Al]/[F]=50)		Free	Complex([Al]/[F]=50)
Quercetin	207 (3.79)	207 (3.78)	3-Hydroxyflavone	202 (2.28)	248 (2.23)
	256 (2.24)	269 (2.23)		212 (1.60)	328 (0.746)
	303 (0.700)	298 (0.710)		241 (1.94)	404 (2.20)
	372 (2.29)	366 (1.05)		309 (1.26)	
		425 (2.27)		345 (1.78)	
Fisetin	249 (1.62)	222 (2.35)	5-Hydroxyflavone	202 (2.63)	204 (2.82)
	319 (1.16)	265 (1.67)		271 (2.81)	215 (2.00)
	363 (2.31)	320 (0.674)		299 (1.34)	291 (2.83)
		423 (2.87)		337 (0.718)	313 (1.44)
					396 (0.556)
Luteolin	254 (1.79)	265 (1.65)			
	267 (1.64)	276 (1.74)			
	294 (0.959)	295 (1.20)			
	351 (2.14)	357 (1.67)			
		385 (1.73)			

a. MeOH:H₂O=9:1, [H⁺]=0.01M, μ =0.10 LiClO₄, [Flavonoid]=5.00×10⁻⁵ M

有關 Al(III)-flavonoids 錯合物的反應之 Al(III)/flavonoid 計量比的文獻報導，隨不同的溶劑而有很大差異，分別有 1:1、1:2、2:1 和 2:3[3-7]。在探討 Al(III)-flavonoid 錯合物性質之前，我們必須先確定在我們的實驗條件下，即(CH₃OH/H₂O)=9:1, [H⁺]=0.005-0.05M 下，Al(III)與 flavonoid 的反應計量，在這方面探討我們使用光譜法偵測，將 flavonoids 濃度固定，分別與不同濃度之 Al(III)進行螯合，藉觀測 Al(III)錯合物最低能量(或最大波長)之吸收而獲得，結果發現所有類黃酮與 Al(III)的計量比皆為 1:1，Al(III)-quercetin 之反應計量圖如 Fig. 2 所示。

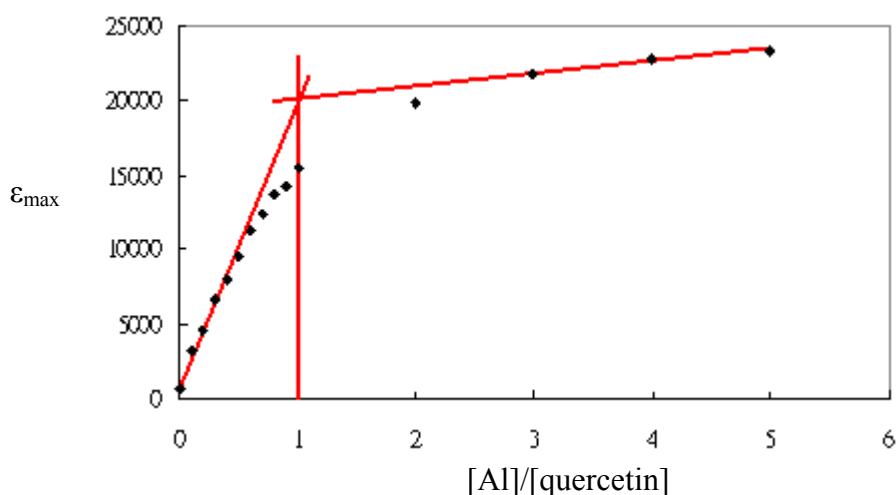


Figure 2、Al-quercetin 計量化學關係

為了確定 Al(III)/quercetin 之反應計量比為 1:1，我們同時探討反應產物的質譜光譜，反應於(CH₃OH/H₂O)=9:1, [H⁺]=0.01M LiClO₄ 下，將類黃酮濃度控制在 5.0×10⁻⁵M, [Al(III)]過量 20 倍的條件下進行反應，待反應達平衡後，再以質譜儀分析。**Fig. 3** 為 quercetin(a)、Al(III)(b)及其 Al(III)錯合物(c)之質譜圖，單獨 quercetin 的 m/z 在 303 出現一特徵吸收峰，如 **Fig. 3 (a)**所示，當加入過量[Al(III)]後，m/z=303 訊號消失，相對地在 m/z=459 處出現一個新的峰，如圖 **Fig. 3 (c)**所示，明顯 quercetin 完全與 Al(III)鍵結形成錯合物，分子量 459 顯示 Al 與 quercetin 為 1:1 結合且錯合物為四配位，其中一個配位為 ClO₄⁻，Al-flavonoids 的質譜分析結果列於 **Table 2**。

Table 2、Flavonoids 及其 Al(III)錯合物質譜結果^a

Flavonoid	m/z	
	Free FH ⁺	AlF(ClO ₄)(CH ₃ OH) ⁺
Quercetin	303	459
Fisetin	287	443
Luteolin	287	443
3-Hydroxyflavone	239	395
5-Hydroxyflavone	239	395

a. $[F]=5.0 \times 10^{-5} \text{M}$, $[Al]=1.0 \times 10^{-3} \text{M}$, in $(\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O})=9:1$ $[\text{H}^+]=0.01 \text{M}$

Generic Display Report (all)

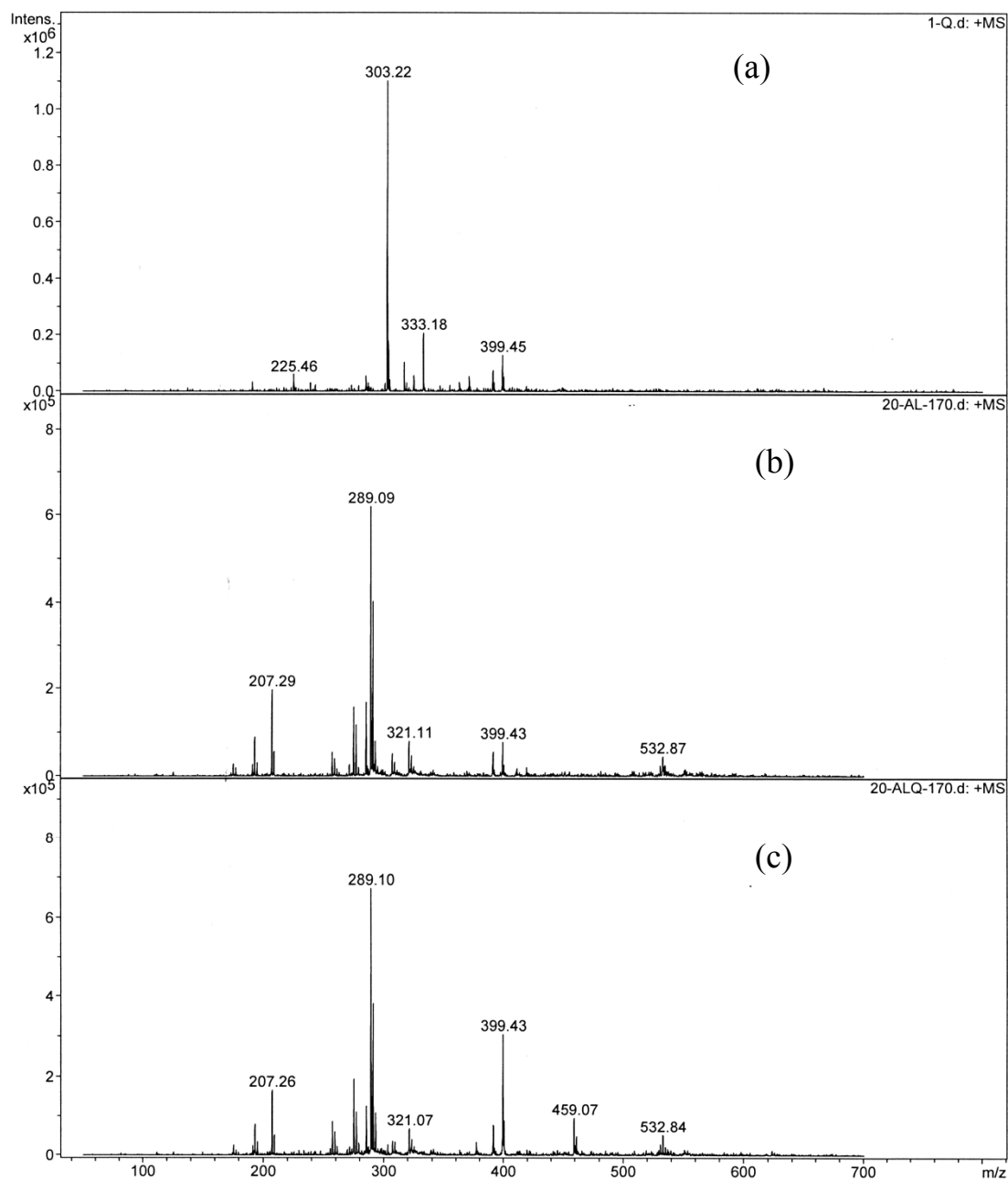
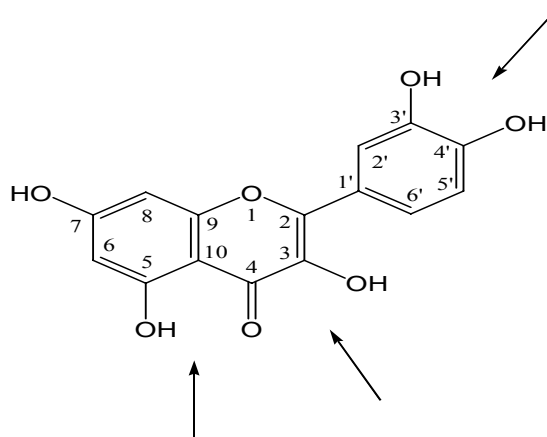


Figure 3、Al-quercetin 錯合物質譜圖

在金屬離子與類黃酮的螯合反應探討上，最困難的部分就是在鑑定金屬鍵結的位置，quercetin 有三組可能位置可供螯合，分別是在 C₃-OH 和 C₄=O、C₄=O 和 C₅-OH 以及 C_{3'}-OH 和 C_{4'}-OH 位置，



就如下一節所要討論的，由於類黃酮與 Al(III)螯合前，羥基必須要先去質子化，而 quercetin 之 B 環上的酚基 pKa 相當高(>9)[1]，因此在酸性條件下 C_{3'}-OH 及 C_{4'}-OH 不可能與 Al(III)螯合，所以 quercetin 可能的螯合位置只可能在 C₃-OH 和 C₄=O 或 C₄=O 和 C₅-OH 位置。為了確定螯合位置，我們探討 flavonoids 及其螯合物的 ¹H-NMR 光譜，反應在 [H⁺]=0.01M, [Al(III)]=2.0×10⁻¹-8.0×10⁻¹M, [flavonoids]=1.0×10⁻²-4.0×10⁻²M 條件下進行，所有 flavonoids 及其 Al(III)錯合物之結果列於 Table 3，quercetin 及其 Al(III)錯合物之 ¹H-NMR 光譜如 Fig. 4 所示。

對 fisetin 及 3-hydroxyflavone 而言，可鍵結位置只有在 C₃-OH 和 C₄=O 位置，比較 fisetin 及 3-hydroxyflavone 其 Al(III)錯合物之 H-2'和 H-6'位置，錯合物化學位移皆往 downfield 方向位移($\Delta\delta\geq 0.36$ ppm)，由於 Al(III)為拉電子基，當形成螯合後，使得 B 環的 H-2'和 H-6'位置的電子密度減少，因此造成訊號往 downfield 位移的現象。而其他氫之訊號，H-5、H-6、H-8 和 H-5'則無太大的改變($|\Delta\delta|\leq 0.14$ ppm)，如 Table 3 所示。對 luteolin 及 5-hydroxyflavone 而言，其可供鍵結的位置只有在 C₄=O 和 C₅-OH 位置，在這種情況下，就如所預期，相對於自由配位，Al(III)錯合物在 H-2'、H-6'、H-5'和 H-8 的化學位移沒有太大的改變($\Delta\delta< 0.08$ ppm)，而 H-6 及 H-3 則有明顯改變，H-6 往 downfield 方向位移($\Delta\delta=0.59$ ppm)，H-3 往 upfield 方向位移($\Delta\delta=0.38$ ppm)，H-3 會往 upfield 位移顯示 C=O 基的拉電子能力遠比 Al(III)-O 基強，使得 H-3 的電子密度相對增加。根據以上結果，如果 Al(III)錯合物鍵結位置在 C₃-OH 及 C₄=O，則 ¹H-NMR 的光譜應只有在 H-2'及 H-6'有明顯的位移，其餘位置的氫的化學位移不會有太大變化，而如果鍵結位置在 C₄=O 及 C₅-OH，則應只有 H-6 有明顯位移，但 ¹H-NMR 的光譜顯示，Al-quercetin 錯合物每一個氫位置皆有兩組化學位移，如 Fig. 4 所示，顯示 Al(III)同時與 C₃-OH、C₄=O 及 C₄=O、C₅-OH 同時螯合形成兩種錯合物。從 ¹H-NMR 光譜上 H-6、H-2'和 H-6'的積分比 1.6-0.6(C₃-OH、C₄=O/C₄=O、C₅-OH)，似乎表示此兩種異構物有相同的穩定度。

Table 3 · ¹H-NMR Chemical shifts Flavonoids^a

Proton	Quercetin		4,5 binding				3,4 binding			
	Free	Al(III)-F	Luteolin		5-Hydroxyflavone		Fisetin		3-Hydroxyflavone	
			Free	Al(III)-F	Free	Al(III)-F	Free	Al(III)-F	Free	Al(III)-F
H-3	—	—	6.57 (s) (6.66 ^f)	6.19 (s)	6.91 (s) (7.10 ^h)	6.79 (d)	—	—	—	—
H-5	—	—	—	—	—	—	7.98 (d) (8.00 ^e)	8.13 (d)	8.19 (dd) (8.10 ^g)	8.25 (d)
H-6	6.21 (d) (6.24 ^d)	6.19 (s) ^b 6.64 (s) ^c	6.23 (d) (6.18 ^f)	6.82 (s)	6.84 (d) (6.81 ^h)	7.05 (d)	6.92 (s) (6.91 ^c)	7.09 (s)	7.50 (m) (7.42 ^g)	7.50 (m)
H-7	—	—	—	—	7.69 (dd) (7.68 ^h)	7.72 (dd)	—	—	7.81 (dd) (7.76 ^g)	7.91 (s)
H-8	6.43 (d) (6.47 ^d)	6.40 (s) ^b 6.37 (s) ^c	6.48 (d) (6.42 ^f)	6.42 (s)	7.17 (d) (7.19 ^h)	7.18 (s)	6.94 (d) (6.92 ^c)	6.93 (d)	7.73 (d) (7.71 ^g)	7.59 (m)
H-2'	7.73 (d) (7.62 ^d)	7.79 (d) ^c 7.95 (d) ^b	7.39 (d) (7.37 ^f)	7.50 (dd)	8.06 (d) (8.11 ^h)	8.13 (d)	7.77 (d) (7.78 ^c)	7.99 (d)	8.29 (dd) (8.20 ^g)	8.65 (dd)
H-3'	—	—	—	—	7.60 (m) (7.59 ^h)	7.62 (m)	—	—	7.56 (m) (7.54 ^g)	7.56 (m)
H-4'	—	—	—	—	7.60 (m) (7.61 ^h)	7.62 (m)	—	—	7.50 (m) (7.42 ^g)	7.50 (m)
H-5'	6.91 (d) (7.00 ^d)	6.94 (d) ^b 6.92 (d) ^c	6.93 (m) (6.86 ^f)	6.95 (d)	7.60 (m) (7.59 ^h)	7.62 (m)	6.95 (d) (6.93 ^c)	7.06 (d)	7.56 (m) (7.54 ^g)	7.56 (m)
H-6'	7.63 (dd) (7.69 ^d)	7.73 (dd) ^c 8.08 (dd) ^b	7.39 (d) (7.39 ^f)	7.47 (dd)	8.06 (d) (8.11 ^h)	8.13 (d)	7.66 (d) (7.68 ^c)	8.07 (d)	8.29 (dd) (8.20 ^g)	8.65 (dd)

a. in CD₃OD:D₂O=9:1, [DCI]=0.01M, δ in ppm.c. chelated site at C₅-OH and C₄=O.

e. ref 36

g. ref 38

i. ref 40

b. chelated site at C₃-OH and C₄=O.

d. ref 35

f. ref 37

h. ref 39

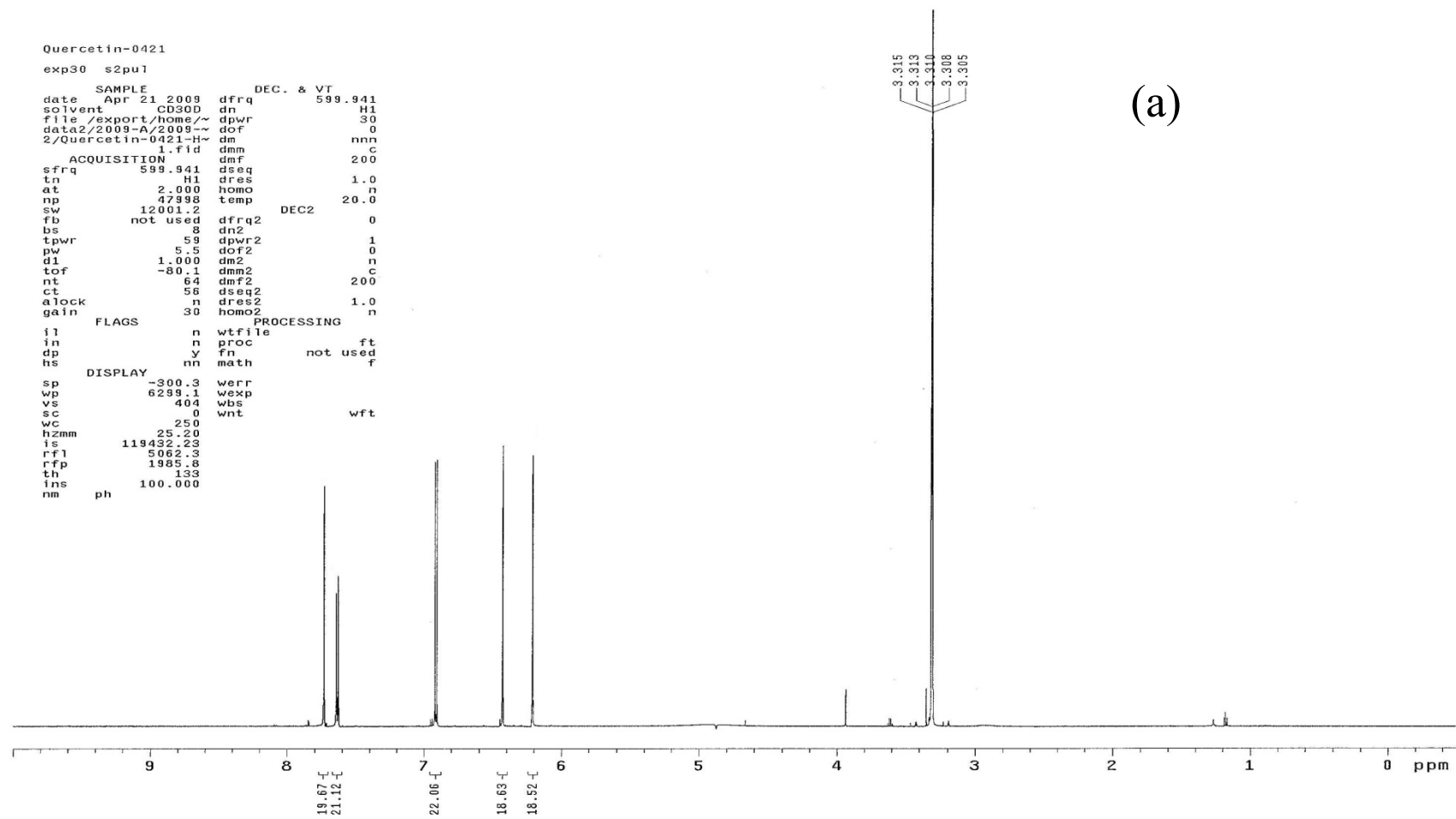


Figure 4、Quercetin 之 $^1\text{H-NMR}$ 光譜圖

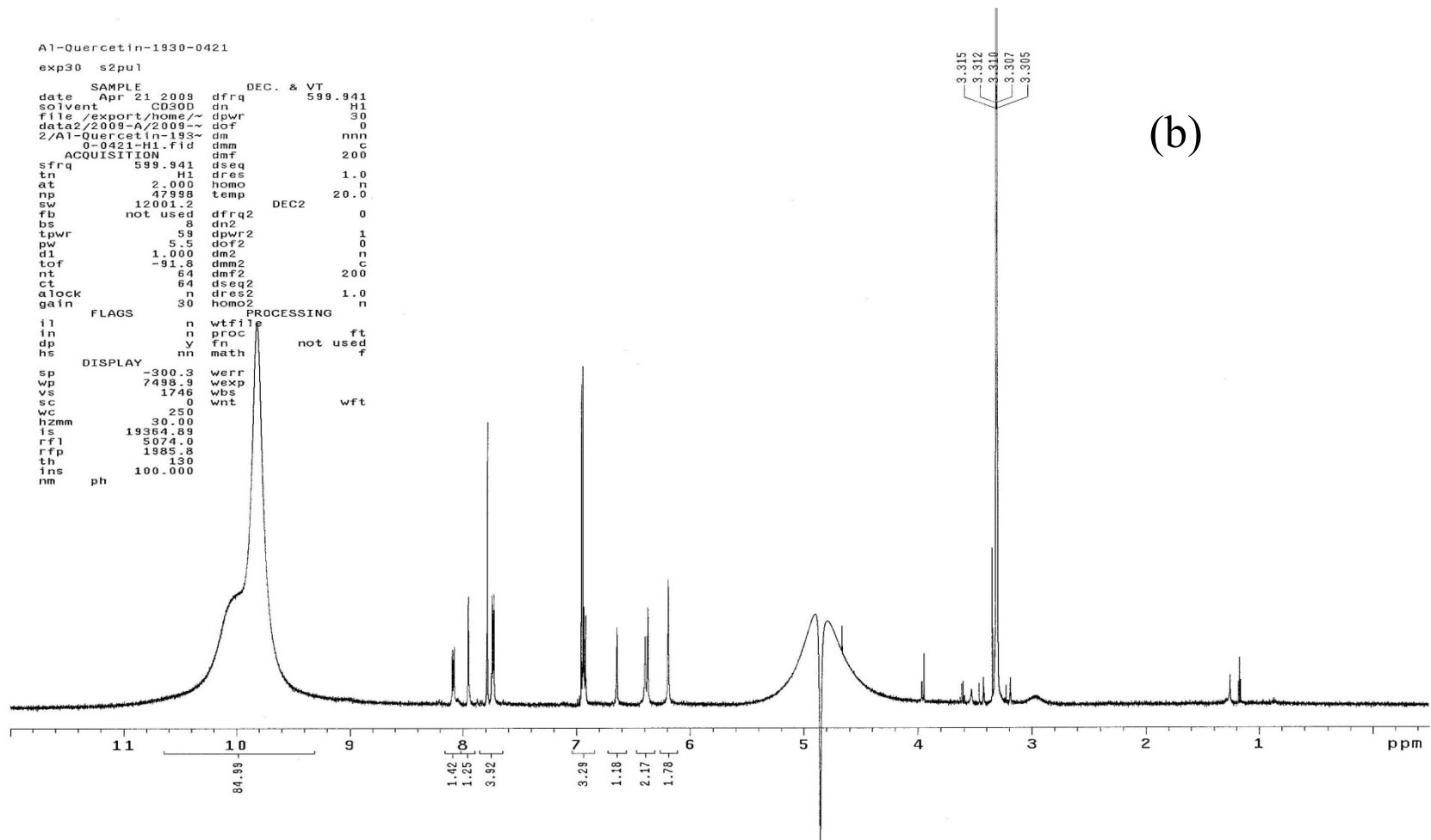


Figure 4、Al-quercetin 錯合物之 $^1\text{H-NMR}$ 光譜圖

2 類黃酮在酸性條件下的穩定性

類黃酮與 Al(III)錯合物的穩定性乃藉觀測 Al(III)-flavonoid 錯合物的形成而獲得，於(CH₃OH/H₂O)=9:1, [H⁺]=0.01M, [Flavonoid]=5.0×10⁻⁵M, [Al(III)]=1.0×10⁻³M 下偵測其光譜變化。Fig. 5 為 Al(III)-quercetin 錯合物之光譜，隨時間的改變下，在 372nm 吸收峰逐漸降低，相對在 425nm 吸收峰生成，且在 291nm 與 394nm 有 isosbestic point 的產生，表示 Al(III)與 quercetin 在酸性條件下之螯合反應，沒有 side reaction 發生，屬於單純的取代反應。其餘 Al(III)-flavonoids 錯合物皆有等吸收點(isosbestic point)出現。

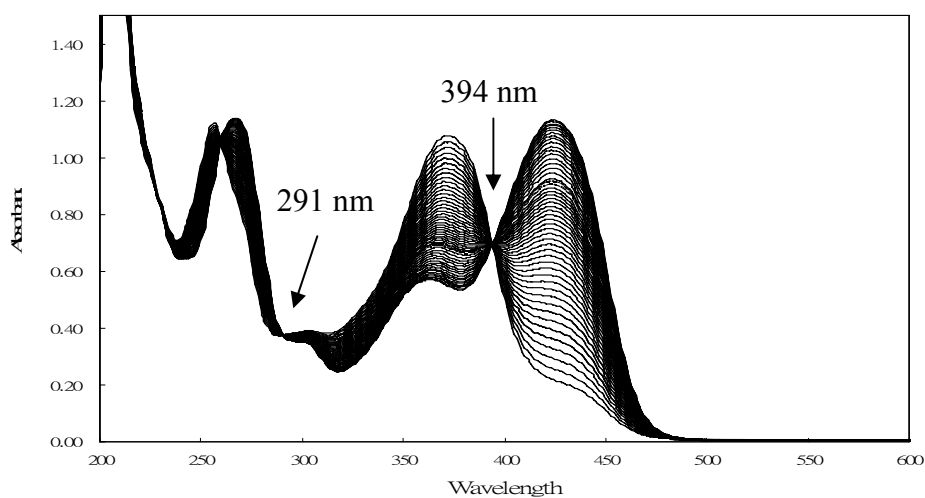


Figure 5、Al-quercetin 錯合物於[H⁺]=0.01M 之形成光譜圖

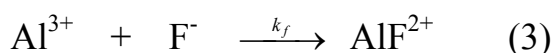
3 形成反應動力學

類黃酮與 Al(III)錯合物的形成反應動力學乃藉觀測 Al(III)-quercetin 錯合物的形成而獲得，於(CH₃OH/H₂O)=9:1, [H⁺]=0.005-0.05M, μ=0.10M HClO₄/LiClO₄ 條件下，偵測其光譜變化。以[Al(III)]為過量試劑，([Al(III)]≥10[Flavonoids])，維持反應在偽一級情況下進行。*k_{obs}* 與[Al(III)]濃度呈線性關係，如 Fig. 6-10 所示。以線性最小平方差(linear least-square fit)法分析 *k_{obs}* 與[Al(III)]圖，從斜率求得不同酸性條件下之二級反應速率常數 *k* 值，結果列於 Table 4。*k* 值隨著[H⁺]增加而遞減但呈非線性關係，如 Fig. 11-15 所示，因此我們可確定形成螯合錯合物時羥基必須先去質子化，如 eq. (1)所示。



F:Flavonoids

又因反應計量結果顯示類黃酮與[Al(III)]比值為 1:1，當我們以 $\frac{1}{k}$ 對[H⁺]作圖，兩者呈線性關係，如 Fig. 16 所示。根據動力學結果，我們推測反應機構可以 eq. (2)-(3) 表示，



根據此反應機構，*k* 值可以 eq. (4) 表示

$$k = \frac{k_f K_a}{[\text{H}^+] + K_a} \quad (4)$$

利用非線性最小平方差(non-linear least square fits)根據 eq. (4)分析 k vs $[H^+]$ 可以得到 k_f 和 K_a 值, 結果列於 Table 5。從 Table 5 中我們發現, fisetin 及 3-hydroxyflavone 之 k_f 和 K_a 僅比 luteolin 及 5-hydroxyflavone 略為大些, 顯示 C_3-OH 及 $C_4=O$ 之螯合活性與 $C_4=O$ 和 C_5-OH 之螯合活性相當接近, 此結果表示 Al(III) 與 quercetin 之反應將同時形成 C_3-OH 、 $C_4=O$ 及 $C_4=O$ 、 C_5-OH 螯合之兩種錯合物, 印證 ^1H-NMR 光譜結果。

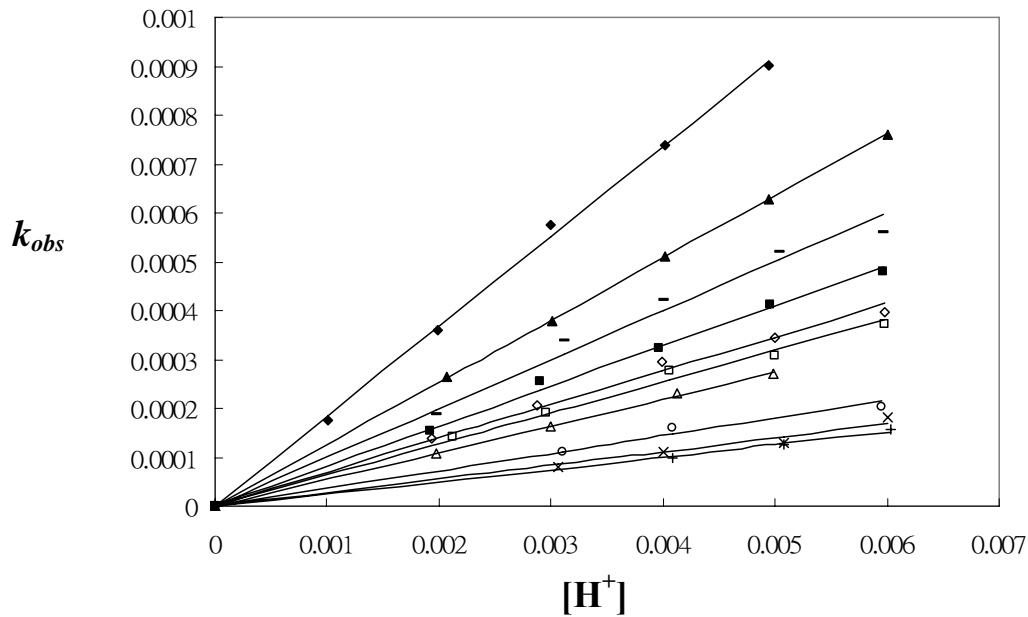


Figure 6、 k_{obs} vs [quercetin] plots at various acid concentrations

◆0.005M ▲0.0075M ○0.010M ■0.0125M ◇0.0150M □0.0175M △0.020M ○0.030M ×0.040M +0.050M

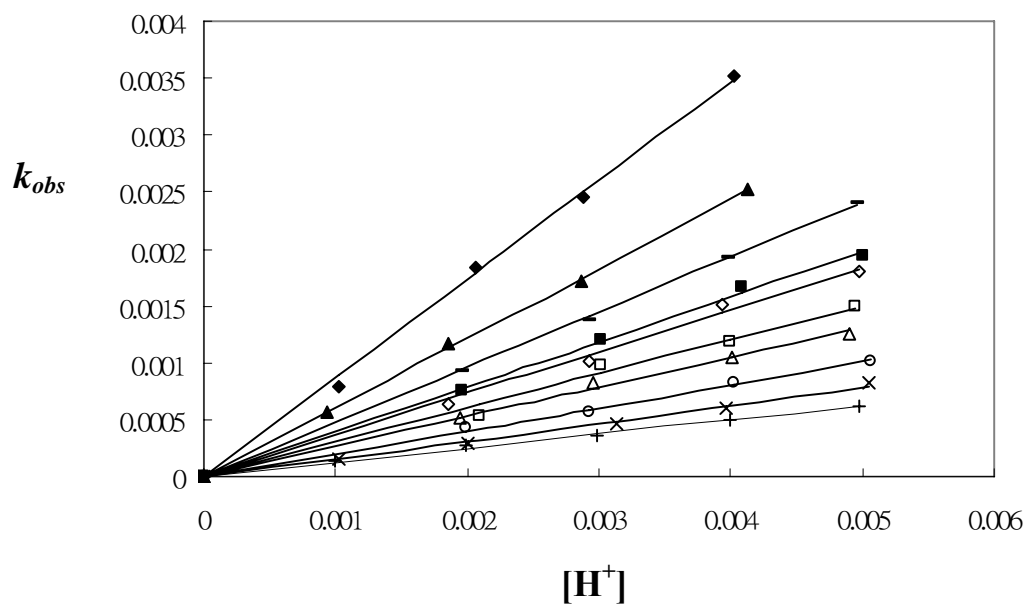


Figure 7、 k_{obs} vs [Fisetin] plots at various acid concentrations

◆0.005M ▲0.0075M ▬0.010M ■0.0125M ◇0.0150M □0.0175M △0.020M ○0.030M ×0.040M +0.050M

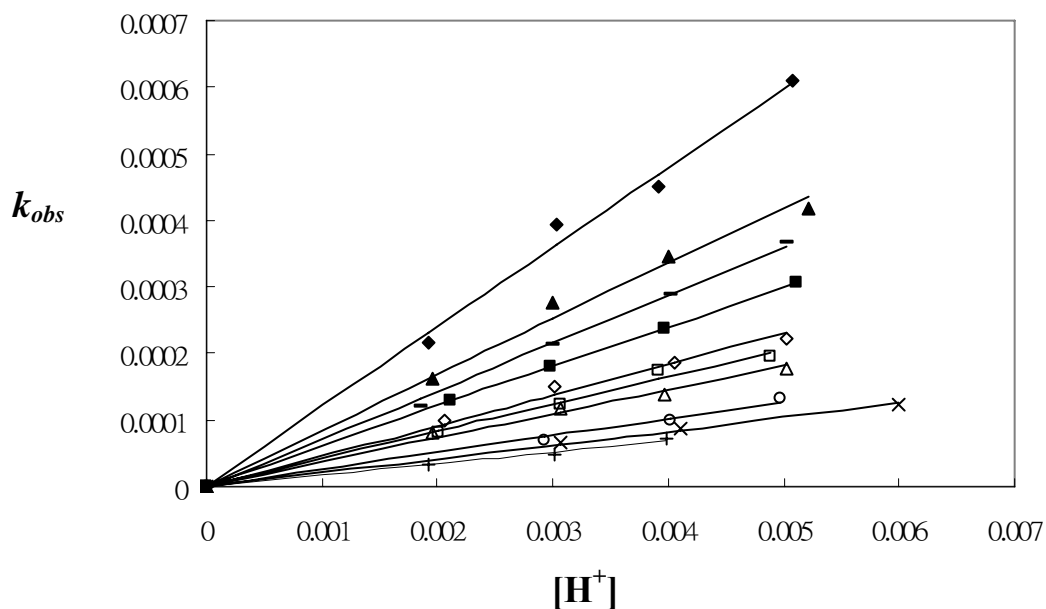


Figure 8、 k_{obs} vs [Luteolin] plots at various acid concentrations

◆0.005M ▲0.0075M ▬0.010M ■0.0125M ◇0.0150M □0.0175M △0.020M ○0.030M ×0.040M +0.050M

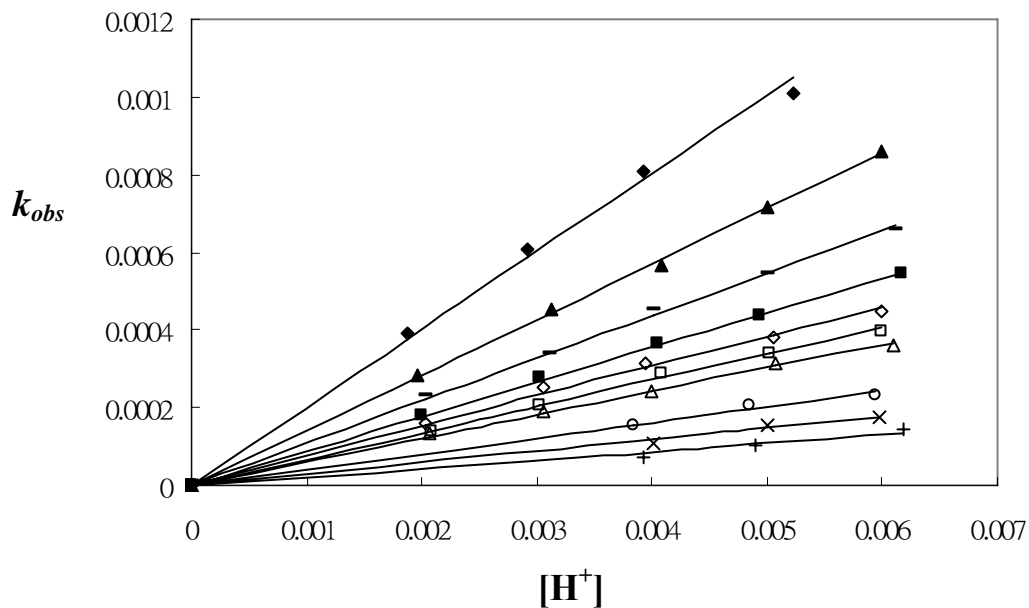


Figure 9、 k_{obs} vs [3-Hydroxyflavone] plots at various acid concentrations

◆0.005M ▲0.0075M —0.010M ■0.0125M ◇0.0150M □0.0175M △0.020M ○0.030M ×0.040M +0.050M

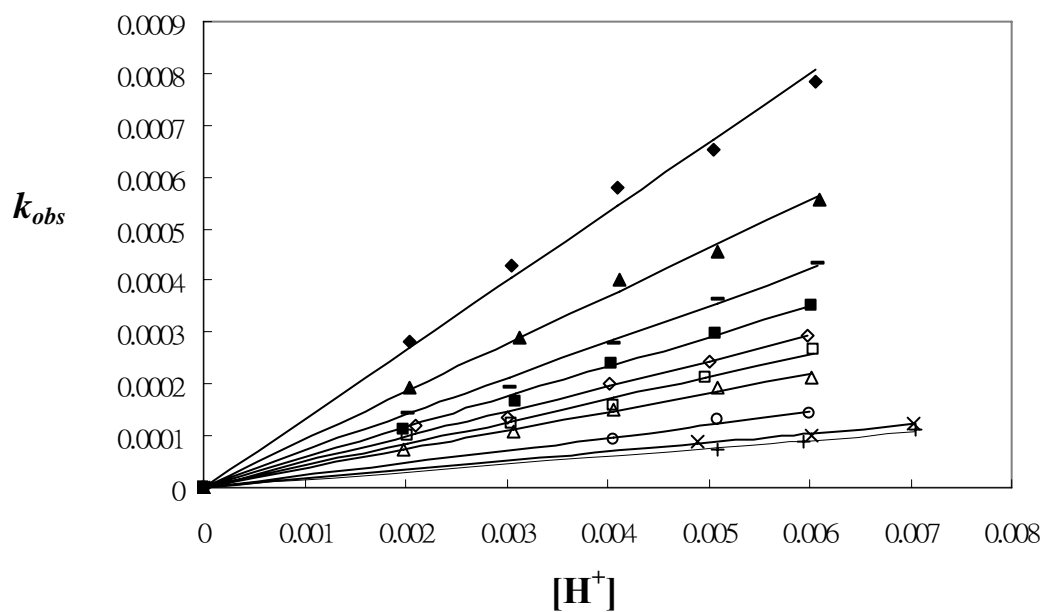


Figure 10、 k_{obs} vs [5-Hydroxyflavone] plots at various acid concentrations

◆0.005M ▲0.0075M —0.010M ■0.0125M ◇0.0150M □0.0175M △0.020M ○0.030M ×0.040M +0.050M

Table 4 · The values of k at various acid concentrations^a

$[H^+]$, M	Quercetin	Fisetin	Luteolin	3-HF	5-HF
0.0050	$(1.84 \pm 0.02) \times 10^{-1}$	$(1.01 \pm 0.03) \times 10^0$	$(1.20 \pm 0.03) \times 10^{-1}$	$(2.00 \pm 0.04) \times 10^{-1}$	$(1.33 \pm 0.02) \times 10^{-1}$
0.0075	$(1.27 \pm 0.01) \times 10^{-1}$	$(7.53 \pm 0.09) \times 10^{-1}$	$(8.39 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(1.42 \pm 0.01) \times 10^{-1}$	$(9.24 \pm 0.09) \times 10^{-2}$
0.0100	$(1.00 \pm 0.02) \times 10^{-1}$	$(6.64 \pm 0.09) \times 10^{-1}$	$(7.17 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(1.09 \pm 0.01) \times 10^{-1}$	$(7.03 \pm 0.09) \times 10^{-2}$
0.0125	$(8.21 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(4.95 \pm 0.09) \times 10^{-1}$	$(6.01 \pm 0.03) \times 10^{-2}$	$(8.90 \pm 0.05) \times 10^{-2}$	$(5.83 \pm 0.07) \times 10^{-2}$
0.0150	$(6.92 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(4.37 \pm 0.09) \times 10^{-1}$	$(4.58 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(7.67 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(4.90 \pm 0.09) \times 10^{-2}$
0.0175	$(6.38 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(4.03 \pm 0.09) \times 10^{-1}$	$(4.12 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(6.77 \pm 0.06) \times 10^{-2}$	$(4.25 \pm 0.09) \times 10^{-2}$
0.0200	$(5.47 \pm 0.04) \times 10^{-2}$	$(3.62 \pm 0.09) \times 10^{-1}$	$(3.62 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(6.05 \pm 0.07) \times 10^{-2}$	$(3.65 \pm 0.05) \times 10^{-2}$
0.0300	$(3.59 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(2.58 \pm 0.08) \times 10^{-1}$	$(2.55 \pm 0.05) \times 10^{-2}$	$(4.04 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(2.41 \pm 0.07) \times 10^{-2}$
0.0400	$(2.79 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(1.94 \pm 0.06) \times 10^{-1}$	$(2.09 \pm 0.03) \times 10^{-2}$	$(2.94 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(1.73 \pm 0.03) \times 10^{-2}$
0.0500	$(2.51 \pm 0.04) \times 10^{-2}$	$(1.46 \pm 0.04) \times 10^{-1}$	$(1.72 \pm 0.05) \times 10^{-2}$	$(2.16 \pm 0.09) \times 10^{-2}$	$(1.51 \pm 0.03) \times 10^{-2}$

a. $\mu=0.1$ M $HClO_4/LiClO_4$, $T=25^\circ C$

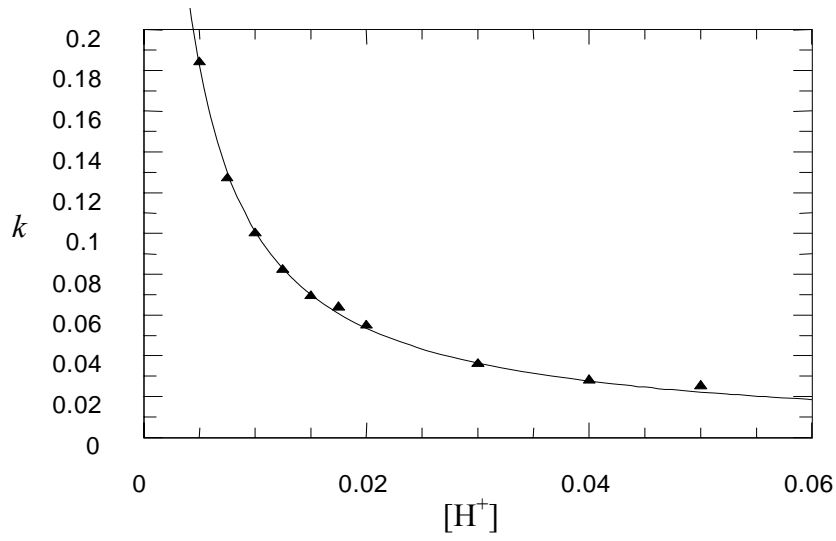


Figure 11、Al(III)與 quercetin 螯合反應之 k 與 $[H^+]$ 關係圖

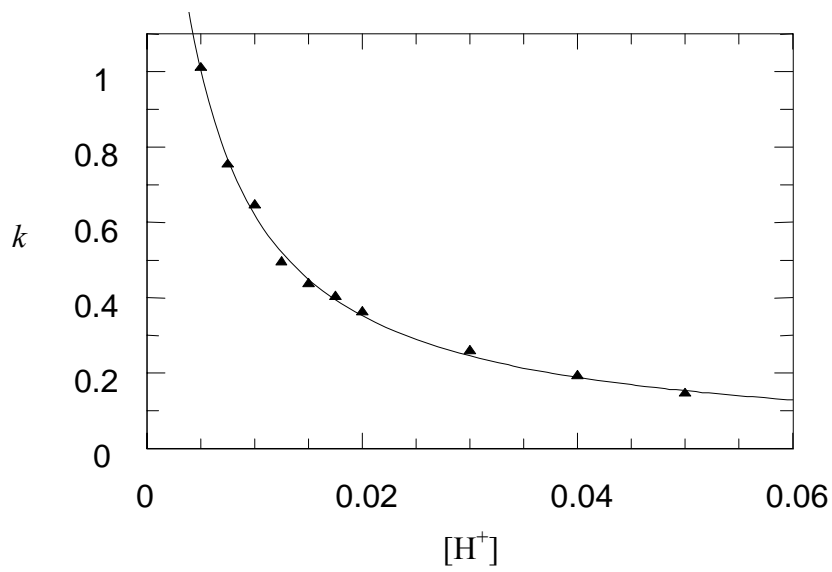


Figure 12、Al(III)與 fisetin 螯合反應之 k 與 $[H^+]$ 關係圖

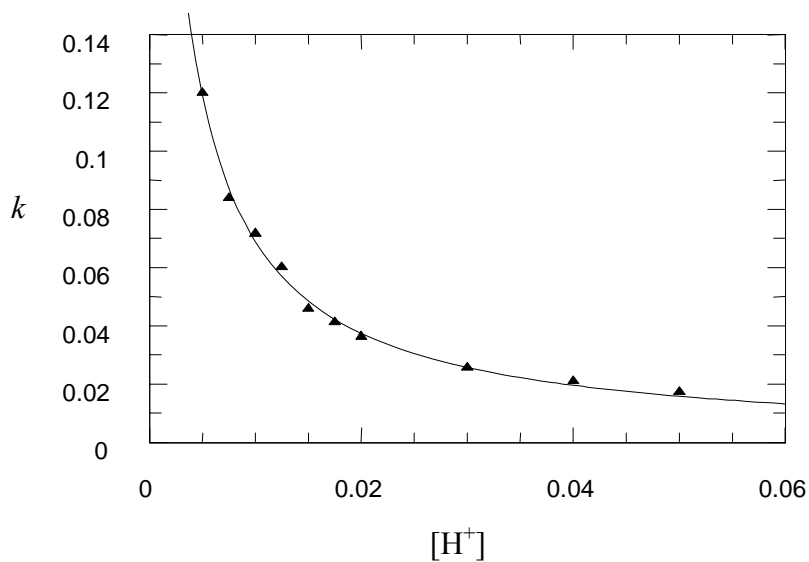


Figure 13、Al(III)與 luteolin 螯合反應之 k 與 $[H^+]$ 關係圖

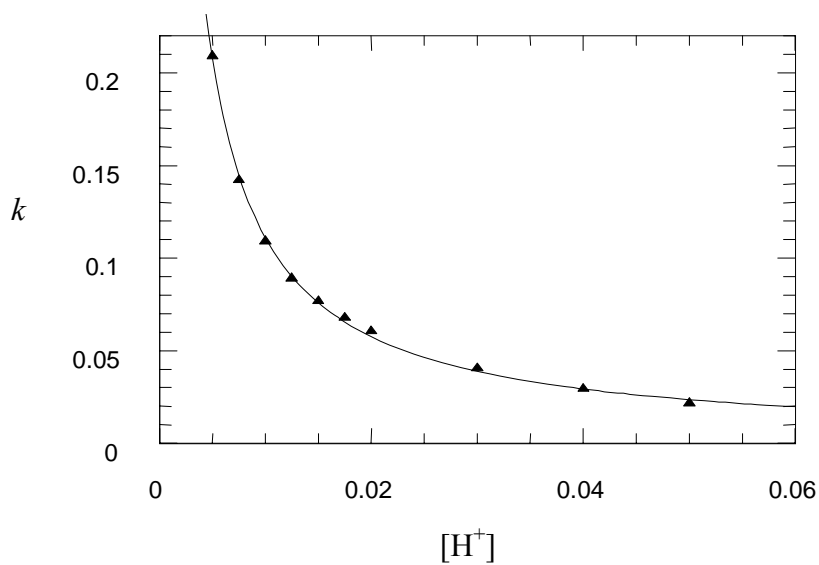


Figure 14、Al(III)與 3-hydroxyflavone 螯合反應之 k 與 $[H^+]$ 關係圖

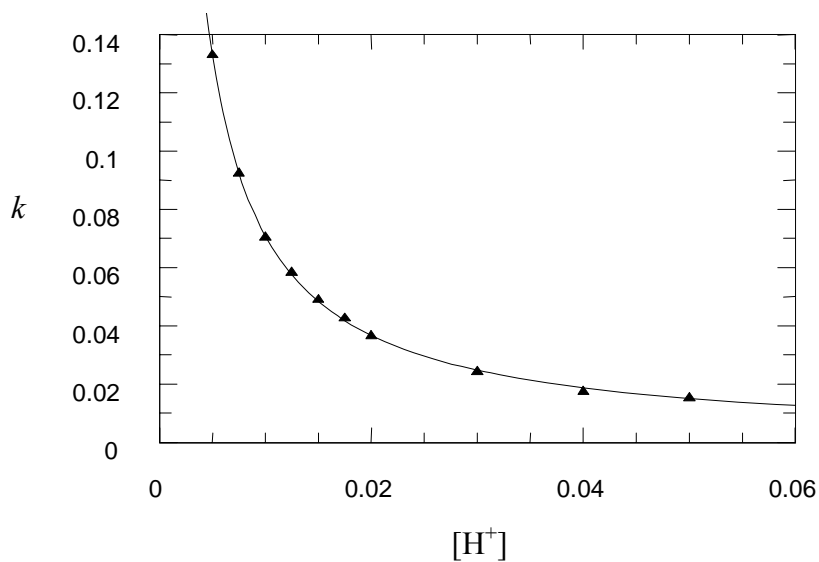


Figure 15、Al(III)與 5-hydroxyflavone 螯合反應之 k 與 $[H^+]$ 關係圖

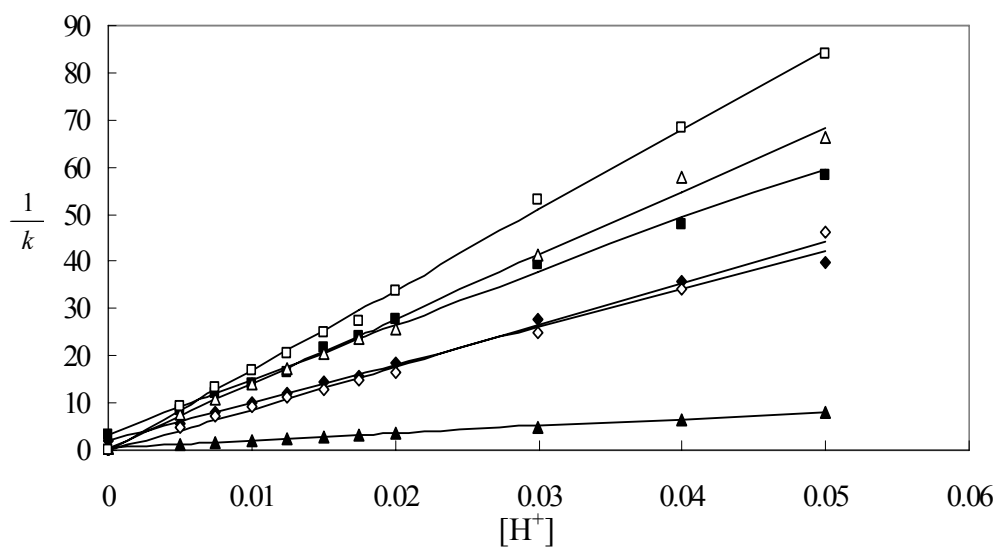


Figure 16、Al(III)與類黃酮螯合反應之 $\frac{1}{k}$ 與 $[H^+]$ 關係圖

◆Quercetin ▲Fisetin ■Luteolin ◇3HF △5HF □Chrysin

Table 5、Rate constants of formation^a

Flavonoid	$k_f, \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	$K_a (\text{p}K_a)$
Quercetin	0.93±0.02	$(1.2\pm0.2)\times10^{-3}$ (2.92)
Fisetin	2.64±0.08	$(3.1\pm0.3)\times10^{-3}$ (2.51)
3-Hydroxyflavone	1.57±0.03	$(7.6\pm1.4)\times10^{-4}$ (3.12)
Luteolin	0.69±0.02	$(1.1\pm0.2)\times10^{-3}$ (2.96)
5-Hydroxyflavone	1.06±0.01	$(7.2\pm0.8)\times10^{-4}$ (3.14)

a. $\mu=0.10 \text{ HClO}_4/\text{LiClO}_4$

4 Al(III)-flavonoids 錯合物之 affinity

Al(III)-flavonoids 錯合物的穩定性可藉 eq. (1) 之平衡常數的探討來了解, eq. (1) 之平衡常數乃以光譜法偵測, 由於未鍵結類黃酮的吸收光譜, 與所形成 Al(III) 錯合物的吸收波長相距甚遠, 在錯合物的吸收位置類黃酮的吸收可以忽略, 如 Fig. 1 所示。所以我們直接以觀察錯合物的吸收求得 eq. (1) 的平衡常數。於 $[H^+] = 0.01$ 和 $0.02M$ 條件下, $[F] = 5.0 \times 10^{-5}M$ 和 $[Al(III)] = 1-2 \times 10^{-5}M$ 時所測得之平衡常數, 列於 Table 6。從表中我們得知 fisetin 及 3-hydroxyflavone 和 luteolin 及 5-hydroxyflavone 的平衡常數值相當接近, 表示在 Al-quercetin 的螯合反應在 C_3-OH 、 $C_4=O$ 及 $C_4=O$ 、 C_5-OH 錯合物應同時形成, 兩者的穩定性沒有太大的差異, 為了印證 C_3-OH 、 $C_4=O$ 與 Al(III) 之螯合穩定性與 $C_4=O$ 、 C_5-OH 位置相近, 我們同時利用 DFT 理論計算螯合在 C_3-OH 、 $C_4=O$ 或 $C_4=O$ 、 C_5-OH 的相對自由能 (ΔG^0), 利用 Gaussian 03 的 B3LYP/6-31G* level 和 Jaguar 7.5 [8, 9] 方法, 根據元素分析及 MS 光譜結果設定 Al(III)-quercetin 錯合物屬於四配位, 計算其兩種幾何異構物分別於氣相、甲醇和水溶液下的自由能 (ΔG^0) 結果列於 Table 7。計算所得兩種異構物最穩定的結構, 如 Fig. 17 所示。在氣相中分子間的作用可被忽略, 所得螯合在 $C_4=O$ 、 C_5-OH 位置的錯合物能量比螯合在 C_3-OH 、 $C_4=O$ 低 $5.0 kcal mol^{-1}$, 與 Toscano 計算

Table 6、Equilibrium constant

Flavonol	[H ⁺], M	[F], M	[Al ³⁺], M	[AlF], M	K	K _{av.}
Quercetin	0.01	5.01×10 ⁻⁵	9.98×10 ⁻⁵	3.09×10 ⁻⁵	2.3×10 ²	(2.1±0.1)×10 ²
			1.50×10 ⁻⁴	3.45×10 ⁻⁵	1.9×10 ²	
			2.00×10 ⁻⁴	3.81×10 ⁻⁵	2.0×10 ²	
	0.02	4.98×10 ⁻⁵	2.01×10 ⁻⁴	3.09×10 ⁻⁵	1.9×10 ²	
			2.51×10 ⁻⁴	3.30×10 ⁻⁵	1.8×10 ²	
			3.01×10 ⁻⁴	3.72×10 ⁻⁵	2.2×10 ²	
Luteolin	0.01	5.00×10 ⁻⁵	1.00×10 ⁻⁴	3.48×10 ⁻⁵	3.5×10 ²	(3.4±0.2)×10 ²
			1.50×10 ⁻⁴	3.99×10 ⁻⁵	3.6×10 ²	
			2.00×10 ⁻⁴	4.30×10 ⁻⁵	3.9×10 ²	
	0.02	5.00×10 ⁻⁵	2.00×10 ⁻⁴	3.53×10 ⁻⁵	2.9×10 ²	
			2.50×10 ⁻⁴	3.82×10 ⁻⁵	3.1×10 ²	
			3.00×10 ⁻⁴	4.07×10 ⁻⁵	3.4×10 ²	
Fisetin	0.01	5.01×10 ⁻⁵	5.00×10 ⁻⁵	3.85×10 ⁻⁵	5.4×10 ²	(4.7±0.9)×10 ²
			1.00×10 ⁻⁴	4.12×10 ⁻⁵	4.3×10 ²	
			1.50×10 ⁻⁴	4.19×10 ⁻⁵	3.2×10 ²	
	0.02	5.00×10 ⁻⁵	5.00×10 ⁻⁵	3.24×10 ⁻⁵	5.5×10 ²	
			1.00×10 ⁻⁴	3.67×10 ⁻⁵	4.9×10 ²	
			1.50×10 ⁻⁴	3.98×10 ⁻⁵	4.9×10 ²	
0.02	5.00×10 ⁻⁵	3.00×10 ⁻⁴	3.55×10 ⁻⁵	1.9×10 ²		
		3.50×10 ⁻⁴	3.78×10 ⁻⁵	2.0×10 ²		
		4.00×10 ⁻⁴	3.92×10 ⁻⁵	2.0×10 ²		
3HF	0.01	5.02×10 ⁻⁵	1.00×10 ⁻⁴	3.50×10 ⁻⁵	3.5×10 ²	(3.0±0.5)×10 ²
			1.50×10 ⁻⁴	3.97×10 ⁻⁵	3.4×10 ²	
			2.00×10 ⁻⁴	4.23×10 ⁻⁵	3.4×10 ²	
	0.02	5.02×10 ⁻⁵	2.00×10 ⁻⁴	3.41×10 ⁻⁵	2.5×10 ²	
			2.50×10 ⁻⁴	3.63×10 ⁻⁵	2.4×10 ²	
			3.00×10 ⁻⁴	3.85×10 ⁻⁵	2.5×10 ²	
5HF	0.01	2.01×10 ⁻⁴	8.00×10 ⁻⁴	1.67×10 ⁻⁴	7.8×10 ¹	(7.8±0.3)×10 ¹
			1.00×10 ⁻³	1.73×10 ⁻⁴	7.5×10 ¹	
			1.20×10 ⁻³	1.77×10 ⁻⁴	7.2×10 ¹	
	0.02	2.03×10 ⁻⁴	1.60×10 ⁻³	1.72×10 ⁻⁵	7.8×10 ¹	
			1.80×10 ⁻³	1.76×10 ⁻⁵	8.0×10 ¹	
			2.00×10 ⁻³	1.79×10 ⁻⁵	8.2×10 ¹	

Fe(II)-quercetin 錯合物的結果相近(5.6kcal mol^{-1})[10]，稍有利於 $\text{C}_4=\text{O}$ 、 C_5-OH 之螯合。而在甲醇和水溶液中，考慮分子內的作用力，計算結果發現，螯合 C_3-OH 、 $\text{C}_4=\text{O}$ 位置錯合物的略比螯合在 $\text{C}_4=\text{O}$ 、 C_5-OH 位置錯合物穩定，但自由能的差異幾可忽略，由 Table 3.9 所示。再次印證 Al(III)與 quercetin 同時在 C_3-OH 、 $\text{C}_4=\text{O}$ 及 $\text{C}_4=\text{O}$ 、 C_5-OH 螯合形成兩種錯合物。

Table 7、The relative standard Gibbs molar free energies of Al(III)-quercetin complexes at $T=25^\circ\text{C}$

Chelation site	ΔG^0 (kcal mol ⁻¹)		
	Gas phase	solution	
		methanol	water
C_3-OH 、 $\text{C}_4=\text{O}$	0.00	0.00	0.00
$\text{C}_4=\text{O}$ 、 C_5-OH	-5.0	3.0	0.42

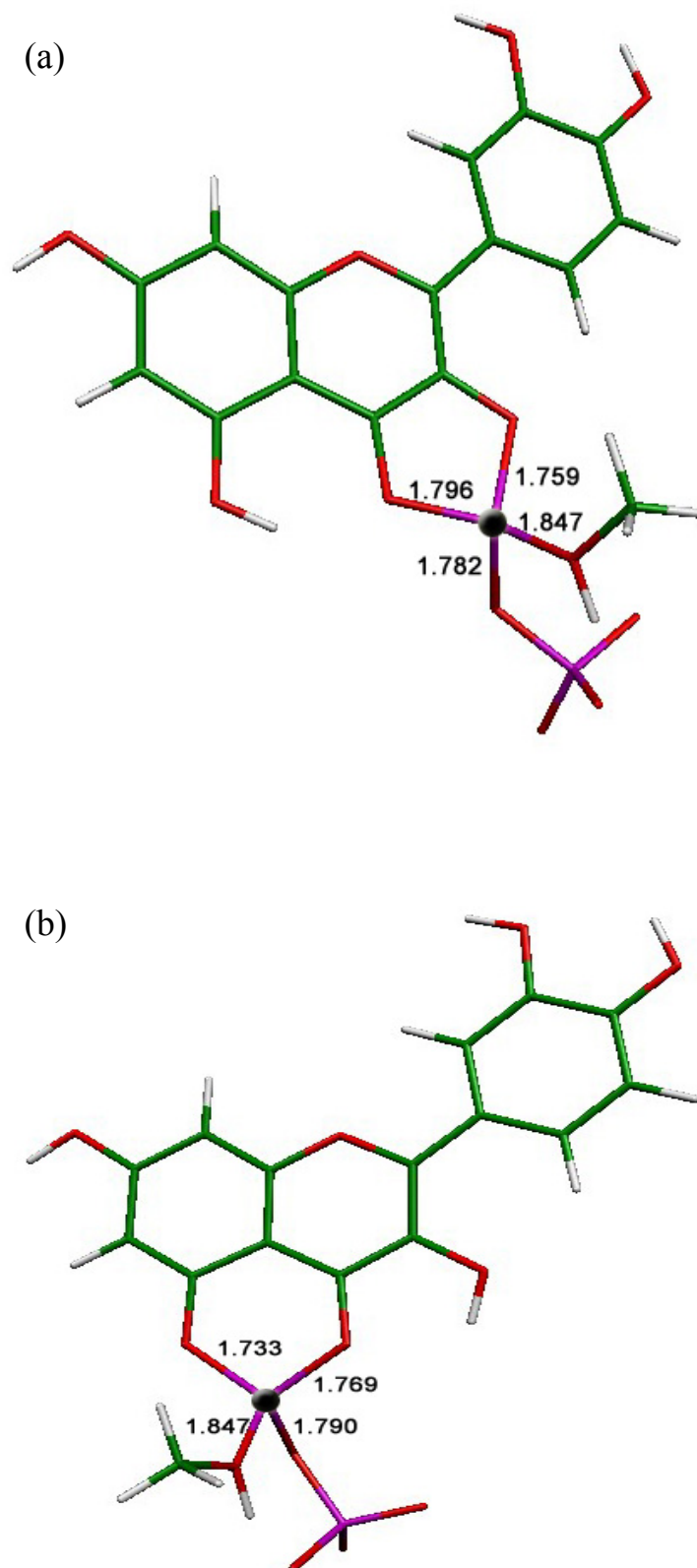


Figure 17 、 Optimized geometries of Al(III)-quercetin complexes.

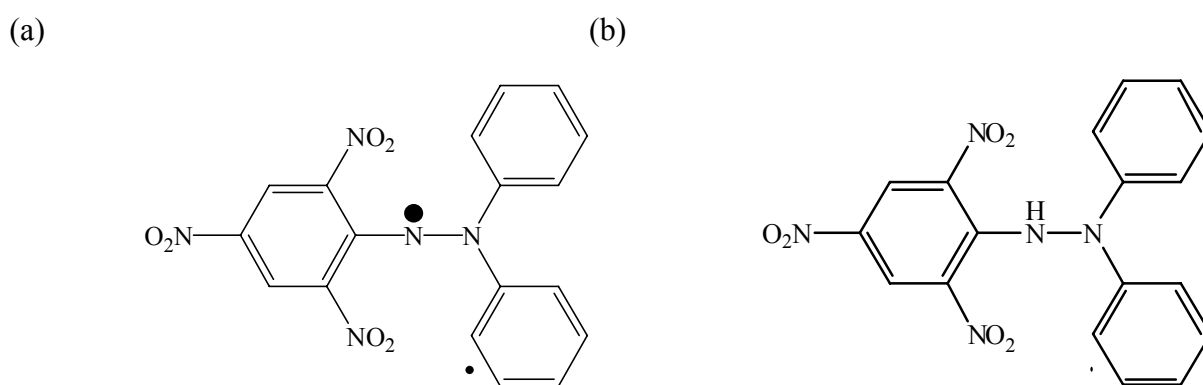
(a) O₃, O₄ chelation (b) O₄, O₅ chelation
 green-C, white-H, red-oxygen, black-Al, purple-Cl

5. 結論

1. 由合成產物、反應計量與質譜結果發現，(Al/querctetin)螯合屬於 1:1，且 Al(III) 屬於四配位鍵結，其中兩個配位與 querctetin 形成螯合錯合物，另外兩個配位分別與一個 CH₃OH 和一個 ClO₄⁻ 鍵結。
2. 由 ¹H-NMR 結果顯示，Al-querctetin 錯合物有兩種異構物，分別螯合在 C₃-OH、C₄=O 和 C₄=O、C₅-OH 位置，兩種異構物為同時發生，¹H-NMR、反應平衡常數及 DFT 理論計算均顯示，此兩種異構物的穩定性大致相同。
3. 形成反應速率動力學的結果顯示 C₃-OH、C₄=O 和 C₄=O、C₅-OH 的螯合活性亦相當一致。

二. DPPH-flavonoids 電子轉移反應

由於大多數類黃酮的水溶性低，甚至有許多完全不溶於水，在水溶液環境下不易進行實驗，大部分針對類黃酮的探討多是在有機溶劑環境下來進行。在氧化還原反應方面，由於過渡金屬錯合物大多為水溶性，無法在有機溶劑中進行，因此需使用有機氧化劑，尤其是穩定的自由基分子，例如： α,γ -bisdiphenylene- β -phenylallyl (BDPA)、2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS⁺)、2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)等(scheme 2)，其中最常被使用的為DPPH。



scheme 2 (a)DPPH氧化、(b)DPPH還原態結構

dpph 為相當穩定的自由基，主要是由於自由基電子可不定域化 delocalize 在整個分子上，此 delocalization 使 dpph 呈澄澈深紫色溶液，被還原後電子對藉質子化(protonation)被固定在氮上，變為清澈橙黃色溶液，DPPH 之氧化及還原態結構如 **scheme 2** 所示。藉著明顯的顏色變化，科學家們喜歡使用 dpph 作為自由基模型來探討在有機溶液中抗氧化劑清除自由基的能力。在本研究中，我們將以 dpph

為氧化劑，探討在 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 混合溶劑條件下，dpph 與 pyrocatechol 及 (+)-catechin 之反應。

1 吸收光譜與化學計量

dpph 氧化類黃酮的反應計量乃以光譜法偵測，dpph、pyrocatechol 及 (+)-catechin 之吸收光譜列於 Table 8，pyrocatechol 及 (+)-catechin 光譜結果與文獻符合[11]，由於 dpph 之 $\lambda_{\max} = 515 \text{ nm}$ 吸收與類黃酮沒有重疊，如 Fig. 18 所示，因此反應計量以觀察 dpph 的吸收偵測。

Table 8 UV-Vis 吸收光譜

Compound	λ_{\max} (nm)	$10^{-3} \epsilon_{\max}(\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})$
dpph	327	16.9
	515	11.0
pyrocatechol	278	2.75
(+)-catechin	281	3.99

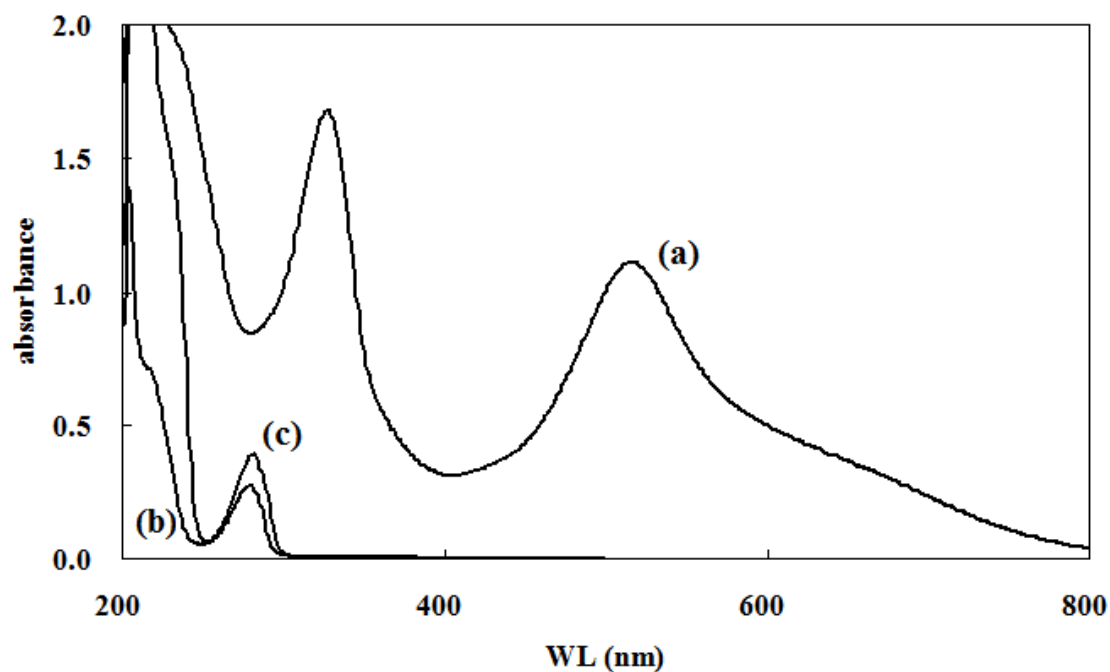
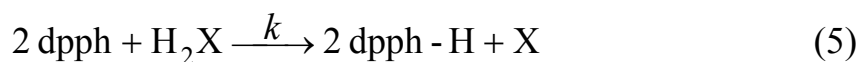


Figure 18 吸收光譜圖

- (a) [dpph] = 9.96×10^{-5} M
- (b) [pyrocatechol] = 1.00×10^{-4} M
- (c) [(+)-catechin] = 9.92×10^{-5} M

為了確認 pyrocatechol、(+)-catechin (H_2X)與 dpph 之反應計量，我們在 $\mu = 0.10$ M $[(C_4H_9)_4N]ClO_4$ ， $T = 25^\circ C$ ， CH_3OH/H_2O 溶劑的條件下，固定 H_2X 濃度並分別以不同濃度的 dpph 滴定。Fig. 19 為 dpph 在 $\lambda = 515$ nm 吸收對 dpph/flavonoid 比之關係圖，如圖所示，當 $[dpph]/[H_2X] > 2$ 時 dpph 吸收開始出現，顯示本系統中， H_2X 為雙電子還原劑，反應如 eq. (5) 所示。



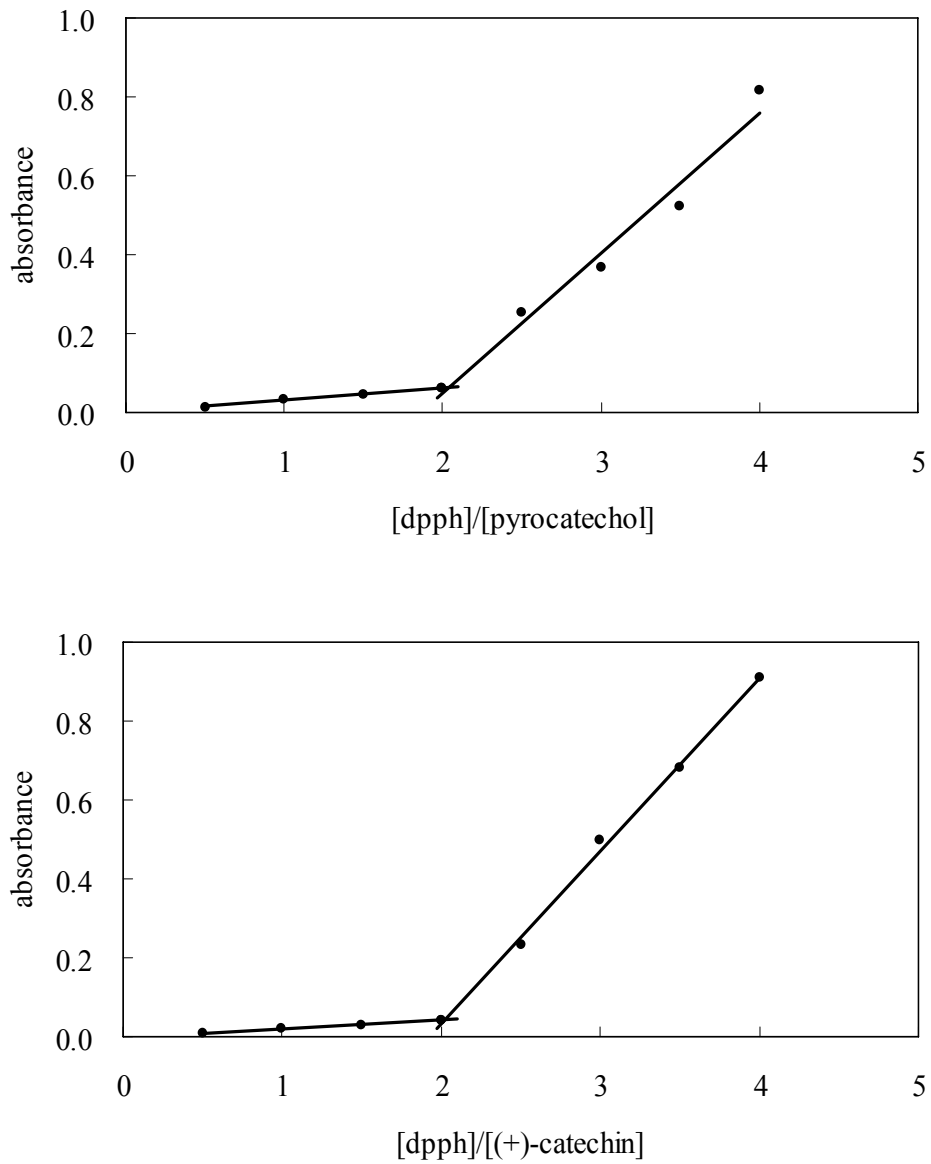


Figure 19 flavonoid 與 dpph 之反應計量圖^a

a. [flavonoid] = 5×10^{-5} M, pH = 5.50, CH₃OH : H₂O = 6 : 4, λ_{\max} = 515 nm

2 dpsh 還原電位

在 $T = 25^{\circ}\text{C}$ ， $\mu = 0.10\text{ M }[(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]\text{ClO}_4$ 條件下，dpsh 之循環伏安圖呈現二組可逆的單電子氧化還原波，如 Fig. 20(a)所示，所得半波電位 $E_{1/2}$ 為 0.47 V 、 0.98 V ，電化學結果顯示 CH_3OH 及 H_2O 對 dpsh 之還原電位並無太大影響。

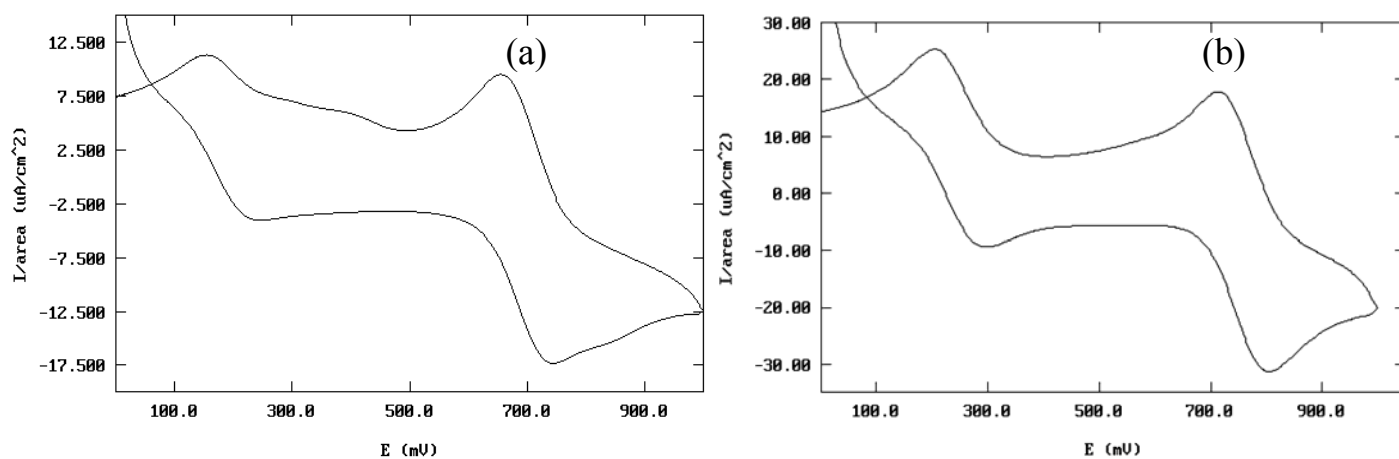


Figure 20 dpsh 循環伏安圖， $T = 25^{\circ}\text{C}$ ， $\mu = 0.10\text{ M }[(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]\text{ClO}_4$

- $[\text{dpsh}] = 5 \times 10^{-4}\text{ M}$ ， $\text{pH} = 5.50$ ， $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} = 6 : 4$
- $[\text{dpsh}] = 8 \times 10^{-4}\text{ M}$ ，pure methanol

3 反應動力學

動力學量測乃在偽一級條件下進行探討，而以類黃酮為過量([flavonoids] \geq 10[dpph])，藉模擬 dpph 之 $\lambda_{\max} = 515 \text{ nm}$ 吸收觀察反應變化，從 $\ln | -A_i + A_t |$ vs. 時間(s)的線性關係，如 Fig. 21 所示，顯示對 dpph 而言反應為一級反應，因此可以確定反應速率決定步驟為第一個電子氧化，反應速率式可以 eq. (6)、(7)表示。其中 eq. (8)中 2 為統計因子(statistical factor)，乃考慮反應為雙電子的氧化還原反應。

$$-d[\text{dpph}]/dt = 2 k_{\text{obs}} [\text{dpph}] \quad (6)$$

$$k_{\text{obs}} = k[\text{H}_2\text{X}] \quad (7)$$

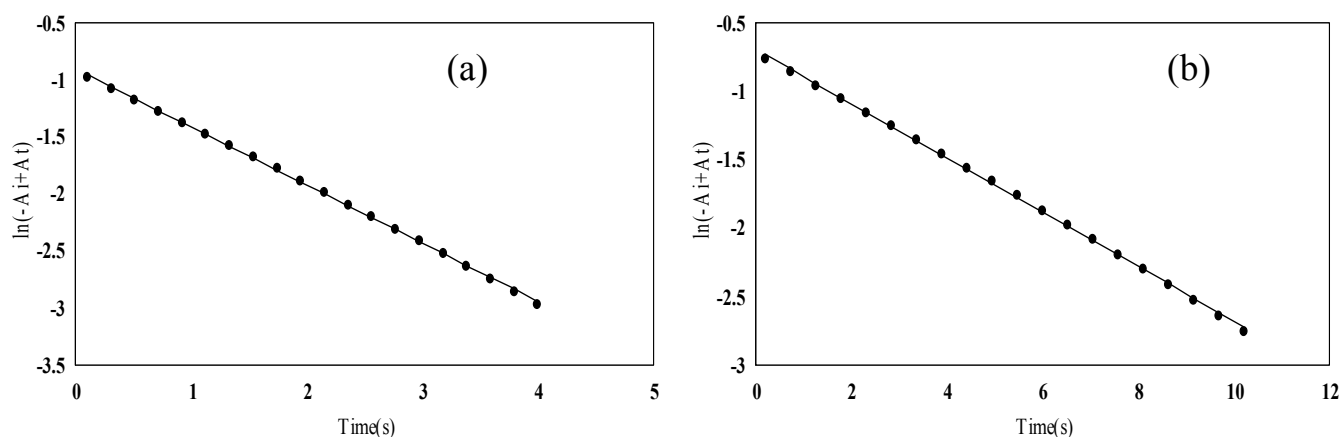


Figure 21 dpph 與 $[\text{H}_2\text{X}]$ 反應之 $\ln | -A_i + A_t |$ 對時間作圖^a

(a) $[\text{dpph}] = 5 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{pyrocatechol}] = 2 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 5.50$, $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} = 9 : 1$

(b) $[\text{dpph}] = 5 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[(+)\text{-catechin}] = 2 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 5.48$, $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} = 9 : 1$

a. $T = 25^\circ\text{C}$, $\mu = 0.10 \text{ M } [(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]\text{ClO}_4$

在 $\mu = 0.10 \text{ M}$ 條件下，不同 pH 值及 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 比例下， k_{obs} 與 $[\text{flavonoid}]$ 成線性關係且通過原點，如 Fig. 22、Fig. 23 所示。反應二級速率常數 k 可從單參數線性最小平方差法分析 k_{obs} vs. $[\text{flavonoid}]$ 圖中之斜率獲得，結果列於 Table 9。

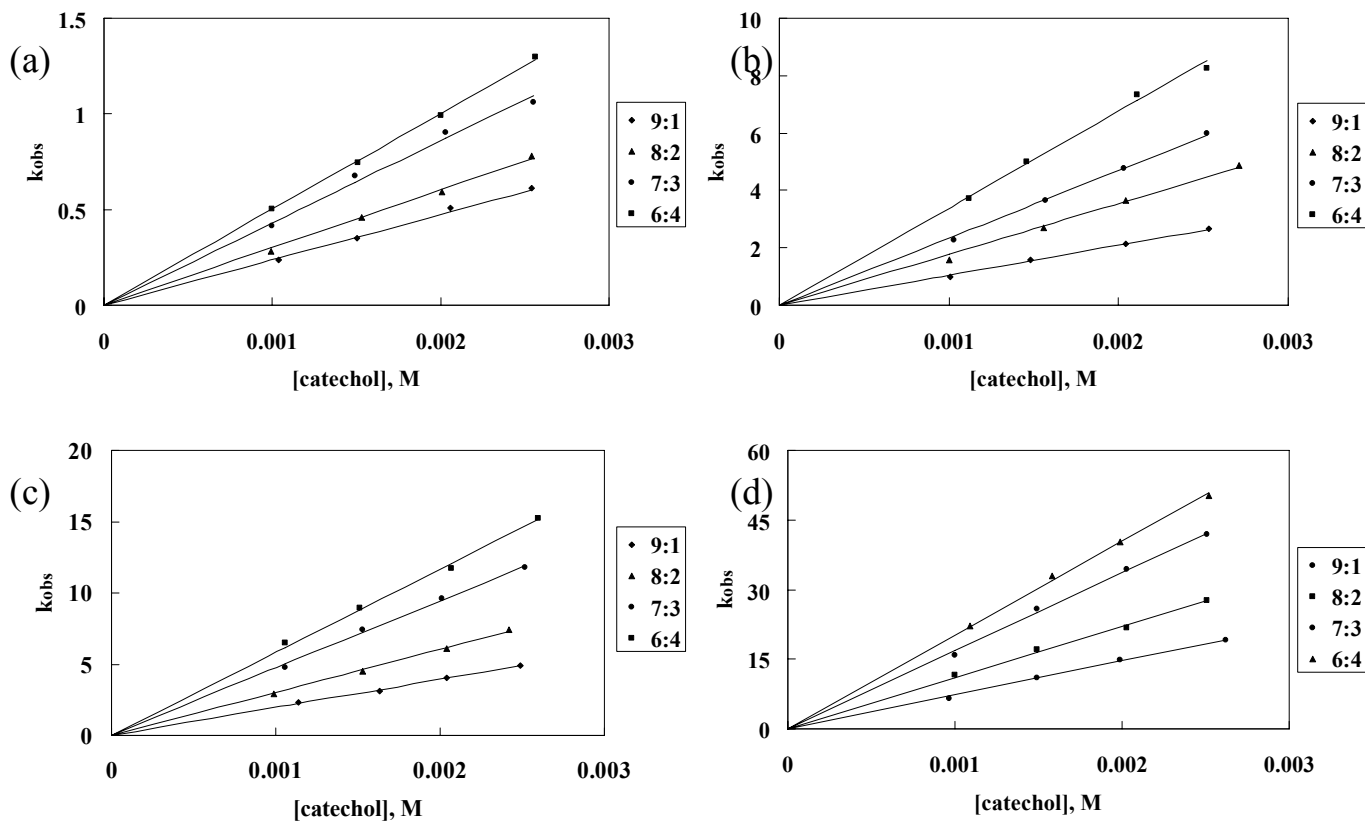


Figure 22 k_{obs} vs. $[\text{pyrocatechol}]$ plot, $\mu = 0.10 \text{ M } [(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]\text{ClO}_4$

(a) pH = 5.50 (b) pH = 6.50 (c) pH = 6.99 (d) pH = 7.52

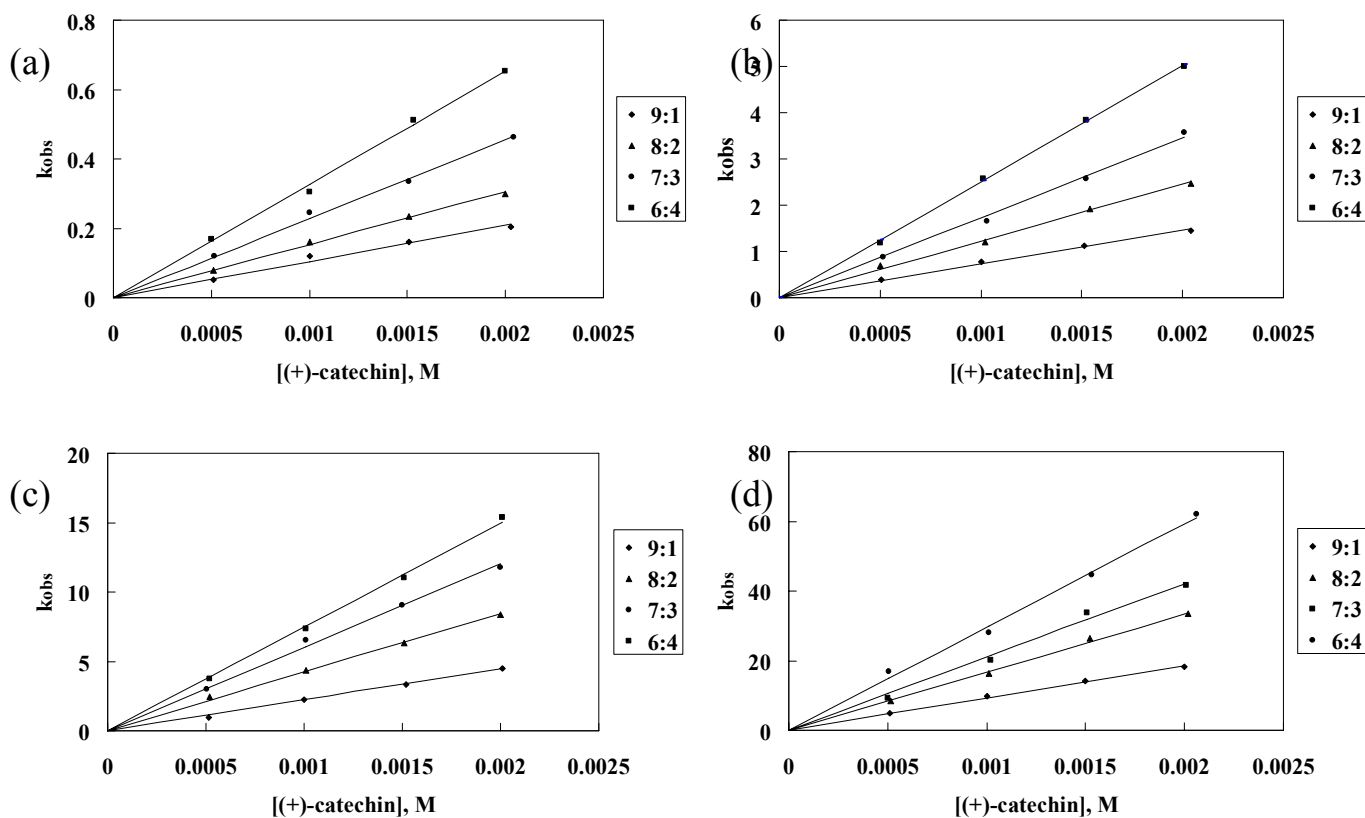


Figure 23 k_{obs} vs. [(+)-catechin] plot, $\mu = 0.10 \text{ M } [(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]\text{ClO}_4$

(a) pH = 5.48 (b) pH = 6.48 (c) pH = 7.01 (d) pH = 7.48

Table 9 不同 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 比之 k 值

pH	$\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ ratio	$k \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$		pH	$\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ ratio	$k \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$	
		catechol	catechin			catechol	catechin
5.5	9 : 1	2.40×10^2	1.05×10^2	6.5	9 : 1	1.05×10^3	7.32×10^2
	8 : 2	3.01×10^2	1.53×10^2		8 : 2	1.77×10^3	1.23×10^3
	7 : 3	4.30×10^2	2.28×10^2		7 : 3	2.35×10^3	1.73×10^3
	6 : 4	5.01×10^2	3.26×10^2		6 : 4	3.38×10^3	2.51×10^3
7.0	9 : 1	1.97×10^3	2.22×10^3	7.5	9 : 1	7.31×10^3	9.32×10^3
	8 : 2	3.01×10^3	4.23×10^3		8 : 2	1.10×10^4	1.67×10^4
	7 : 3	4.72×10^3	6.01×10^3		7 : 3	1.68×10^4	2.10×10^4
	6 : 4	5.83×10^3	7.48×10^3		6 : 4	2.02×10^4	2.74×10^4

a. $\mu = 0.10 \text{ M } [(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]\text{ClO}_4$, $T = 25^\circ\text{C}$

k 值與 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 混合溶劑之 H_2O 百分比含量成良好線性關係，如 Fig. 22 所示，利用線性最小平方差分析線性圖得斜率及截距，結果列於 Table 10，所得截距值即為該 pH 值條件下，在甲醇溶劑中之反應速率常數，再利用所得斜率及截距可求得純水中 dpph 與 flavonoid 之反應速率常數 $k_{\text{H}_2\text{O}}$ ，結果列於 Table 11。

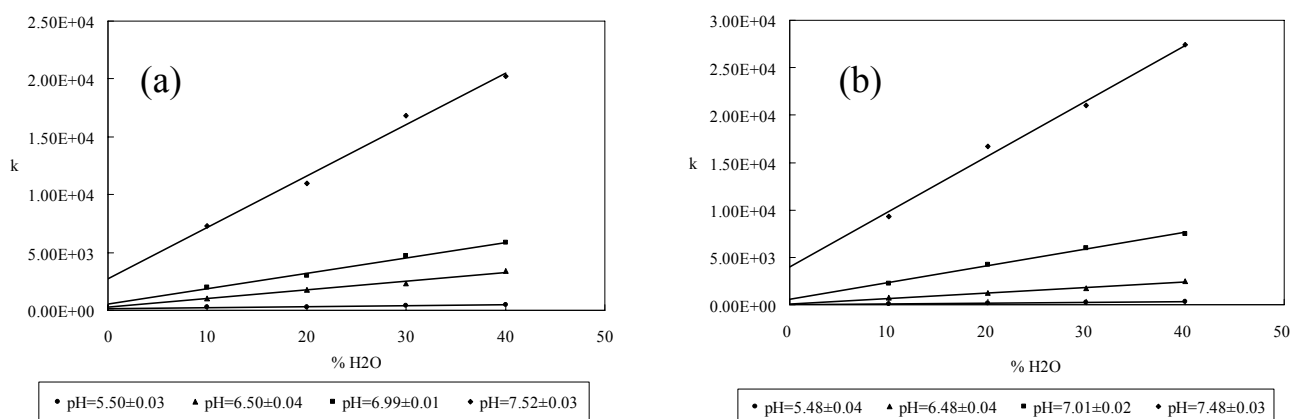


Figure 24 k vs. % H_2O plot
(a) pyrocatechol (b) (+)-catechin

Table 10 不同 pH 值之斜率(slope)與截距(intercept)^a

H_2X	pH	slope ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	intercept, $k_{\text{CH}_3\text{OH}}$ ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)
pyrocatechol	5.50	9.12	1.40×10^2
	6.49	7.57×10^1	2.45×10^2
	6.99	1.33×10^2	5.60×10^2
	7.52	4.45×10^2	2.71×10^3
(+) -catechin	5.48	7.38	1.85×10^1
	6.48	5.83×10^1	9.20×10^1
	6.97	1.76×10^2	5.95×10^2
	7.49	5.84×10^2	3.99×10^3

a. $\mu = 0.10 \text{ M}[(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]\text{ClO}_4$, $T = 25^\circ\text{C}$

Table 11 水溶液中之 $k_{\text{H}_2\text{O}}$ ^a

H_2X	pH	$k_{\text{H}_2\text{O}}$ ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)
pyrocatechol	5.50	1.05×10^3
	6.49	7.59×10^3
	6.99	1.39×10^4
	7.52	4.72×10^4
(+) -catechin	5.48	7.57×10^2
	6.48	5.92×10^3
	6.97	1.82×10^4
	7.49	6.24×10^4

a. $\mu = 0.10 \text{ M}[(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]\text{ClO}_4$, $T = 25^\circ\text{C}$

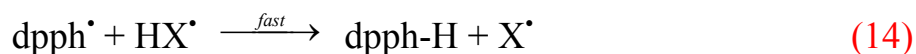
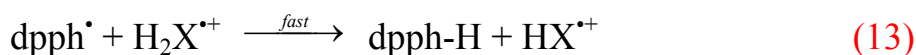
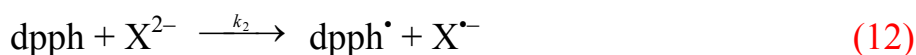
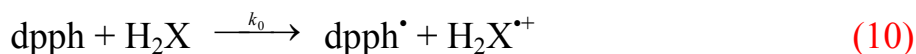
Table 12 為 flavonoids 在水溶液中的二級反應速率常數，經比較 $k_{\text{CH}_3\text{OH}}$ 及 $k_{\text{H}_2\text{O}}$ 後可發現，flavonoids 在水溶液中的反應速率常數均比甲醇溶液中多出一次冪，顯示 flavonoids 在水中具有較甲醇更好的反應活性。

Table 12 flavonoid 之 $k_{\text{H}_2\text{O}} / k_{\text{CH}_3\text{OH}}$ ^a

flavonoid	pH	$k_{\text{H}_2\text{O}}$ ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	$k_{\text{H}_2\text{O}} / k_{\text{CH}_3\text{OH}}$
pyrocatechol	5.5	1.05×10^3	7.50
	6.5	7.59×10^3	30.98
	7.0	1.39×10^4	24.82
	7.5	4.72×10^4	17.42
(+) -catechin	5.5	7.57×10^2	40.92
	6.5	5.92×10^3	64.35
	7.0	1.82×10^4	30.59
	7.5	6.24×10^4	15.64

a. $\mu = 0.10 \text{ M}[(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}]\text{ClO}_4$, $T = 25^\circ\text{C}$

根據反應計量及動力學結果，dpph – flavonoid 的反應機構應可以 eq. (8)~(14) 表示 [12]。



根據此反應機構， $k_{\text{H}_2\text{O}}$ 值可以 eq. (15) 表示

$$k = \frac{k_0[\text{H}^+]^2 + k_1K_{a1}[\text{H}^+] + k_2K_{a1}K_{a2}}{[\text{H}^+]^2 + K_{a1}[\text{H}^+] + K_{a1}K_{a2}} \quad (15)$$

其中， H_2X 之 $\text{p}K_{a1}$ 、 $\text{p}K_{a2}$ 值分別為 9.23，13.05 (pyrocatechol) [13] 及 8.79，13.25 ((+)-catechin) [14]。

在本實驗的 pH 範圍內，由於 $[\text{H}^+] \gg K_{a1}$ 、 K_{a2} ，因此 eq. (15) 可簡化為 eq. (16)。

$$k = \frac{k_0[\text{H}^+]^2 + k_1K_{a1}[\text{H}^+] + k_2K_{a1}K_{a2}}{[\text{H}^+]^2} \quad (16)$$

我們發現 $k_{\text{H}_2\text{O}}$ 對 $1/[\text{H}^+]$ 作圖可得到良好線性關係且通過原點，如 Fig. 25 所示，顯示在此條件下 $k_1\text{Ka}_1[\text{H}^+] \gg k_0[\text{H}^+]^2 + k_2\text{Ka}_1\text{Ka}_2$ ，因此 eq. (16) 可再簡化為 eq. (17)，利用單參數線性最小平方差分析 $k_{\text{H}_2\text{O}}$ vs. $1/[\text{H}^+]$ ，從斜率我們可求得 k_1 值，分別為 $(2.5 \pm 0.1) \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (pyrocatechol) 及 $(1.24 \pm 0.04) \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ((+)-catechin)。

$$k = \frac{k_1\text{Ka}_1}{[\text{H}^+]} \quad (17)$$

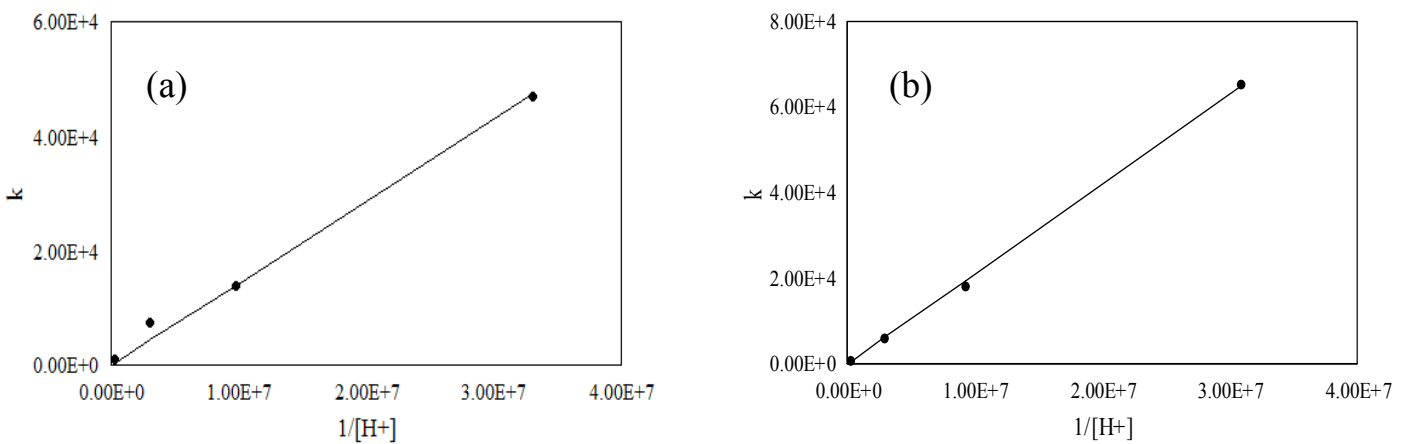
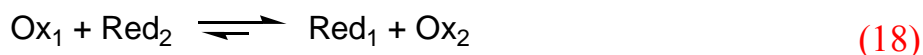


Figure 25 $k_{\text{H}_2\text{O}}$ vs. $1/[\text{H}^+]$ plot
 (a) pyrocatechol (b) (+)-catechin

4 Marcus 理論

dpph 與 flavonoid 的反應屬於外圈電子轉移(outer-sphere electron transfer)，根據 Marcus 理論[13, 15]，外圈電子轉移反應機制(eq. (18))之反應速率常數可以 eqs. (18)~(23)求得。



$$k_1 = \sqrt{k_{11}k_{22}K_{12}f_{12}}W_{12} \quad (19)$$

$$\ln f_{12} = \frac{[\ln K_{12} + (w_{12} - w_{21})/RT]^2}{4[\ln(k_{11}k_{22}/10^{22}) + (w_{11} + w_{22})/RT]} \quad (20)$$

$$W_{12} = \exp[-(w_{12} + w_{21} - w_{11} - w_{22})/2RT] \quad (21)$$

$$w_{ij} = \frac{z_i z_j e^2}{D_s a_{ij} (1 + \beta a_{ij} \sqrt{\mu})} \quad (22)$$

$$\beta = \left(\frac{8N\pi e^2}{1000D_s k_B T} \right)^{1/2} \quad (23)$$

其中， k_{11} 及 k_{22} 分別為氧化劑及還原劑之自身電子轉移(self-exchange)速率常數， W_{12} 為 work term， K_{12} 為反應平衡常數， a_{ij} 為反應物的原子核間最近距離(closest approach distance)，為反應物的半徑和。 z_i, z_j 為反應物及生成物的電荷數， e 為電子的電荷， μ 為離子強度， N 為亞佛加厥常數， D_s 則為溶劑的介電常數， k_B 為波茲曼常數(Boltzman constant)。

flavonoid 與 dpph 的半徑、電位以及 flavonoid 的自身電子轉移速率常數均列於 Table 9。

Table 9 dpph 與 flavonoid 之半徑、電位及自身氧化還原速率

compound		r (Å)	E (V)	k_{22}
dpph		6.3 ^a	0.47	
pyrocatechol ^b	(HX'/HX ⁻)	3.4	0.52	1.2×10^9
	(X ⁻ /X ²⁻)		0.043	3.4×10^{10}
(+)catechin ^b	(HX'/HX ⁻)	4.2	0.59	1.6×10^{10}
	(X ⁻ /X ²⁻)		0.079	2.8×10^{11}

a. measure by Insight II molecular modeling application

b. ref. 17

Eq. (13)之反應平衡常數 K_{eq} 可藉由 flavonoid 及 dpph 的電位，根據 Nerst 方程式(eq. (26))求得。

$$\Delta E = E_{1/2}^{Ox} - E_{1/2}^{red} = 0.0591 \times \log K_{eq} \quad (25 \text{ } ^\circ\text{C}) \quad (24)$$

從反應平衡常數及 flavonoid 之自身氧化還原反應速率常數，利用 eq. (19)~(23) 可求得 dpph 之自身電子轉移速率常數(k_{11})，可得 $k_{11} = 3.63 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (pyrocatechol)， $k_{11} = 1.43 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ((+)-catechin)，經由二者平均即可求得 dpph 之自身電子轉移速率常數 $k_{11} = (2.5 \pm 0.9) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 。

Reference

1. J. L. Svirbely, A. Szent-Györgyi, *Biochem. J.* 27 (1933) 279.
2. J. P. Cornard, J. C. Merlin, *J. Inorg. Biochem.* 92 (2002) 19.
3. H. Lian, Y. Kang, S. Bi, Y. Arkin, D. Shao, D. Li, Y. Cheu, L. Dai, N. Gan, L. Tian, *Talanta* 62 (2004) 43.
4. J. L. Witztum, D. J. Steinberg, *J. Clin. Invest.* 88 (1991) 1785.
5. H. Deng, G. J. Van Berkel, *J. Mass. Spectrom.* 33 (1998) 1050.
6. N. Binbuga, W. P. Henry, T. P. Schultz, *Polyhedron*, 26 (2007) 6.
7. M. J. Ahmed, J. Hossan, *Talanta* 11 (1995) 35.
8. D. J. Tannor, B. Marten, R. Murphy, R. A. Friesner, D. Sitkoff, A. Nicholls, M. Ringnalda, W. A. Goddard III, B. Honig, *J. Am. Chem. Soc.* 116 (1994) 11875.
9. B. Marten, K. Kim, C. Cortis, R. A. Friesner, R. B. Murphy, M. N. Ringnalda, D. Sitkoff, B. Honig, *J. Phys. Chem.* 100 (1996) 11775.
10. H. Leopoldini, N. Russo, S. Chiodo, M. Toscano, *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 6343.
11. 宋杰, 東海大學化學系, 2009 博士論文.
12. 黃凱聲, 東海大學化學系, 2008 碩士論文.
13. M. J. Akhtar, A. Haim, *Inorg. Chem.* 27 (1988) 1608.
14. J. Sung, K. S. Huang, T. J. Lai, Y. Y. Chen, C. Y. Lin, A. Yeh, and D. Wu, *Inorg. Chem.* 47 (2008) 11361.
15. D. H. Macartney, N. Sutin, *Inorg. Chem. Acta* 74 (1983) 221.