

謝誌

本論文承蒙恩師 葉玉堂博士不厭其煩的悉心指導，在論文撰寫期間耐心評閱及指正，使本文得以順利完成。學習期間，恩師在研究態度、治學態度及為人處世的教導與啟發上，使學生獲益良多，師恩浩瀚，永銘方寸，特於卷首致衷心之謝意。

文稿初成，承蒙中興大學高漢謀博士、林助傑博士、陳繼添博士及輔仁大學陳元璋博士，於百忙中撥冗審閱，並於論文寫作、觀念及實驗設計上給予寶貴的意見及指正，使論文更臻完善；並承蒙系上 黃承文教授經費的贊助，得以無後顧之憂使實驗順利進行；另感謝修業期間梁碧峰教授及賴英煌教授，於專業知識之啟迪，使學生開擴視野而收穫豐碩，謹此獻上誠摯的謝意。

論文研究期間，感謝律銘、函穎、冠豪及緯霖學長在實驗上的建議，系辦藍小姐、明珠助教及元琪助教在行政事務的協助；亦感謝同窗好友教程、庭伊、宥辰、曉薇、冠廷、瑞民及筱文在修課、論文研究寫作期間的一同努力與相互砥礪；另感謝學弟厚亘、校偉實驗上的協助，在此一併致謝。

最後，謹將本論文獻給摯愛的父母親及家人，因為有你們溫情的關懷與包容，給予我最大的支持與後援，使我能夠安心順利的完成學業。另感謝所有在人生旅途上觀環及幫助我的人，願以此成果及喜悅與你們分享。

摘要

漆黃素 (fisetin)、槲皮素 (quercetin) 和蘆丁 (rutin) 與 Co(phen)_3^{3+} 及 Co(edta)^- 錯合物, 在 $\text{pH} = 9-12$ 的反應屬於雙電子氧化, 最後生成 quinone 產物, 反應速率決定步驟為第一個電子氧化, 形成 semiquinone 自由基中間產物, 接著 Co(III) 錯合物再迅速將自由基氧化成 quinone 形式。反應動力學在 $\mu = 0.10 \text{ M (LiClO}_4\text{、LiCl)}$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ 條件下, 結果顯示漆黃素、槲皮素和蘆丁之 k_2 與 pK_{a2} 值分別為 $4.95 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, $\text{pK}_{a2} = 11.32$; $4.15 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, $\text{pK}_{a2} = 11.59$; $4.47 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, $\text{pK}_{a2} = 11.07$ 。漆黃素與槲皮素的反應速率比蘆丁快了 3 個 order 以上, 主要乃因 C_3 上的氫氧基已去質子化, 造成 pyrone 環與 catechol 環之間共軛效應所影響。

Abstract

The oxidations of fisetin, quercetin and rutin by $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ and $\text{Co}(\text{edta})^-$ complexes at $\text{pH} = 9 - 12$ underwent two electron process with the formation of quinone as final products. The rate determining step of the reaction is the first electron oxidation which forms semiquinone radical as intermediate, followed by the further oxidation of this intermediate by another $\text{Co}(\text{III})$ at a fast rate to form the product. The kinetic results at $\mu = 0.10 \text{ M}$ (LiClO_4 or LiCl) and $T = 25^\circ\text{C}$ yielded values of k_2 and pK_{a2} for fisetin, quercetin and rutin as $4.95 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, $\text{pK}_{a2} = 11.32$; $4.15 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, $\text{pK}_{a2} = 11.59$ and $4.47 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, $\text{pK}_{a2} = 11.07$ respectively. The rate constants k_2 for the oxidations of fisetin and quercetin by both $\text{Co}(\text{III})$ complexes are greater than the oxidation of rutin by more than 3 orders of magnitude. The high reactivity of the oxidation of fisetin and quercetin arises from the deprotonation of the C_3 -phenol and the conjugation between catechol ring and C_2 - C_3 double bond.

總目錄

中文摘要.....	I
英文摘要.....	II
總目錄.....	III
圖目錄.....	V
表目錄.....	VIII
第一章、序論	1
第二章、實驗	13
1.1 藥品	13
1.2 溶液配製	15
1.3 除氧系統	17
1.4 合成	20
1.5 分析儀器及方法	25
1. 微量秤重測量	25
2. 酸鹼度測量	25
3. 吸收光譜分析測量	25
4. 元素分析	25
5. 手套箱	26

6. 動力學測量	27
第三章、結果	29
3.1 吸收光譜	29
3.2 化學計量	29
3.3 反應動力學	31
1. $\text{Co}(\text{edta})^-$ — fisetin , pH = 10.03 — 11.86	43
(a) pH = 10.67 - 11.22	43
2. $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ — fisetin , pH = 9.37 — 12.00	46
(a) pH = 9.78 — 10.61	46
(b) pH = 10.95 — 11.70	46
3. $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ — quercetin , pH = 9.07 — 12.00	50
(a) pH = 9.85 — 10.80	50
(b) pH = 11.23 — 11.70	50
4. $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ — rutin , pH = 10.25 — 12.11	53
(a) pH = 10.25 — 12.11	53
5. $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)^{4+}$ — fisetin , $[\text{H}^+] = 0.02$ — 0.10 M	55
(a) $[\text{H}^+] = 0.02$ — 0.10 M	55
第四章、討論	57
第五章、結論	64
第六章、參考文獻	65
附錄一	68

圖目錄

Figure 1. Eriodictyol 之結構	4
Figure 2. 類黃酮的基本結構	5
Figure 3. 類黃酮衍生物之結構	6
Figure 4. 隔氧處理系統示意圖	18
Figure 5. 注射器轉移錯合物溶液裝置	19
Figure 6. 李可瓶 (Zwickel flask) 示意圖	19
Figure 7. 真空手套箱	26
Figure 8. Co(phen)_3^{3+} 還原反應圖	28
Figure 9. fisetin 還原 Co(phen)_3^{3+} 錯合物之化學計量圖	31
Figure 10. fisetin – Co(phen)_3^{3+} 反應物之 $\ln A_\infty - A_t $ 對時間 (s) 作圖	32
Figure 11. pH 10.03 - 11.86, fisetin 氧化反應之 k_{obs} vs. $[\text{Co(edta)}]^-$ 錯合物作圖	35
Figure 12. pH 10.25 - 12.11, rutin 氧化反應之 k_{obs} vs. $[\text{Co(phen)}_3]^{3+}$ 錯合物作圖	36
Figure 13. $[\text{H}^+] = 0.02 - 0.10 \text{ M}$, $\text{Ru(NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)^{4+}$ 錯合物還原反應 之 k_{obs} vs. $[\text{fisetin}]$ 作圖	36

Figure 14. pH 10.95 - 11.70 , fisetin 氧化反應之 (a) k_{obs} vs. $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ (b) $1/k_{\text{obs}}$ vs. $1/[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 錯合物作圖	37
Figure 15. pH 11.23 - 11.70 , quercetin 氧化反應之 (a) k_{obs} vs. $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ (b) $1/k_{\text{obs}}$ vs. $1/[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ 錯合物作圖	38
Figure 16. pH 10.67 - 11.22 , $\text{Co}(\text{edta})^-$ 錯合物與 fisetin 反應之 (a) k vs. $[\text{H}^+]$ 作圖 (b) $1/k$ vs. $[\text{H}^+]$ 作圖	45
Figure 17. pH 9.78 - 10.61 , $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物與 fisetin 反應之 (a) k vs. $[\text{H}^+]$ 作圖 (b) k vs. $1/[\text{H}^+]$ 作圖	48
Figure 18. pH 10.95 - 11.70 , $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物與 fisetin 反應之 (a) k vs. $[\text{H}^+]$ 作圖 (b) $1/k$ vs. $[\text{H}^+]$ 作圖	49
Figure 19. pH 9.85 - 10.80 , $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物與 quercetin 反之 (a) k vs. $[\text{H}^+]$ 作圖 (b) k vs. $1/[\text{H}^+]$ 作圖	51
Figure 20. pH 11.23 - 11.70 , $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物與 quercetin 反之 (a) k vs. $[\text{H}^+]$ 作圖 (b) $1/k$ vs. $[\text{H}^+]$ 作圖	52
Figure 21. pH 10.25 - 12.11 , $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物與 rutin 反之 (a) k vs. $[\text{H}^+]$ 作圖 (b) $1/k$ vs. $[\text{H}^+]$ 作圖	54
Figure 22. $[\text{H}^+] = 0.02 - 0.10 \text{ M}$, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)^{4+}$ 錯合物與 fisetin 反應之 (a) k vs. $[\text{H}^+]$ 作圖 (b) k vs. $1/[\text{H}^+]$ 作圖	56

Figure 23. (a) fisetin 在絕氧狀態 (b) fisetin 與 O₂ 氧化圖
(c) 最後 fisetin 氧化後狀態.....61

Figure 24. fisetin 與 Co(edta)⁻ 錯合物氧化圖.....61

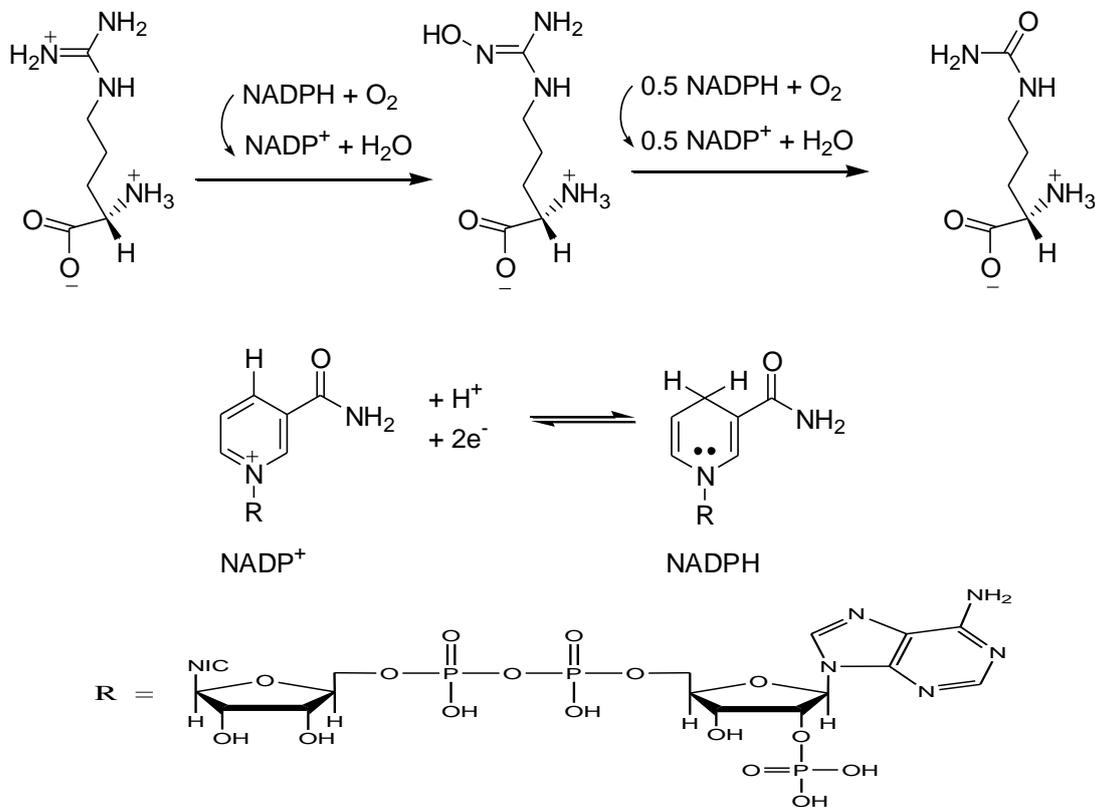
表目錄

Table 1. Uv-vis 光譜.....	30
Table 2. pH = 10.03-11.86 , Co(edta) ⁻ 錯合物與 fisetin 還原反應 之速率常數 k.....	39
Table 3. pH = 9.37-12.00 , Co(phen) ₃ ³⁺ 錯合物與 fisetin 還原反應 之速率常數 k _{et} , Q _{IP} , 及 k.....	40
Table 4. pH = 9.07-12.00 , Co(phen) ₃ ³⁺ 錯合物與 quercetin 還原反應之 速率常數 k _{et} , Q _{IP} , 及 k.....	41
Table 5. pH = 10.25-12.11 , Co(phen) ₃ ³⁺ 錯合物與 rutin 還原反應 之速率常數 k.....	42
Table 6. [H ⁺] = 0.02 – 0.10 M , Ru(NH ₃) ₅ (pzCH ₃) ⁴⁺ 錯合物與 fisetin 還原反應之速率常數 k.....	42
Table 7. Co(phen) ₃ ³⁺ 、Co(edta) ⁻ 錯合物之還原反應速率常數.....	62
Table 8. Ru(NH ₃) ₅ (pzCH ₃) ⁴⁺ 錯合物之還原反應速率常數.....	62
Table A 1. pH = 10.03-11.86 , Co(edta) ⁻ 錯合物與 fisetin 氧化反應 之 k _{obs}	69
Table A 2. pH = 9.37-10.76 , Co(phen) ₃ ³⁺ 錯合物與 fisetin 氧化反應 之 k _{obs}	71

Table A 3. pH = 10.80-12.00 , Co(phen)_3^{3+} 錯合物與 fisetin 氧化反應 之 k_{obs}	72
Table A 4. pH = 9.07-10.80 , Co(phen)_3^{3+} 錯合物與 quercetin 氧化反應 之 k_{obs}	73
Table A 5. pH = 11.10-12.00 , Co(phen)_3^{3+} 錯合物與 quercetin 氧化 反應之 k_{obs}	74
Table A 6. pH = 11.10-12.00 , Co(phen)_3^{3+} 錯合物與 quercetin 氧化 反應之 k_{obs}	75
Table A 7. $[\text{H}^+] = 0.02 - 0.10 \text{ M}$, $\text{Ru(NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)^{4+}$ 錯合物與 fisetin 還原反應之 k_{obs}	75

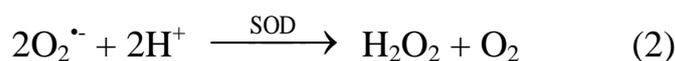
第一章、序論

自由基 (free radicals) 指具有不成對的原子、離子或分子，為了達到穩定的成對電子，通常自由基反應活性相當活潑，且不同自由基有不同的活躍性。人體內存在非常多的自由基，有些是人體所需要的，但大部分卻是有害的，主要來源有三方面：生物合成 (biosynthesis)、代謝產物 (metabolism) 及環境污染因素。生物合成的自由基是根據人體需求，經由體內胺基酸合成，例如一氧化氮為神經及心血管系統訊息傳遞分子。人體內的一氧化氮是由 NADPH 與 L-精胺酸 (arginine) 反應，以 NOS (nitric oxide synthases) 酵素催化而產生，如 Scheme I 所示^{1,2}。NADPH (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) 為人體內輔酶的一種，在過程中 NADPH 被氧化成 NADP^{+2} 。



Scheme I

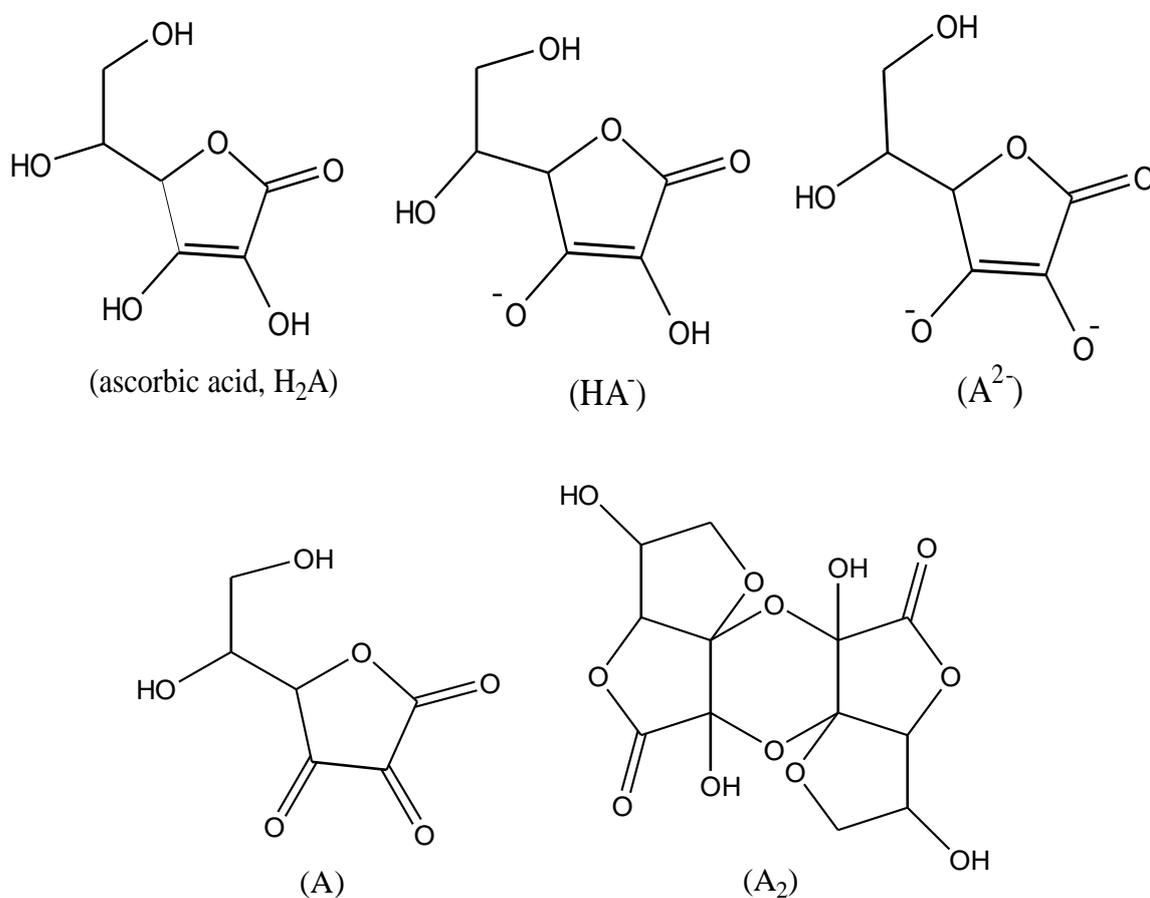
而代謝產物所生成的自由基，通常是經由食物的攝取，再由新陳代謝過程中形成，均為有害的自由基，主要自由基為超氧自由基 (superoxide radicals, $O_2^{\cdot-}$)，再經由超氧自由基反應而形成其他氧自由基如 $HO\cdot$ 、 $NO\cdot$ 及 $ROO\cdot$ 等衍生物，超氧自由基為細胞老化、疾病甚至死亡的元兇³⁻⁷。生物體內所生成之活性氧主要是經由 eq. (1)-(3) 而形成：



eq. (1) 表示，氧分子在經過單一電子之還原反應後生成超氧自由基，主要生成於進行電子傳遞的粒線體。細胞內之粒線體主要的功能是将小分子物質如 pyruvate，經由檸檬酸循環 (citric acid cycle) 及一連串之電子傳遞轉化成能量並加以利用。而超氧自由基會導致脂質過氧化反應並破壞粒線體，通常超氧自由基生成後，可藉體內超氧歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)^{8,9} 與氫離子作用形成過氧化氫 (H_2O_2)，如 eq. (2) 所示，而過氧化氫再進一步藉由過氧化氫酶 (catalase, CAT) 將其轉變為無害的水及氧氣，如 eq. (3) 所示；當人體內的超氧歧化酶不足時，通常可藉由飲食補充，食物中的蔬菜水果便是最佳的天然抗氧化劑，可幫助消除體內氧自由基。但近年來由於科技發達，生活

逐漸富裕，飲食習慣也隨之改變，常攝取過量肉類蛋白質，導致體內的超氧自由基也隨之增加，因此除蔬果外，有時仍需額外補充抗氧化食物，於是各種維他命，如維他命 C (ascorbic acid)、維他命 E (α -tocopherol) 及胡蘿菠素 (β -carotene) 等應運而生，一般較常見的維他命 C 即具有良好的抗氧化效果。維他命 C 的結構如 Scheme II

所示：



Scheme II

在不同 pH 下，維他命 C 分別以三種型態存在， H_2A 、 HA^- 、 A^{2-} ，且皆具有抗氧化能力¹⁰，還原反應機構可以 eq.(4)-(9) 表示：



$H_2A^{\bullet+}$ 、 HA^{\bullet} 、 $A^{\bullet-}$ 會立即與體內自由基作用形成無害的 A，即使體內無自由基存在，本身也能自行偶合 (coupling) 形成 A_2 ，加上良好的水溶性，因此即使過量服用亦不會對人體造成傷害。

十六世紀末，西方海軍及船員由於長期在海上生活而引起壞血病，雖知此症狀可藉由柑橘類食物治療，但一直無法確定究竟是柑橘類中的何種成分具有此療效，直到 1933 年匈牙利的生化學家 Szent-Györgyi¹¹ 由紅椒 (paprikas) 中提煉出大量此化合物的方法，且確定其成分，並將此化合物命名為 ascorbic acid，亦為抗壞血酸，此即後來眾所皆知的維他命 C，因此被稱為「維他命 C 之父」，並於 1937 年獲得諾貝爾醫學獎。之後他發現服用合成純度 100% 的維他命 C，在治療壞血病的相關症狀（如毛細管容易破裂而造成淤血）時，效果不如柑橘類的天然食物好，而合成的維他命 C 又是從柑橘類水果和玫瑰果等植物中所萃取而得，因此

他認為柑橘類水果中一定含有其他重要成分，效果比維他命 C 好，後來果然從檸檬皮中成功分離出另一種化合物，他稱之為檸檬素 (citrin)，此化合物具有強化血管壁之功能，效果較維他命 C 好，並將其命名為「維生素 P」，即聖草酚 (Eriodictyol)¹²，其結構如 Fig. 1 所示，屬於類黃酮種類中的黃烷酮 (flavonone)。

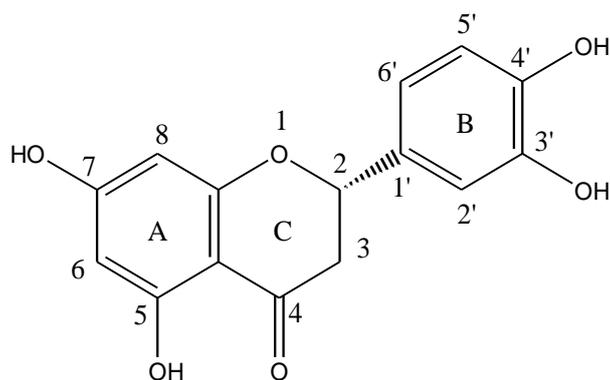


Figure 1. Eriodictyol 之結構

類黃酮其名稱源自於拉丁語之“flavus”，乃黃色之意，為存在植物表皮的一種色素，具有遮斷紫外線的功能。1983 年 Waiter de Gruyter 將類黃酮物質定義為「自然界中一群含有苯基之有色物質」，屬於多酚化合物 (polyphenols)，僅存在於植物體內，含量僅次於纖維素、半纖維素和木質素，分布於植物的皮、根、葉和果中。許多醫學臨床研究發現，類黃酮具有多重醫藥功能，例如：抗過敏、抗發炎、抗老化、防癌、促進新陳代謝及提高免疫力等¹³⁻¹⁸。

類黃酮的基本結構由三個環所組成，分別為 A 環 (resorcinol)、B 環 (catechol) 及 C 環 (pyrone，含氧雜環)，為 C₆-C₃-C₆ 之型式，其結構如 Fig. 2 所示：

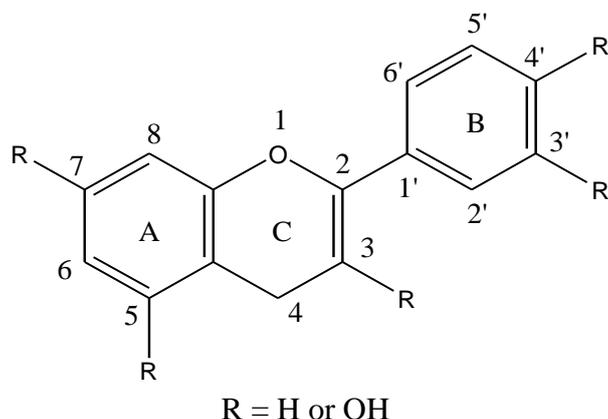


Figure 2. 類黃酮的基本結構

由於每個環之碳上均可接上羥基、甲基及醣基等官能基，使得 C 環上的變化眾多，例如在 C-3 的位置可接 phenyl 官能基，C-2 與 C-3 可以單鍵或雙鍵鍵結，C-3 上連接醣基、C-4 上的酮基以及 C 環之開環形式，因此類黃酮種類十分繁多。依其結構可區分為五大類：黃酮 (flavones)、黃烷醇 (flavanonols)、黃烷酮 (flavanones)、花青素 (anthocyanine) 以及異黃酮 (isoflavones)，如 Fig. 3 所示，根據結構差異及取代基的不同，目前已被鑑定出來的類黃酮數量高達 6000 多種，且數目還在持續增加中¹⁹。

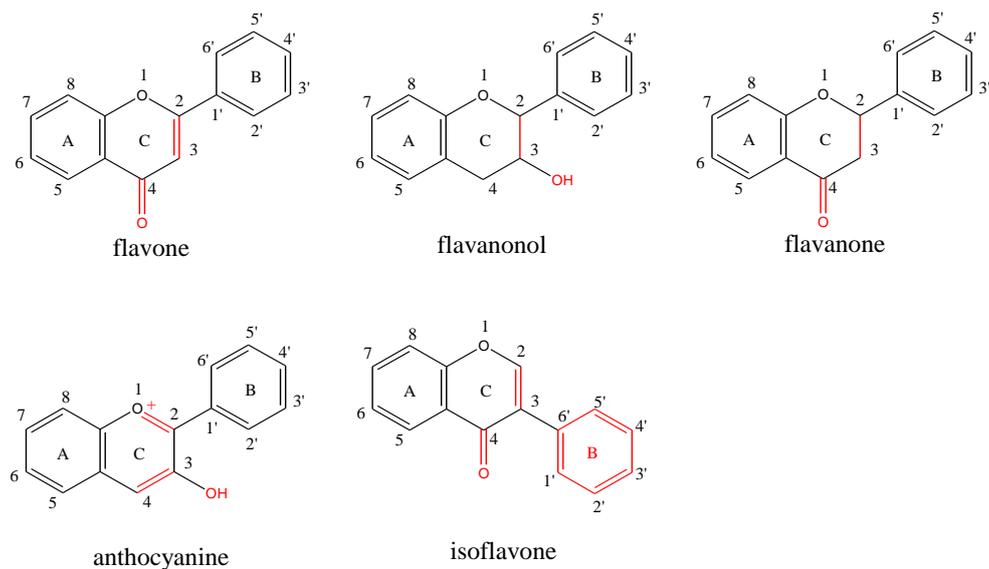


Figure 3. 類黃酮衍生物之結構

(1) 黃酮類：為類黃酮最基本的結構，具有抗氧化效果的衍生物，如：

芹素 (apigenin)、木犀草素 (luteolin)、山茶酚 (kaempferol)、芸香苷 (rutin)、槲皮素 (quercetin)、漆黃素 (Fisetin) 等等。

(2) 黃烷醇類：C 環之 C-4 位置之羰基以羥基取代，且 C-2 及 C-3

位置雙鍵變為單鍵，如：兒茶素 (catechin)、表兒茶素 (epicatechin)、表沒食子兒茶素沒食子酸 (epigallocatechin gallate)、表沒食子兒茶素 (epigallocatechin)、表兒茶素沒食子酸 (epicatechin gallate) 等等。

(3) 黃烷酮類：C 環之 C-2 及 C-3 位置為單鍵，具有抗氧化效果的

衍生物，如：橘皮苷 (hesperidin)、taxifoline 等等。

(4)花青素類：C 環之 1、2 及 3、4 位置為雙鍵，且 C-3 位置有羥基取代，如：矢車菊色素配質 (cyanidin)、花翠配質 (delphinidin) 等等。

(5)異黃酮類：苯環不是結合於 C 環的 C-2 位置，而是 C-3 位置，如：daidzein、daidzin 等等。

類黃酮的生物及醫藥活性，主要與金屬螯合能力 (metallation) 及抗氧化性 (antioxidation) 有關，由於具有多重酚基，類黃酮可與多種金屬離子形成螯合物，而減低自由金屬離子在體內的毒性，例如槲皮素 (quercetin) 與 Al^{3+} 作用形成螯合物，可減低體內 Al^{3+} 自由離子， Al^{3+} 被懷疑在人體中會造成腦神經及骨質系統亂序，進而引起帕金森氏症 (Parkinson's disease) 及老人癡呆症 (Alzheimer's disease) 等疾病^{20,21}，而 quercetin 已被證明具有預防老人癡呆症的功能，雖然詳細機制仍不能確定，但一般都認為與 quercetin 螯合 Al^{3+} 離子形成錯合物有關。

另外， Cu^{2+} 及 Fe^{2+} 也被報導可與多種類黃酮進行螯合， Cu^{2+} 離子在人體內會引起低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 的氧化²²，由於 LDL 富含膽固醇及不飽和脂肪酸，如亞麻油酸 (linoleic acid)、花生四烯酸 (arachidonic acid) 及二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA)，容易受到活性氧物質 (reactive oxygen species, ROS) 及金屬離子的催化而氧化，形成氧化態的 LDL，巨噬

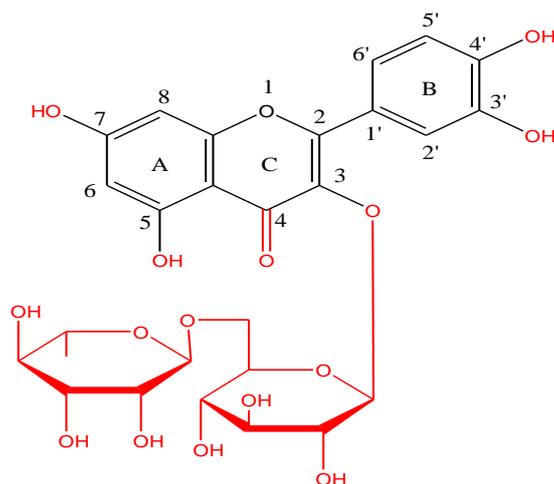
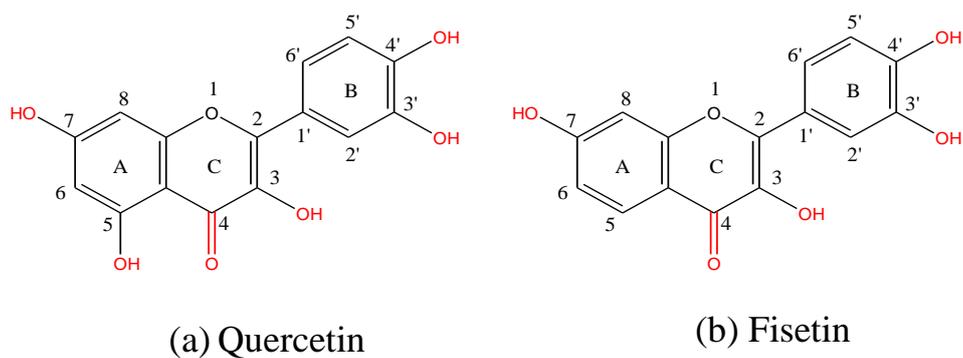
細胞會將氧化態的 LDL 吞噬，但又無法將其分解，因而形成泡沫細胞 (foam cell)²³，堆積在動脈壁上形成脂質斑塊，使血管內皮細胞受損，而受損的內皮細胞會促進平滑細胞的增生以及膠原蛋白的堆積，進而阻礙血流造成血栓，導致動脈硬化及心肌梗塞的發生，因此 LDL 的氧化目前被認為是導致心血管及腦血管疾病的主因之一²⁴，而類黃酮與 Cu^{2+} 形成之錯合物則可預防，甚至阻止 Cu^{2+} 對 LDL 的氧化，進而防止所引起的各類疾病。另外，體內 Fe^{2+} 自由離子與代謝過程中所產生的過氧化氫會進行 Fenton Reaction，而形成氫氧自由基 ($\text{OH}\cdot$)，如 eq. (10) 所示，乃因為 H_2O_2 雖然不具有未成對電子，不至於立刻與生物分子作用，但它會通過細胞膜，若與游離的 Fe^{2+} 離子結合時會產生羥基自由基，為體內氫氧自由基重要來源之一^{25,26}，而 Fe^{2+} 離子與 quercetin 反應形成螯合物，可抑制 Fenton Reaction 的進行。



類黃酮的另一種重要生物特性為抗氧化性，此抗氧化能力主要亦來自類黃酮的多酚性質，能夠幫助清除體內自由基²⁷。儘管如此，有關類黃酮抗氧化能力之研究大多仍停留於醫藥功能與食品科學應用方面，對於類黃酮的抗氧化性質，特別是反應機構的探討，資料則相當缺乏，因而引起本實驗室對於此領域的興趣。本實驗室近五年開始

對類黃酮的反應有極高的興趣，特別是針對氧化還原反應，期望進一步了解類黃酮的抗氧化活性。目前已完成 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{L}^{3+}$ ($\text{L} = \text{pzCH}_3$, pz , isn)-flavonoids (catechin, rutin, pyrocatechol) 在 $\text{pH} = 1 - 7$ 的完整探討，並用 Marcus theory 分析動力學結果²⁸，我們發現 flavonoids 的 intrinsic reactivities (k_{ex}) 遠較維他命 C (ascorbic acid) 高了至少三個 order 以上。

當我們開始探討 flavonoid 的氧化還原反應時，我們主要興趣對象為 quercetin，因為 quercetin 在植物界中分布最廣，容易獲得，且生物功能性大，但因水溶性低，而在非水溶液中，過渡金屬錯合物難溶解，且不穩定，因此一直未做進一步探討，最近我們發現在鹼性溶液中 quercetin 可完全溶解²⁹，因而重新回到 quercetin 的探討，為了瞭解所得結果，我們同時探討 fisetin 及 rutin 在相同條件下的反應。



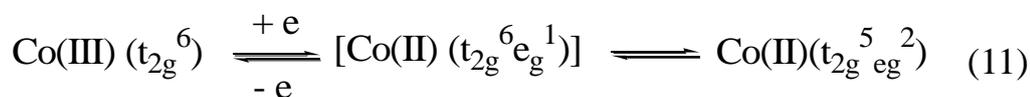
Scheme III

槲皮素 (quercetin) 在植物界中為含量最多之類黃酮分子，其結構如 Scheme III (a) 所示，在 A 環的 C_5 、 C_7 ，B 環的 $C_{3'}$ 、 $C_{4'}$ ，及 C 環的 C_3 均有 OH 官能基， C_4 則有一酮基。日常食物如蔬菜、水果、茶及多種的十字花科蔬菜等，均含槲皮素成分。近幾年之研究結果指出槲皮素有多項益於人體健康之作用，除已被證明具有預防老人癡呆症的功能，亦有抗氧化、抗過敏、抗腫瘤、抗菌及保護心血管疾病，目前有許多試驗研究已證實它對人體具保健及治療效果³⁰⁻³³。

漆黃素 (fisetin) 其結構如 Scheme III (b) 所示，在 A 環的 C₇，B 環的 C_{3'}、C_{4'}，及 C 環的 C₃ 均有 OH 官能基，C₄ 則有一酮基與 quercetin 唯一不同之處在於 A 環上 C₅ 上沒有 OH 官能基，屬於黃酮類 (flavone)。草莓中含有豐富的漆黃素，具有強抗氧化作用，有助於延緩衰老，還能促進記憶力的提高。

蘆丁 (rutin)，又稱為芸香素，其結構與 quercetin 相似，唯一不同乃 C₃ 上接一糖基 (rutinose) 而非 OH，如 Scheme III (c) 所示，rutin 屬於類黃酮糖苷化合物 (flavonol glycoside compound)，在水溶液中溶解度遠比槲皮素好。於 19 世紀首次被發現在於蕎麥中³⁴，主要存在於蕎麥、茶及蘋果果皮中³⁵，具有抗氧化、抗腫瘤及抗菌等藥理功能³⁶，也可以保護人體血小板中的脂肪過氧化作用及預防肝中毒。

在本系統中，我們分別使用 Co(edta)⁻ 及 Co(phen)₃³⁺ (phen : phenanthroline) 為氧化劑。選擇 Co(III) 錯合物主要乃 Co(III) 錯合物為 d⁶ 低自旋電子結構，為取代穩定錯合物，而 Co(II) 則為 d⁷ 高自旋電子結構，當 Co(III) 還原成 Co(II) 或 Co(II) 氧化成 Co(III)，均無法一步達成，需經 spin 改變的中間產物，如 eq. (11) 所示。



此 spin change 導致反應過程除電子轉移尚需額外能量，使得金屬中心由低自旋變為高自旋，反應活化能增加，因此牽涉 Co(III)/Co(II) 之電子轉移反應速率通常較為緩慢，可在鹼性條件下偵測 flavonoids 之反應動力學，大部分取代穩定錯合物由於活性較強，在鹼性條件下因反應過快，而無法偵測，例如 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{L}^{3+}$ 錯合物，在 $\text{pH} \geq 7$ 時，反應速率已超過 stopped-flow 時間尺度³⁷⁻⁴⁴。而我們選用 $\text{Co}(\text{edta})^-$ 及 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物，是由於此二錯合物配位為螯合物，還原成 Co(II) 時，配位乃鍵結於金屬中心上，故皆可避免在鹼性溶液中，因配位解離形成之金屬氫氧化物沉澱，例如 $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ 錯合物，在還原成 Co(II) 時，配位會迅速解離，Co(II) 立即與溶液中 OH^- 離子作用形成 $\text{Co}(\text{OH})_2$ 沉澱。我們選用 Co(III) 錯合物的另一個原因乃 Co(III) 錯合物在生物體系亦有其重要性，例如維他命 B_{12} 具有 Co(III) 金屬中心，可治療惡性貧血 (pernicious anemia)、神經系統等，而鈷-60 也普遍應用於對癌症的放射治療。

本研究中，我們將嘗試以 $\text{Co}(\text{edta})^-$ 及 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物為氧化劑分別對 quercetin、fisetin 及 rutin 在 $\text{pH} = 9-12$ 條件下，以及使用 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)^{4+}$ 錯合物為還原劑對 fisetin 在酸性條件下 ($[\text{H}^+] = 0.02 - 0.10 \text{ M}$) 探討反應動力學。

第二章、實驗

1.1 藥品

中文名稱	英文名稱	化學式	廠牌
鹽酸	Hydrochloric acid	HCl	Aldrich
甲醇	Methanol	CH ₃ OH	Merck
乙醇	Ethanol	C ₂ H ₅ OH	Merck
乙醚	Diethyl ether	C ₄ H ₁₀ O	Merck
鋅粒	Zinc granulated	Zn	Sigma
氯化汞	Mercury (II) chloride	HgCl ₂	Merck
過氯酸鋰	Lithium perchlorate trihydrate	LiClO ₄ · 3H ₂ O	Alfa
氯化鋰	Lithium chloride	LiCl	Merck
過氯酸	Perchloric acid, 70%	HClO ₄	Fluka
氯化鈷 六水化合物	Cobalt (II) chloride hexahydrate	CoCl ₂ · 6H ₂ O	Alfa Aesar
醋酸鉀	Potassium acetate	CH ₃ COOK	Fluka
乙二胺 四乙酸鈉	(Ethylenedinitrilo) tetraacetic acid disodium salt	Na ₂ C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ · 2H ₂ O	Cathay
1, 10- 二氮雜菲	1,10-Phenanthroline monohydrate, 99%	C ₁₂ H ₈ N ₂ · H ₂ O	Acros
過氧化氫	Hydrogen peroxide, 30%	H ₂ O ₂	Merck

中文名稱	英文名稱	化學式	廠牌
氯化六氨鈦	Hexaammineruthenium (III) chloride	$\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$	Strem
吡嗪	Pyrazine (pz)	$\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2$	Fluka
碘鉀烷	Methyl iodide	CH_3I	Merck
三氯甲烷	Chloroform, 99%	CHCl_3	Merck
甲苯磺酸銀	Silver(I)p-toluenesulfonate, 98%	$\text{C}_7\text{H}_7\text{AgO}_3\text{S}$	Alfa
氧化銀	Silver oxide	Ag_2O	RDH
三氟醋酸	Trifluoroacetic acid	CF_3COOH	RDH
過氯酸鈉	Sodium perchlorate	NaClO_4	Aldrich
硝酸鈾銨	Ammonium cerium(IV) nitrate, 98.5%	$\text{CeH}_8\text{N}_8\text{O}_{18}$	Sigma
槲黃素	Quercetin dihydrate, 98%	$\text{C}_{15}\text{O}_7\text{H}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	provided by professor Dacheng Wu of Sichuang University
漆黃素	3,3',4',7-Tetrahydroxyflavone, 97% (Fisetin)	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	Alfa Aesar
蘆丁	Rutin	$\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{19}$	provided by professor Dacheng Wu of Sichuang University

1.2 溶液配製

蒸餾水系統 (deionized doubly distilled water)

先將自來水經過三個活性碳濾心處理顆粒狀雜質後，直接進入 Aries 48547 逆滲透裝置，再通入 Barnstead NANO pure Diamond 去離子超純水製造系統，純化後得二次去離子水，本實驗室的合成、緩衝溶液的配製，以及所有的反應均採用二次去離子水。

鋅汞齊製備 (zinc/mercury amalgam, 簡稱 Zn/Hg)

將適量的鋅粒，以 6 M 鹽酸 (HCl) 清洗數分鐘，以去除表面氧化物，再以二度水反覆清洗鋅粒，使表面的鹽酸殘留物完全去除；加入飽和氯化汞溶液 (於 0.1 M 硫酸溶液中) 汞化，即可獲得光亮的鋅汞齊，再以二次去離子水清洗鋅汞齊的表面，以 kimwipe 拭紙擦乾，所得的鋅汞齊必須立即使用以免被空氣氧化。

亞鉻溶液的製備 (chromous solution)

將 40 克三氯化鉻 $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶於 500 mL 的 1M 過氯酸水溶液中，加入適量鋅汞齊，再持續通入氫氣直到所有的三價鉻離子完全還原成藍色二價鉻溶液為止，此時水溶液顏色由綠色轉變成藍色澄清溶液。

緩衝溶液配製 (buffer solution)

(a) pH = 9.00 - 11.00 碳酸根/碳酸氫根緩衝溶液
(carbonate-bicarbonatebuffer)

將 1.68 g 碳酸鈉溶於 50 mL 二次去離子水，以 HClO₄ 滴
定此溶液達到所需之 pH 值 (pH = 9.00 - 11.00)，再稀釋此溶液至
100 mL，即為 0.2 M 之 CO₃²⁻/HCO₃⁻ buffer。

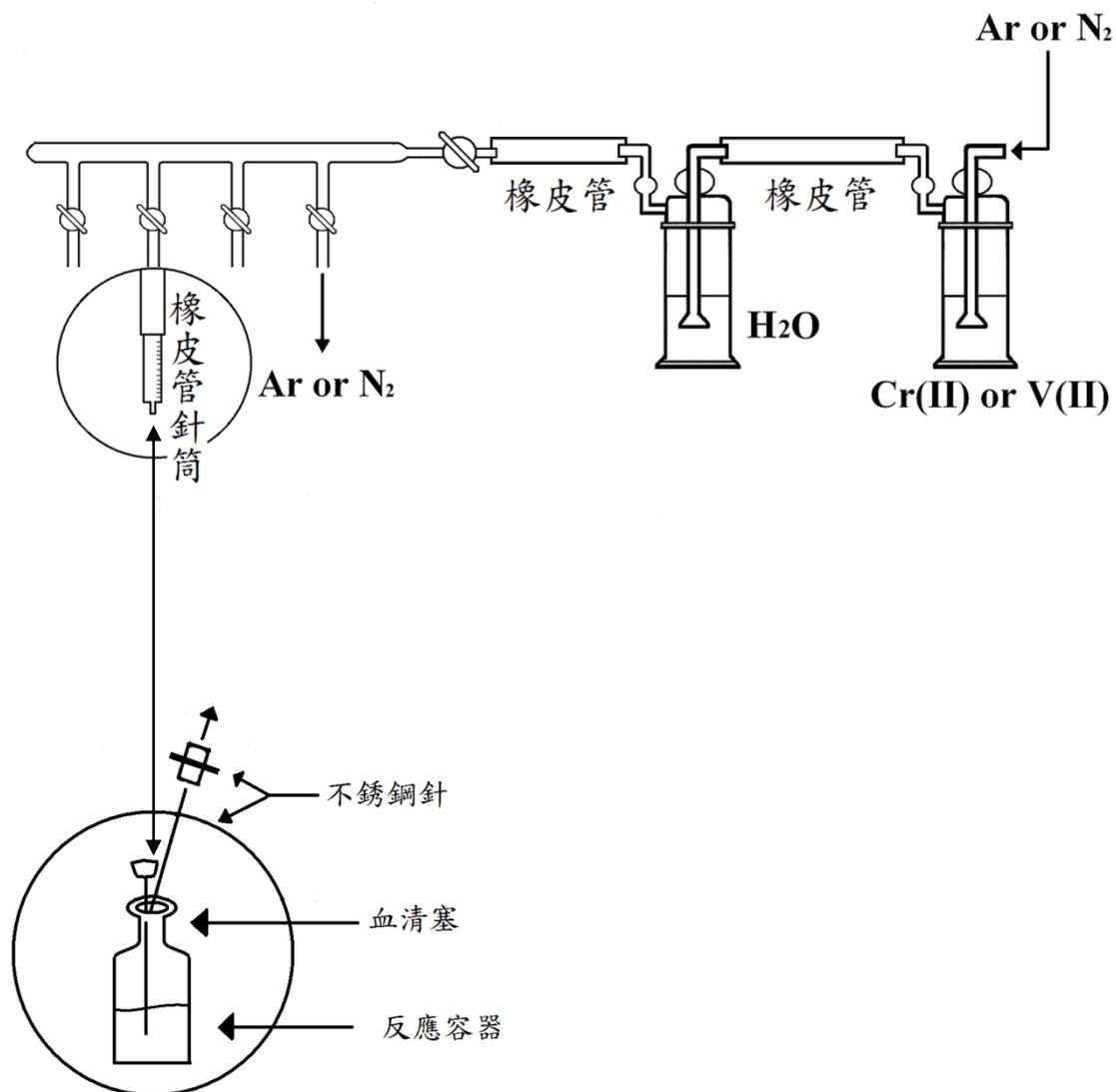
1.3 除氧系統

隔氧處理系統

所有溶液的配製與反應過程，均維持在飽和氬氣條件下或是氬氣手套箱中，以防止滲入空氣的干擾，本實驗室所使用的去氧系統如 Fig. 4 所示，鋼瓶中的氬氣，先經過含過量鋅汞齊的亞鉻溶液氣體洗滌瓶，以去除氬氣鋼瓶中少量的空氣，再經裝有二次去離子水的氣體洗滌瓶，以防止含鋅汞齊的溶液直接與空氣接觸而容易被氧化，同時平衡反應瓶內水溶液的含量，氮氣系統 (N₂-line) 與氬氣系統 (Ar-line) 的組合相同，僅以氯化亞鈮取代鉻 (II) 化合物。

處理過程以針筒及不銹鋼針連結反應溶液，先將溶液置於血清瓶內，瓶口以血清塞塞住；先插入一短鋼針遠離溶液液面，作為氬氣（或氮氣）出口以卸除瓶內壓力，再插入一長鋼針沒入溶液中，為氬氣（或氮氣）入口，通入氣體至少五分鐘，以除去溶液中的溶氧。通入氣體應避免流量過大導致溶液揮發而影響溶液體積，之後加入反應物，如 Fig. 5 所示。

Air-Sensitive Treatment (N₂-line or Ar-line)



註：Ar-line：Scrubbing towers containing

Cr (II) ion and Zn/Hg amalgam.

N₂-line：Scrubbing towers containing

VCl₂ solution and Zn/Hg amalgam.

Figure 4. 隔氧處理系統示意圖

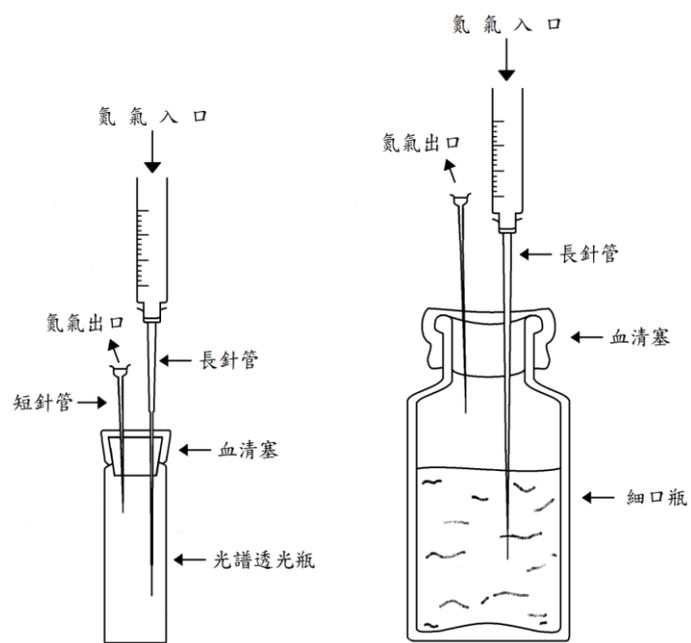


Figure 5. 注射器轉移錯合物溶液裝置

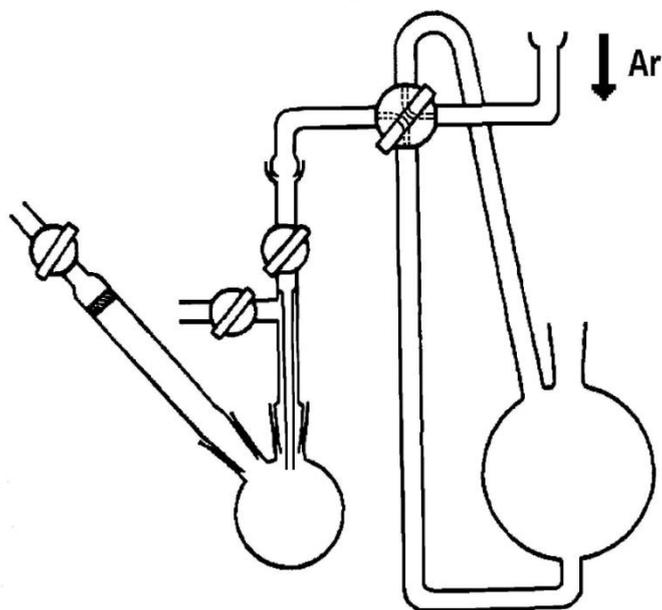


Figure 6. 李可瓶 (Zwichel flask) 示意圖

1.4 合成

1. $\text{K}[\text{Co}(\text{edta})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 之合成 (edta = ethylenediaminetetraacetato , $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$)⁴⁵

取 8.0 克 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 與 20 克 CH_3COOK 及 10 克 Na_2edta 一起溶於 60 毫升的水中加熱，並 stir 當溶液接近沸騰時，慢慢的滴入 30 毫升 3% H_2O_2 反應一小時，溶液顏色由深紅色變成紫紅色，冷卻至室溫之後，加入 90 毫升的乙醇，置於冰浴鍋冰浴 30 分鐘後，可得紫紅色結晶。利用熱水法做再結晶，將粗產物 (14.6 克) 溶於 60 毫升 (50 °C) 水中，冷卻至室溫後，冰浴 30 分鐘，將固體過濾，依序以乙醇、乙醚清洗沉澱物，再置於真空乾燥器中抽乾。產率：12 克，84.6%。

元素分析之結果

complex		C%	H%	N%
$\text{K}[\text{Co}(\text{edta})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	理論值	28.4	3.79	6.64
	實驗值	28.2	3.70	6.64

2. $\text{Co}(\text{phen})_3(\text{ClO}_4)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 之合成 (phen = phenanthroline, $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$)⁴⁶

取 0.6 克 $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$ 溶於 50 毫升熱水中 (50~60 °C)，並 stir 待完全溶解後，加入 0.24 克 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，2 毫升 30% H_2O_2 及 2 毫升 37% HCl ，此時溶液呈橙色，反應一小時後，以旋轉濃縮機將液體減少 (約剩 5 毫升)，濃縮後之液體加入 100 毫升的水及 1 毫升 72% HClO_4 ，立即有黃色沉澱產生，置於冰浴鍋冰浴 30 分鐘後，將固體過濾，依序以乙醇、乙醚清洗後減壓抽乾。將粗產物 (0.86 克) 溶於 49 毫升水及 1 毫升 30% H_2O_2 中反應一小時，固體依少量乙醇、乙醚清洗沉澱物，再置於真空乾燥器中抽乾。產率：0.76 克，81.1%。

元素分析之結果

complex		C%	H%	N%
$\text{Co}(\text{phen})_3(\text{ClO}_4)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	理論值	46.30	3.02	9.00
	實驗值	46.25	2.95	8.86

3. $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$ 之合成⁴⁷

取 5 克 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 溶於 100 毫升 6 M 鹽酸中，加熱至 110–120 °C，磁石攪拌並迴流 4 小時，移除熱源後冷卻至室溫。將橘黃色固體過濾，依序以乙醇、乙醚清洗後減壓抽乾。將粗產物溶於最少量之 60 °C 0.1 M 鹽酸中，趁熱過濾後（約 300 毫升），待濾液冷卻至室溫後再移入冰箱（24 小時），橘黃色晶體產物析出。低溫下快速將產物過濾（濾液回收），固體依序以少量 2 M 鹽酸、乙醇及乙醚清洗後減壓抽乾。再將濾液加入等體積 12 M 鹽酸後移入冰箱（24 小時），黃色固體析出（起始物回收）。產率：3.5 克，71%。

4. *N*-methylpyrazinium iodide 之合成

取 3.5 克 pyrazine (0.0433 mole) 與 5.68 克（約 2.5 毫升） CH_3I (~0.04 mole) 混合溶解後加入少量的 CHCl_3 ，在室溫下進行反應，此時溶液成橘色，反應 2-3 天候即有黃色固體沉澱產生，過濾後收集固體，並用乙醚清洗後減壓抽乾。產率：5.2 克，59%。

5. *N*-methylpyrazinium *p*-Toluenesulfonate 之合成

取 2 克 *N*-methylpyrazinium iodide 以最少的水溶解，另外取等莫耳 silver(I) *p*-toluenesulfonate，以最少的水溶解後，將溶解後的

silver(I) *p*-toluenesulfonate 逐滴加入 *N*-methylpyrazinium iodide 溶液中，以磁石攪拌混合，最後溶液成透明無色時，移除 AgI 沉澱後，以旋轉濃縮機將液體減少（約剩 5 毫升），再置入真空乾燥鍋抽乾，直到白色固體析出，最後送進手套箱真空乾燥一天。產率：2.25 克，82%。

6. 合成 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)(\text{ClO}_4)_3$ ³⁷

取 80 毫克 Ag_2O 溶於 5 毫升水中，逐滴加入三氟醋酸 (trifluoroacetic acid) 直到 Ag_2O 完全溶解，再加入 100 毫克 $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$ ，隨即出現白色沉澱，以 60 °C 水浴加熱幫助反應進行。冷卻至室溫並將 AgCl 沉澱移除，濾液置於李可瓶母瓶 (Fig. 6)，加入數顆鋅汞齊並持續通入氫氣 10 ~ 15 分鐘，將溶液以氣壓轉移至內含 300 毫克 *N*-methylpyrazinium *p*-toluenesulfonate 之子瓶（此時溶液變紫色），反應 90 分鐘。將溶液過濾，濾液加入 2 克 NaClO_4 ，持續通入氫氣並冰浴直至紫色產物析出。低溫下快速將產物過濾，固體依序以少量甲醇及乙醚清洗後減壓抽乾。產率：98 毫克，50%。

元素分析之結果

complex		C%	H%	N%
$\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)(\text{ClO}_4)_3$	理論值	10.36	3.83	16.93
	實驗值	10.62	3.90	16.44

7. 合成 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)(\text{ClO}_4)_4$ ³⁷

配製 0.5 M Ce(IV) 之 6 M 過氯酸溶液，逐滴滴入 100 毫克二價的 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)(\text{ClO}_4)_3$ 化合物，搖晃直到黃色固體沉出，快速將黃色固體過濾收集，以乙醚清洗後減壓抽乾。產率：0.08 克，33%。

元素分析之結果

complex		C%	H%	N%
$\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)(\text{ClO}_4)_4$	理論值	8.84	3.27	14.44
	實驗值	8.61	3.41	14.54

1.5 分析儀器及方法

1. 微量秤重測量

三位天平 OHAUS TS 400D

四位天平 PRECISA 125A

五位天平 METTLERA E-42C

2. 酸鹼度測量

使用 Orion 420A pH 儀，測量之前視緩衝溶液之 pH 值，分別以 pH = 1.68、4.01、7.00 或 7.00、10.01、12.45 標準溶液先校正儀器，再使用 SCHOTT instruments pH 計，測量實驗前後緩衝溶液之 pH 值。

3. 吸收光譜分析測量

使用 Hitachi U-2000 或 Hewlett-Packard HP 8453 UV/VIS 光譜儀測量化合物之紫外-可見光區吸收光譜，樣品槽 (cell) 之光徑為 1.0 公分的石英材質。消光係數 (extinction coefficient, ϵ_{\max}) 可由化合物吸收波峰 λ_{\max} 的吸收值，根據 Beer's law ($A = \epsilon bc$) 求得。

4. 元素分析

委託中興大學貴重儀器中心量測，以 Heraeus CHN-O Rapid 元素分析儀，偵測樣品之 N、C、H 元素之含量百分比。

5. 手套箱

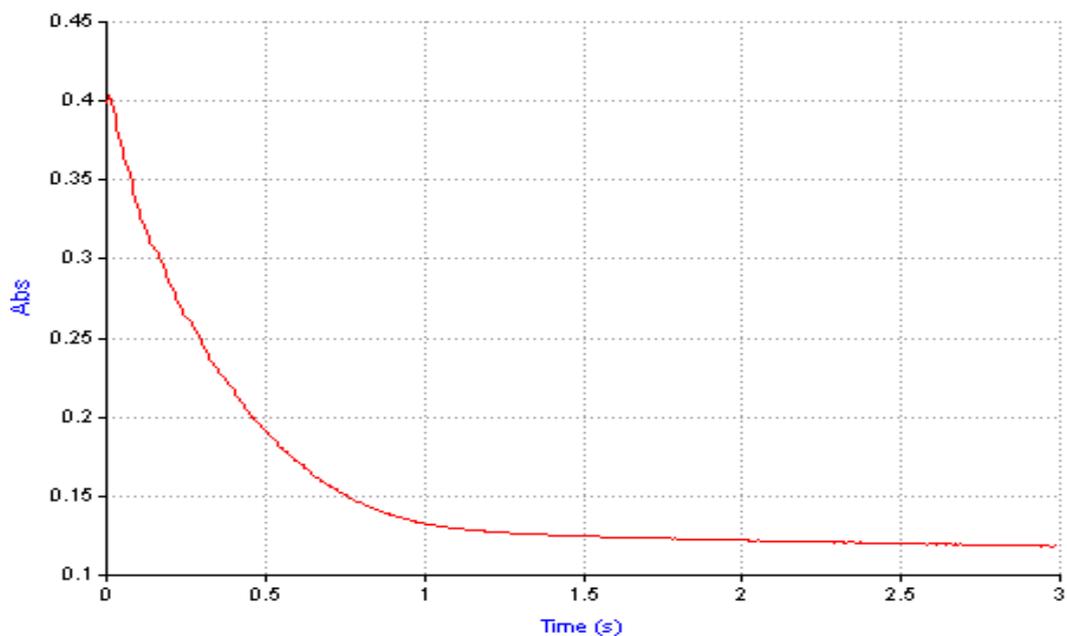
使用 Mbraun Unilab-B，手套箱 (Glovebox) 的目是在提供一個保護的功能，讓物品的保存或實驗可以在隔絕氧氣的環境下，手套箱內部填充高純度氮氣，並搭配氣體循環、再生系統及油壓式幫浦 (ULVAC GLD-201B, 使用 EDWARDS Ultragrade 19 潤滑油)，如 Fig. 7 所示，藉由水氧偵測分析儀，偵測水及氧的含量確定在 10 ppm 以內。任何溶液在置入手套箱前必須經過除氧步驟 (參考實驗部分隔氧處理系統，p. 18)，方能置入手套箱中。手套箱的使用是先將物品放入預抽室內，利用反覆的將氮氣充入抽淨，可使預抽室達到一無氧 (微氧) 的狀態，接著再將物品放入手套箱內保護或進行實驗。另外，手套箱內附有冷凍冰箱可儲存所合成之化合物，以避免氧化。



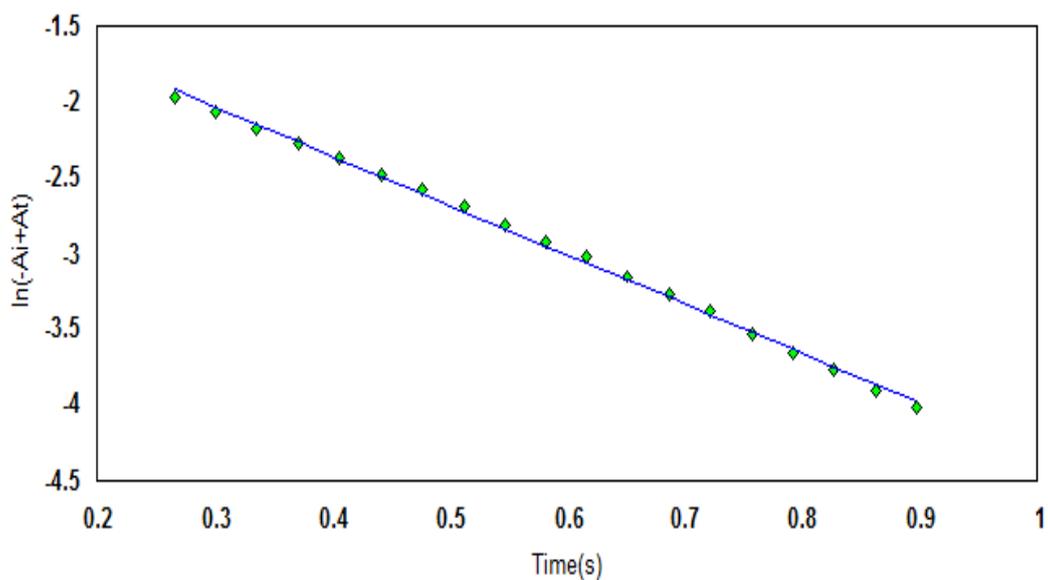
Figure 7. 真空手套箱

6. 動力學測量

根據反應速率的快慢，反應動力學分別以 HI-TECH SF-61 Dx2 double mixing stopped-flow spectrophotometer 或 Hewlett Packard HP 8453 UV-Vis spectrophotometer 測量，並使用 FIRSTEK 恆溫槽控制反應溫度。反應在偽一級 (pseudo first order) 條件下，以 Co(III) 氧化劑為過量，藉由觀測類黃酮吸收峰的訊號變化而量測，反應呈單指數曲線且 $\ln | A_{\infty} - A_t |$ 對時間變化為線性關係，如 Fig. 8 所示。 k_{obs} 可藉由線性最小平方差 (linear least-square fit) 分析 $\ln | A_{\infty} - A_t |$ 對時間 (s) 之關係圖，從斜率求得。



(a)



(b)

[Fisetin] = 5.00×10^{-5} M , [Co(phen)₃]³⁺ = 5.00×10^{-4} M ,

pH 10.00 , $\mu = 0.10$ M (LiCl) , T = 25 °C

Figure 8. Co(phen)₃³⁺ 還原反應圖

(a) Abs vs Time (s)

(b) ln | A_∞ - A_t | vs Time (s)

第三章、結果

3.1 吸收光譜

Quercetin、Fisetin、Rutin、 $\text{Co}(\text{edta})^{-2-}$ 及 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+/2+}$ 錯合物之吸收光譜列於 Table 1 中，所有類黃酮吸收位置大多於紫外光區，分別由兩個發光團 resorcinol (A 環) 及 catechol (B 環) 所組成，屬於 $\pi \rightarrow \pi^*$ 電子躍遷，其中低波長屬於 A 環，而高波長吸收則由 B 環引起⁴⁸。
 $\text{Co}(\text{edta})^{-2-}$ 及 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+/2+}$ 光譜所列僅為 Co(II) 及 Co(III) 之 d-d 吸收，不含配位本體的吸收，所得結果與文獻相符，且吸收位置皆不受 pH 值而有所改變⁴⁹。

3.2 化學計量

為了確認類黃酮在鹼性條件下屬於幾個電子氧化，我們將類黃酮濃度固定為 ($5 \times 10^{-5} \text{ M}$)，並以不同濃度之 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物滴定，在 $[\text{OH}^-] = 0.01 \text{ M}$ ， $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$ ， $T = 25^\circ\text{C}$ 條件下。結果發現當 $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}/[\text{Fisetin}] \geq 2$ 時，[Fisetin] 吸收完全消失，如 Fig. 9 所示，因此可以確定，在鹼性溶液中，類黃酮屬於兩個電子氧化反應。

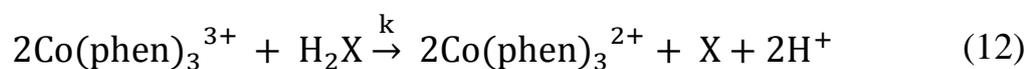
Table 1. Uv-vis 光譜

Compound	λ_{\max} (nm)	$10^{-3}\epsilon_{\max}$ ($M^{-1}cm^{-1}$)
Quercetin	279	21.50
	425	23.70
Fisetin	282	16.20
	420	23.50
Rutin	271	25.50
	400	21.40
Co(edta) ⁻	382(383) ^b	0.22(0.20) ^b
	533(535) ^b	0.31(0.30) ^b
Co(edta) ²⁻	300	0.16
Co(phen) ₃ ³⁺	450	0.10
Co(phen) ₃ ²⁺	323	0.71
	350	0.17
Ru(NH ₃) ₅ (pzCH ₃) ⁴⁺ ^a	290	6.50
	385	3.00
Ru(NH ₃) ₅ (pzCH ₃) ³⁺ ^a	540	16.0
	270	7.20

0.01 M NaOH , T = 25°C

a. 0.10 M HClO₄ , T = 25°C b. ref. 48

從過去的探討，我們得知氧化產物為 quinones⁵⁰，氧化反應因此可以 eq. (12) 表示，其中 H₂X 及 X 分別為 flavonoids 及其 quinone 氧化產物。



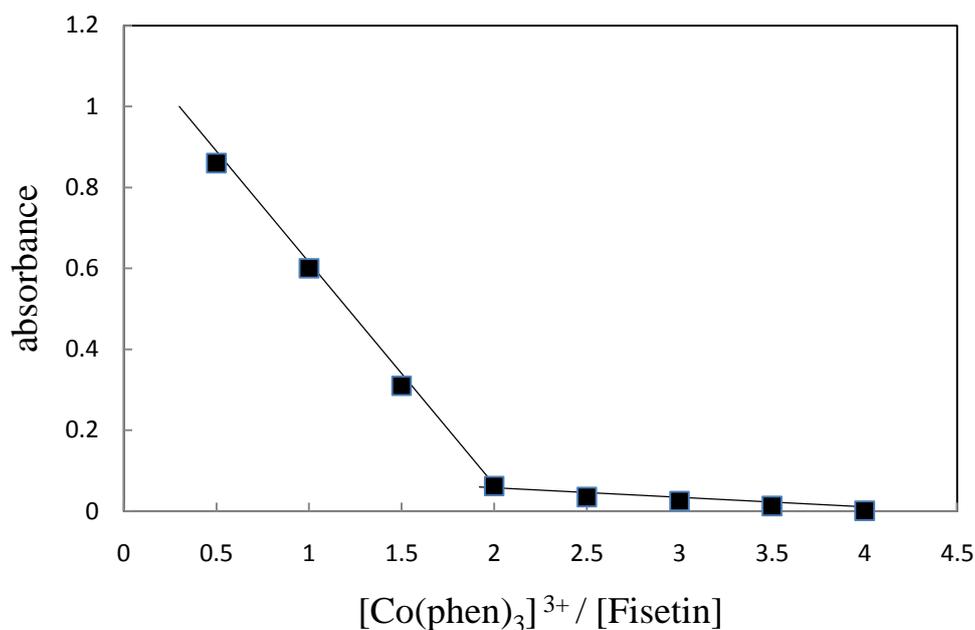


Figure 9. fisetin 還原 Co(phen)_3^{3+} 錯合物之化學計量圖

$$[\text{fisetin}] = 5.00 \times 10^{-5} \text{ M}, [\text{OH}^-] = 0.01 \text{ M},$$

$$\mu = 0.10 \text{ M LiCl}, T = 25^\circ \text{C}$$

3.3 反應動力學

由於 flavonoids 均屬於雙電子氧化，為了確定反應速率決定步驟究竟是第一個或是第二個電子，我們分別以 Co(III) 錯合物及類黃酮為限量試劑，探討反應動力學，發現以 $\ln |A_\infty - A_t|$ vs. 時間 (s) 作圖兩者均呈線性關係，如 Fig. 10 所示，因此可以確定反應速率決定步驟為第一個電子的氧化。反應速率式可以 eq. (13)、(14) 表示，式子中之 2 是考慮其為兩個電子氧化反應。

$$-\frac{d[\text{H}_2\text{X}]}{dt} = 2k [\text{Co(phen)}_3^{3+}] [\text{H}_2\text{X}] \quad (13)$$

$$k_{\text{obs}} = 2k [\text{Co(phen)}_3^{3+}] \quad (14)$$

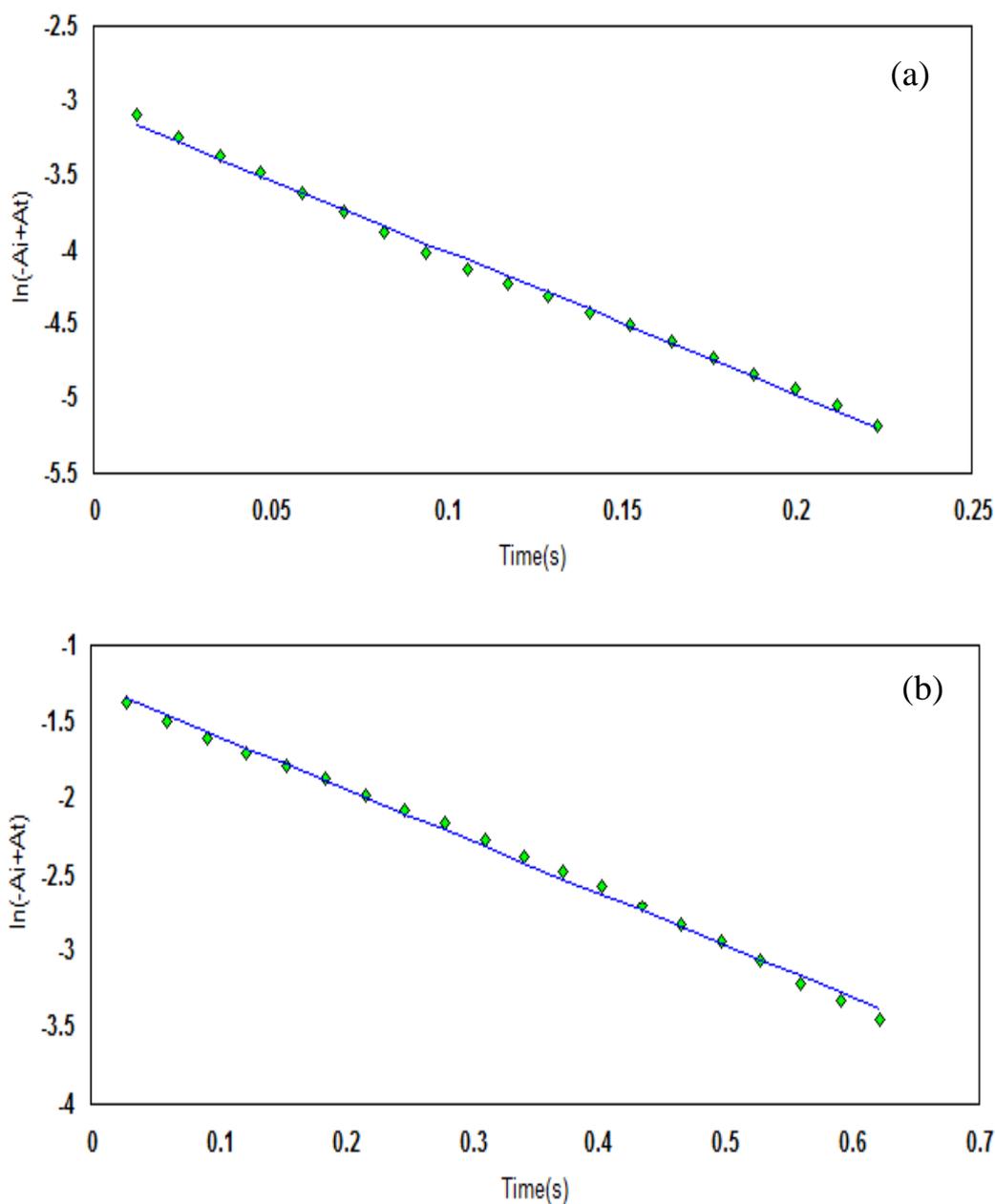


Figure 10. $\text{fisetin} - \text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 反應物之 $\ln | A_\infty - A_t |$ 對時間 (s) 作圖

(a) $[\text{fisetin}] = 1.00 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}] = 1.00 \times 10^{-4} \text{ M}$

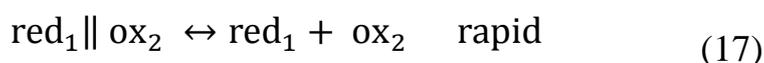
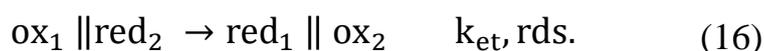
(b) $[\text{fisetin}] = 1.00 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}] = 1.00 \times 10^{-5} \text{ M}$

$\text{pH} = 11.16$, $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$

動力學反應可分為兩部份：第一部份為 $\text{pH} = 9-12$, $\mu = 0.10 \text{ M}$

LiClO_4 、 LiCl , $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ 的條件下，分別以 $\text{Co}(\text{edta})^-$ 及 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$

錯合物為氧化劑，並且以氧化劑為過量 ($[\text{Co(III)}] \geq 10[\text{flavonoids}]$)；第二部份為 $[\text{H}^+] = 0.02 - 0.10 \text{ M}$ ， $\mu = 0.10 \text{ M LiClO}_4$ ， $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ 的條件下，以 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)^{4+}$ 錯合物為還原劑，並且以還原劑為過量 ($[\text{flavonoids}] \geq 10[\text{Ru(III)}]$)，以確定反應在偽一級 (pseudofirst-order) 條件下進行。觀測反應速率常數 k_{obs} 值列於 Table A1 – A7，除了以 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物對 fisetin 與 quercetin 的反應外，其餘動力學 k_{obs} vs. Co(III) 錯合物濃度作圖皆呈良好的線性關係，如 Fig. 11 ~ 13 所示，以單參數線性最小平方差 (linear-least squares fit) 方法分析 k_{obs} vs. $[\text{Co(III)}]$ 及 k_{obs} vs. $[\text{fisetin}]$ 圖，由斜率求得 k 值，結果列於 Tables 2、5 及 6；當以 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物為氧化劑分別與 fisetin、quercetin 反應時， k_{obs} vs. $[\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}]$ 呈非線性關係，如 Fig. 14(a)、15(a) 所示，但以 $1/k_{\text{obs}}$ vs. $1/[\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}]$ 作圖則有良好線性關係，如 Fig. 14(b)、15(b) 所示，此結果顯示，以 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 氧化 fisetin 及 quercetin 反應機構並非與其他反應不同，而是 k_{obs} 與 Co(III) 濃度關係呈飽合現象。類黃酮與金屬錯合物離子的氧化還原反應，屬於外圈電子轉移機構²⁸ 如 eq. (15) – (17) 所示：



(ox_1 : Co(III) , red_2 : flavonoids, red_1 : Co(II) , ox_2 : 氧化後的 flavonoids)

反應物首先形成離子對，然後在離子對狀態下進行電子傳遞後，再解離成最後產物，根據此機構，其反應速率式為：

$$-\frac{d[\text{red}_2]}{dt} = k_{\text{obs}} [\text{red}_2] \quad (18)$$

$$k_{\text{obs}} = \frac{2 k_{\text{et}} Q_{\text{IP}} [\text{ox}_1]}{1 + Q_{\text{IP}} [\text{ox}_1]} \quad (19)$$

當 $1 \gg Q_{\text{IP}} [\text{ox}_1]$ 時，eq. (19) 可進一步簡化為 eq. (20)。

$$k_{\text{obs}} = 2k[\text{ox}_1] \quad \text{或} \quad k = k_{\text{et}}Q_{\text{IP}} \quad (20)$$

此時 k_{obs} 與 $[\text{Co(III)}]$ 濃度呈線性關係，如 Fig. 11、12 所示，但當 $1 \sim Q_{\text{IP}} [\text{ox}_1]$ 時，則 k_{obs} 與 $[\text{Co(III)}]$ 濃度關係，需以 eq. (19) 表示，利用非線性最小平方差 (non-linear least square fits) 法依 eq. (19)，分析 k_{obs} vs. $[\text{Co(phen)}_3^{3+}]$ ，分別求得 k_{et} 、 Q_{IP} 及 k 值 ($= k_{\text{et}}Q_{\text{IP}}$)，結果列於 Table 3-4。

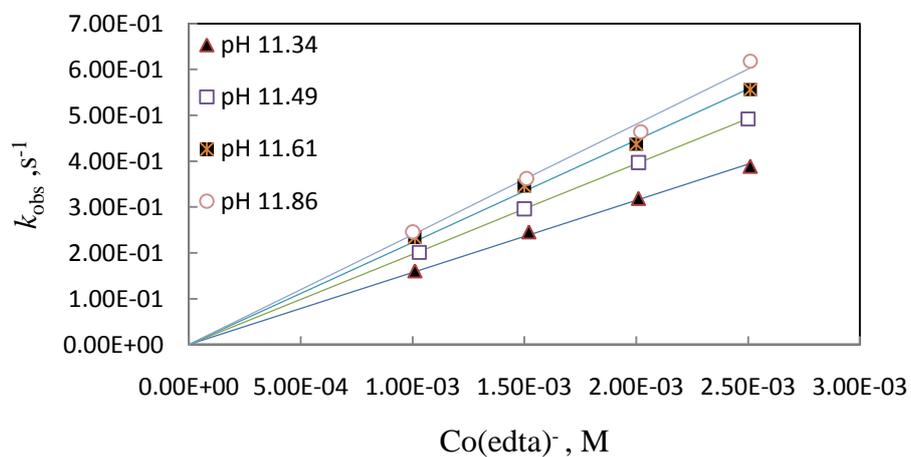
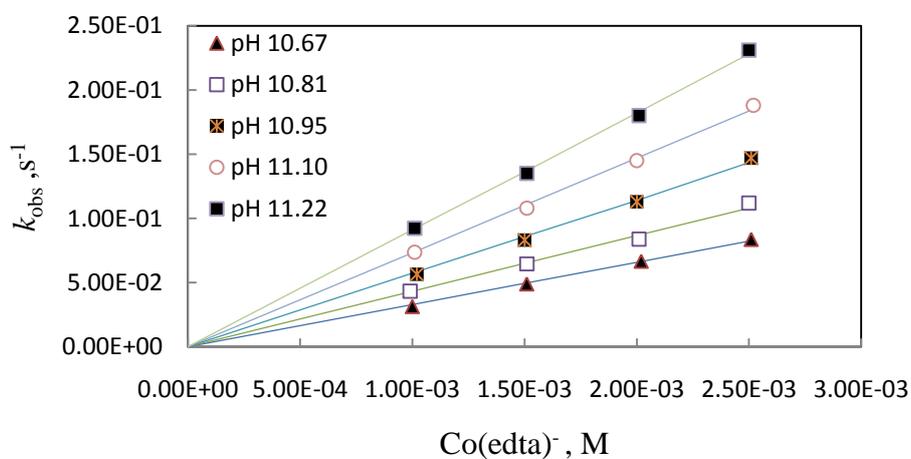
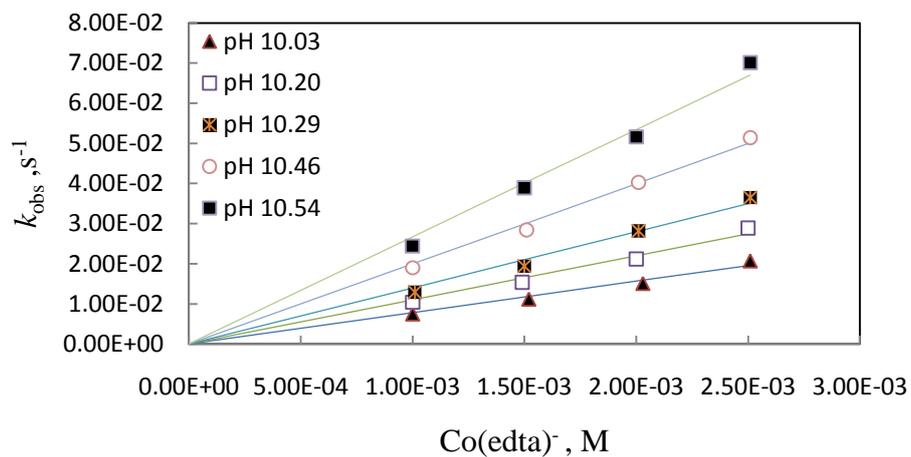


Figure 11. pH 10.03 - 11.86, fisetin 氧化反應之 k_{obs} vs. $[\text{Co(edta)}^-]$

錯合物作圖， $\mu = 0.10 \text{ M LiClO}_4$ ， $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

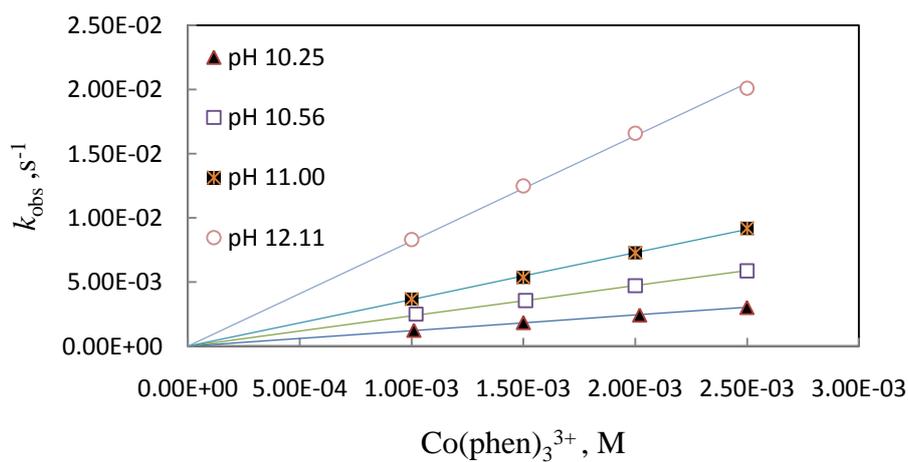


Figure 12. pH 10.25 - 12.11, rutin 氧化反應之 k_{obs} vs. $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$

錯合物作圖， $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$ ， $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

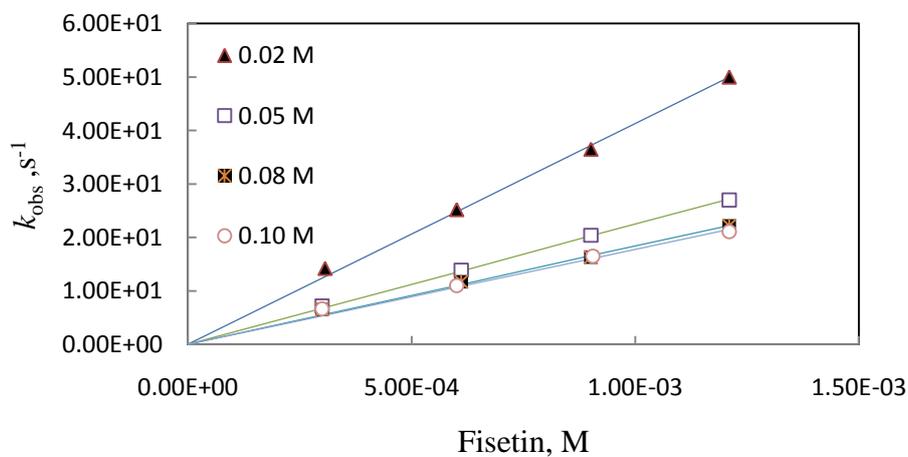


Figure 13. $[\text{H}^+] = 0.02 - 0.10 \text{ M}$ ， $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)^{4+}$ 錯合物還原反

應之 k_{obs} vs. $[\text{fisetin}]$ 作圖， $\mu = 0.10 \text{ M LiClO}_4$ ， $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

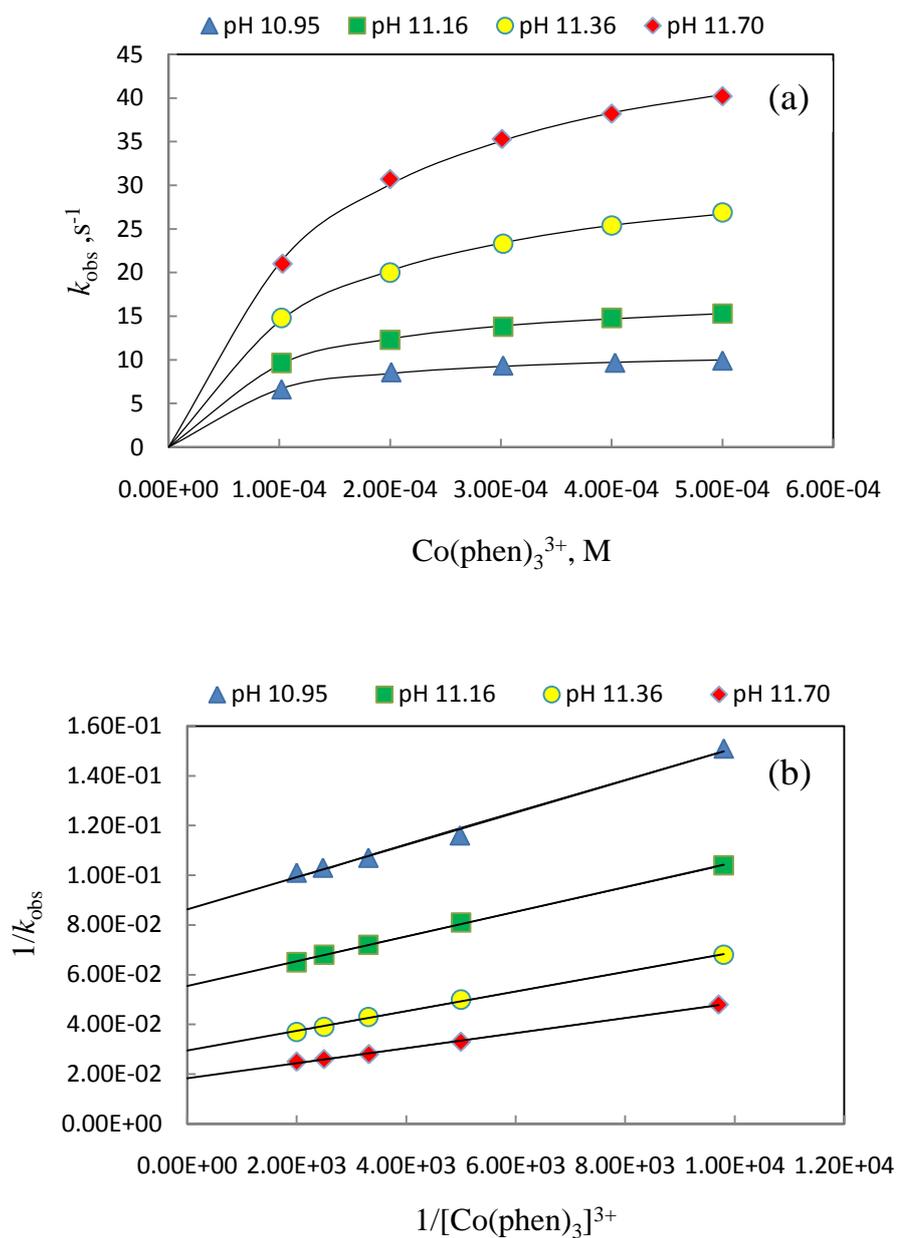


Figure 14. pH 10.95 - 11.70, fisetin 氧化反應之
 (a) k_{obs} vs. $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ (b) $1/k_{\text{obs}}$ vs. $1/[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$
 錯合物作圖, $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

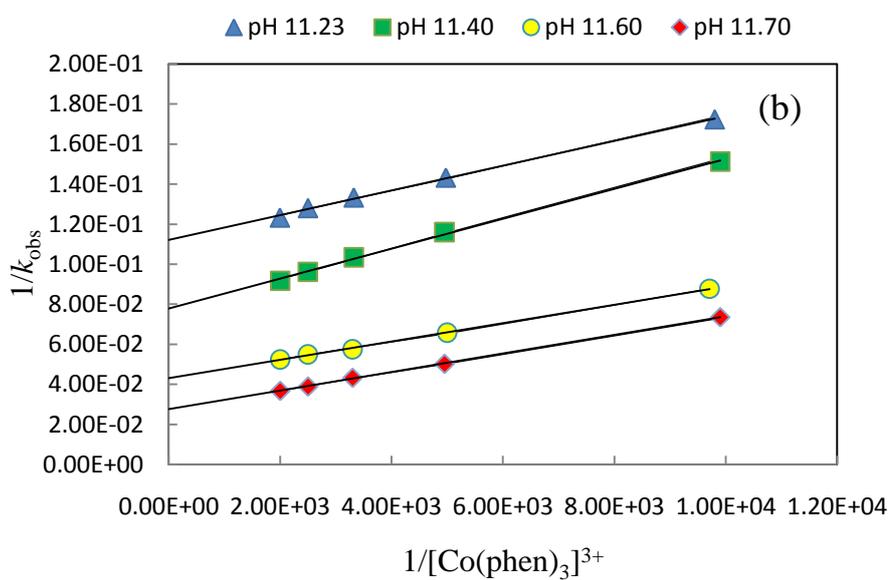
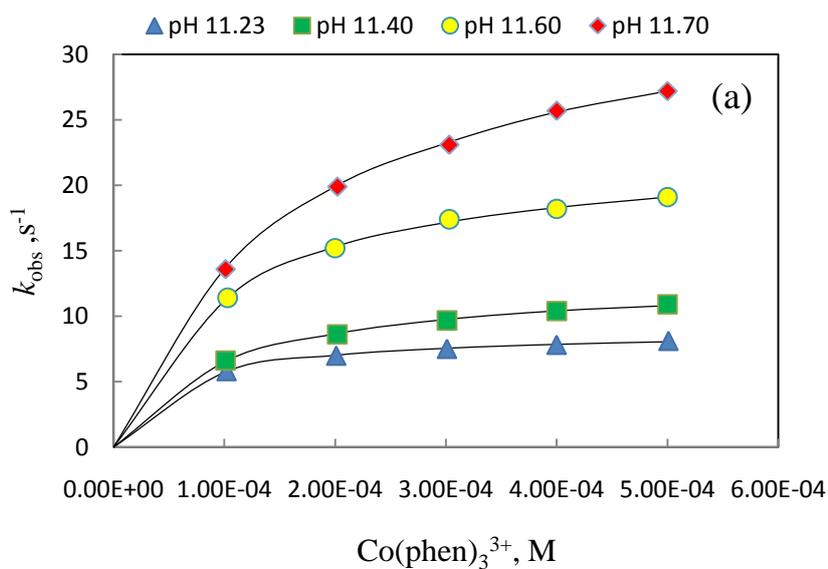


Figure 15. pH 11.23 - 11.70, quercetin 氧化反應之
 (a) k_{obs} vs. $[\text{Co(phen)}_3]^{3+}$ (b) $1/k_{\text{obs}}$ vs. $1/[\text{Co(phen)}_3]^{3+}$
 錯合物作圖, $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

Table 2. pH = 10.03-11.86, Co(edta)^- 錯合物與 fisetin 還原反應
之速率常數 k

pH	k, $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	pH	k, $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$
10.03	(3.91±0.12)	10.95	(2.86±0.04)×10 ¹
10.20	(5.50±0.15)	11.10	(3.67±0.03)×10 ¹
10.29	(7.00±0.20)	11.22	(4.56±0.04)×10 ¹
10.46	(1.00±0.02)×10 ¹	11.34	(7.85±0.08)×10 ¹
10.54	(1.34±0.03)×10 ¹	11.49	(9.85±0.02)×10 ¹
10.67	(1.65±0.02)×10 ¹	11.61	(2.23±0.03)×10 ²
10.81	(2.17±0.04)×10 ¹	11.86	(2.40±0.04)×10 ²

$\mu = 0.10 \text{ M LiClO}_4$, T = 25 °C

Table 3. pH = 9.37-12.00, Co(phen)₃³⁺ 錯合物與 fisetin 還原反應
之速率常數

pH	$k_{\text{et}}, \text{s}^{-1}$	$Q_{\text{IP}}, \text{M}^{-1}$	$k, \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$
9.37	(5.06±0.37)	(1.19±0.13)×10 ³	(6.02±0.44)×10 ³
9.53	(4.82±0.26)	(1.66±0.12)×10 ³	(8.00±0.43)×10 ³
9.78	(4.65±0.31)	(2.84±0.24)×10 ³	(1.32±0.09)×10 ⁴
10.00	(4.80±0.14)	(2.96±0.11)×10 ³	(1.42±0.04)×10 ⁴
10.23	(5.00±0.11)	(3.40±0.09)×10 ³	(1.70±0.04)×10 ⁴
10.41	(5.35±0.25)	(3.54±0.20)×10 ³	(1.90±0.09)×10 ⁴
10.61	(5.29±0.22)	(4.76±0.23)×10 ³	(2.52±0.20)×10 ⁴
10.76	(6.07±0.13)	(6.92±0.16)×10 ³	(4.20±0.09)×10 ⁴
10.80	(5.06±0.21)	(1.11±0.06)×10 ⁴	(5.62±0.20)×10 ⁴
10.95	(11.51±0.69)	(1.39±0.10)×10 ⁴	(1.60±0.10)×10 ⁵
11.16	(18.09±0.55)	(1.10±0.04)×10 ⁴	(1.99±0.06)×10 ⁵
11.36	(34.06±1.06)	(7.34±0.33)×10 ³	(2.50±0.08)×10 ⁵
11.70	(52.44±2.19)	(6.75±0.31)×10 ³	(3.54±0.15)×10 ⁵
12.00	(90.48±3.90)	(1.47±0.08)×10 ⁴	(1.33±0.06)×10 ⁶

$\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

Table 4. pH = 9.07-12.00 , Co(phen)₃³⁺ 錯合物與 quercetin 還原反應

之速率常數

pH	k _{et} , s ⁻¹	Q _{IP} , M ⁻¹	k, M ⁻¹ s ⁻¹
9.07	(3.04±0.22)	(2.81±0.25)×10 ³	(8.53±0.62)×10 ³
9.38	(3.05±0.20)	(3.05±0.24)×10 ³	(9.31±0.60)×10 ³
9.53	(3.08±0.08)	(3.25±0.11)×10 ³	(1.00±0.03)×10 ⁴
9.85	(3.11±0.11)	(3.67±0.16)×10 ³	(1.14±0.04)×10 ⁴
10.00	(3.20±0.14)	(3.69±0.19)×10 ³	(1.18±0.05)×10 ⁴
10.22	(3.44±0.07)	(3.52±0.09)×10 ³	(1.21±0.02)×10 ⁴
10.57	(3.37±0.16)	(4.19±0.24)×10 ³	(1.41±0.07)×10 ⁴
10.80	(2.11±0.09)	(8.07±0.46)×10 ³	(1.70±0.07)×10 ⁴
11.10	(4.05±0.07)	(1.72±0.03)×10 ⁴	(6.97±0.11)×10 ⁴
11.23	(12.98±0.36)	(9.94±0.37)×10 ³	(1.29±0.04)×10 ⁵
11.40	(8.90±0.33)	(1.81±0.08)×10 ⁴	(1.61±0.06)×10 ⁵
11.60	(36.66±0.98)	(5.81±0.23)×10 ³	(2.13±0.06)×10 ⁵
11.70	(24.07±0.68)	(9.72±0.38)×10 ³	(2.34±0.07)×10 ⁵
12.00	(53.10±2.47)	(1.13±0.07)×10 ⁴	(6.00±0.28)×10 ⁵

 $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$, T = 25 °C

Table 5. pH = 10.25-12.11 , Co(phen)₃³⁺ 錯合物與 rutin 還原反應

之速率常數 k

pH	k, M ⁻¹ s ⁻¹	pH	k, M ⁻¹ s ⁻¹
10.25	(1.22±0.01)	11.00	(3.65±0.02)
10.56	(2.37±0.02)	12.11	(8.20±0.08)

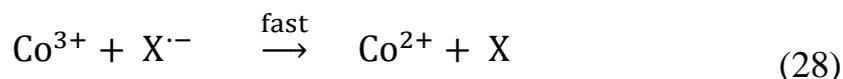
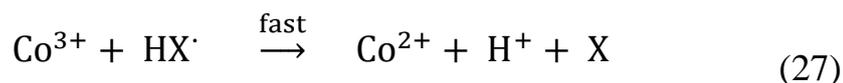
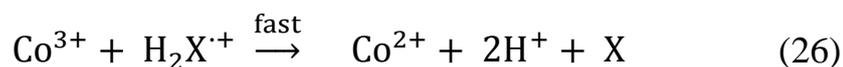
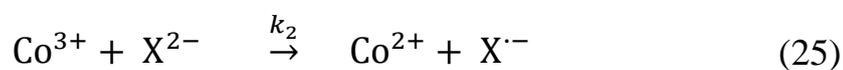
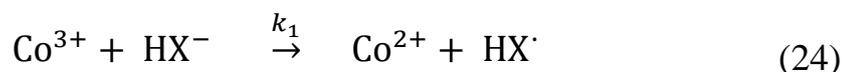
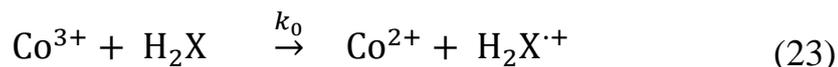
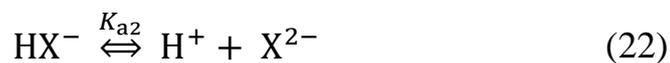
 $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$, T = 25 °C**Table 6.** [H⁺] = 0.02 – 0.10 M , Ru(NH₃)₅(pzCH₃)⁴⁺ 錯合物與 fisetin

還原反應之速率常數 k

[H ⁺], M	k, M ⁻¹ s ⁻¹	[H ⁺], M	k, M ⁻¹ s ⁻¹
0.02	(2.07±0.01)×10 ⁴	0.08	(9.20±0.01)×10 ³
0.05	(1.13±0.01)×10 ⁴	0.10	(8.90±0.02)×10 ³

 $\mu = 0.10 \text{ M LiClO}_4$, T = 25 °C

根據我們過去的探討結果²⁸，Co(III) 錯合物氧化 flavonoids 反應機構可以 eq. (21)~(28) 表示：



($\text{Co}^{3+}/\text{Co}^{2+}$: $\text{Co}(\text{edta})^-/\text{Co}(\text{edta})^{2-}$ 及 $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}/\text{Co}(\text{phen})_3^{2+}$)

根據反應機構， k 值可表示為：

$$k = \frac{k_0 [\text{H}^+]^2 + k_1 K_{a1} [\text{H}^+] + k_2 K_{a1} K_{a2}}{[\text{H}^+]^2 + K_{a1} [\text{H}^+] + K_{a1} K_{a2}} \quad (29)$$

1. $\text{Co}(\text{edta})^-$ — fisetin, pH = 10.03 — 11.86

(a) pH = 10.67 - 11.22

在此 pH 值範圍， k vs. $[\text{H}^+]$ 關係如 Fig. 16(a) 所示，除

$k_0[\text{H}^+]^2$ 的值極小可忽略，又因 $[\text{H}^+]^2 \ll K_{a1}[\text{H}^+] + K_{a1}K_{a2}$ ，因此 eq. (29)

可簡化為 eq. (30)

$$k = \frac{k_1K_{a1}[\text{H}^+] + k_2K_{a1}K_{a2}}{K_{a1}[\text{H}^+] + K_{a1}K_{a2}} \quad (30)$$

但由於 $1/k$ vs. $[\text{H}^+]$ 呈線性關係如 Fig. 16(b) 所示。因此可以確定

$k_2K_{a1}K_{a2} \gg k_1K_{a1}[\text{H}^+]$ ，此 eq. (30) 可在簡化成 eq. (31)

$$k = \frac{k_2K_{a2}}{[\text{H}^+] + K_{a2}} \quad (31)$$

根據 eq. (31) 以非線性最小平方差 (non-linear least square fit) 分析

k vs. $[\text{H}^+]$ ，可得到 k_2 值及 K_{a2} 值，分別為 $k_2 = (1.49 \pm 0.09) \times 10^2$

$\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ， $K_{a2} = (2.64 \pm 0.20) \times 10^{-12}$ ($\text{p}K_{a2} = 11.58$)

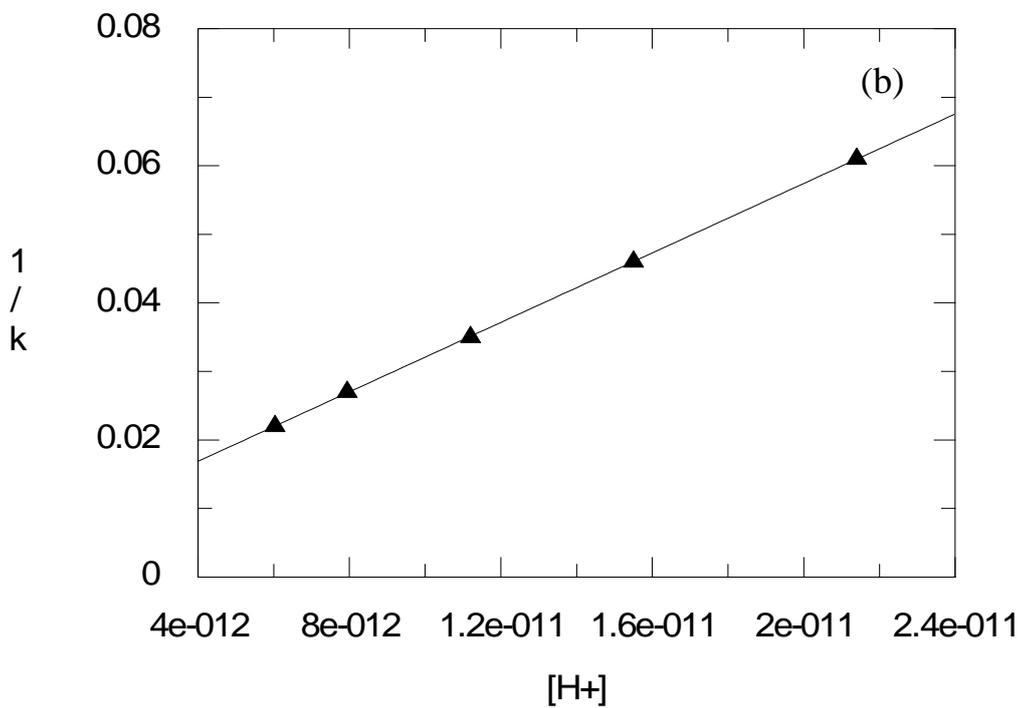
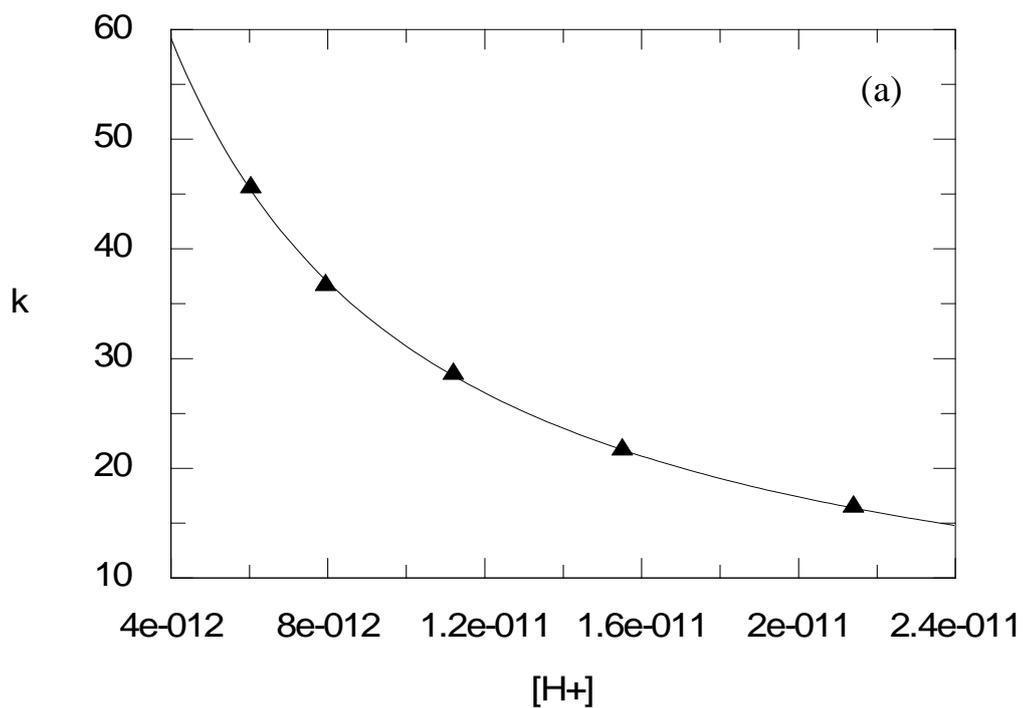


Figure 16. pH 10.67 - 11.22, $\text{Co}(\text{edta})^-$ 錯合物與 fisetin 反應之

(a) k vs. $[H^+]$ 作圖 (b) $1/k$ vs. $[H^+]$ 作圖

2. $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ – fisetin , pH = 9.37 – 12.00

(a) pH = 9.78 – 10.61

在此 pH 值範圍， $[\text{H}^+]^2 + K_{a1}[\text{H}^+] \gg K_{a1}K_{a2}$ ， $k_1K_{a1}[\text{H}^+] + k_2K_{a1}K_{a2} \gg k_0[\text{H}^+]^2$ ，因此 eq. (29) 可簡化為 eq.(32)

$$k = \frac{k_1K_{a1}[\text{H}^+] + k_2K_{a1}K_{a2}}{[\text{H}^+]^2 + K_{a1}[\text{H}^+]} \quad (32)$$

k vs. $[\text{H}^+]$ 關係如 Fig. 17(a) 所示；但由於 k vs. $1/[\text{H}^+]$ 呈良好線性關係，如 Fig. 17(b) 所示，因此 $K_{a1}[\text{H}^+] \gg [\text{H}^+]^2$ ，而 eq.(32) 可進一步簡化為 eq.(33)

$$k = \frac{k_1[\text{H}^+] + k_2K_{a2}}{[\text{H}^+]} \quad (33)$$

根據 eq. (33) 以非線性最小平方差 (non-linear least square fit) 分析 k vs. $[\text{H}^+]$ ，可得到 k_1 值及 k_2K_{a2} 值，分別為 $k_1 = (1.09 \pm 0.04) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ， $k_2K_{a2} = (3.42 \pm 0.18) \times 10^{-7}$ 。

(b) pH = 10.95 – 11.70

在此 pH 值範圍，k vs. $[\text{H}^+]$ 關係如 Fig. 18(a) 所示，除 $k_0[\text{H}^+]^2$ 可忽略，又因 $[\text{H}^+]^2 \ll K_{a1}[\text{H}^+] + K_{a1}K_{a2}$ ，因此 eq. (29) 可簡

化為 eq. (34)

$$k = \frac{k_1 K_{a1} [H^+] + k_2 K_{a1} K_{a2}}{K_{a1} [H^+] + K_{a1} K_{a2}} \quad (34)$$

但當 $1/k$ vs. $[H^+]$ 作圖時，發現兩者呈良好線性關係，如 Fig. 18(b) 所示，因此 $k_2 K_{a1} K_{a2} \gg k_1 K_{a1} [H^+]$ ，而 eq.(34) 可進一步簡化為 eq.(35)

$$k = \frac{k_2 K_{a2}}{[H^+] + K_{a2}} \quad (35)$$

根據 eq. (35) 以非線性最小平方差 (non-linear least square fit) 分析 k vs. $[H^+]$ ，可得到 k_2 值及 K_{a2} 值，分別為 $k_2 = (4.95 \pm 0.46) \times 10^5$ $M^{-1}s^{-1}$ ， $K_{a2} = (4.81 \pm 0.76) \times 10^{-12}$ ($pK_{a2} = 11.32$)。

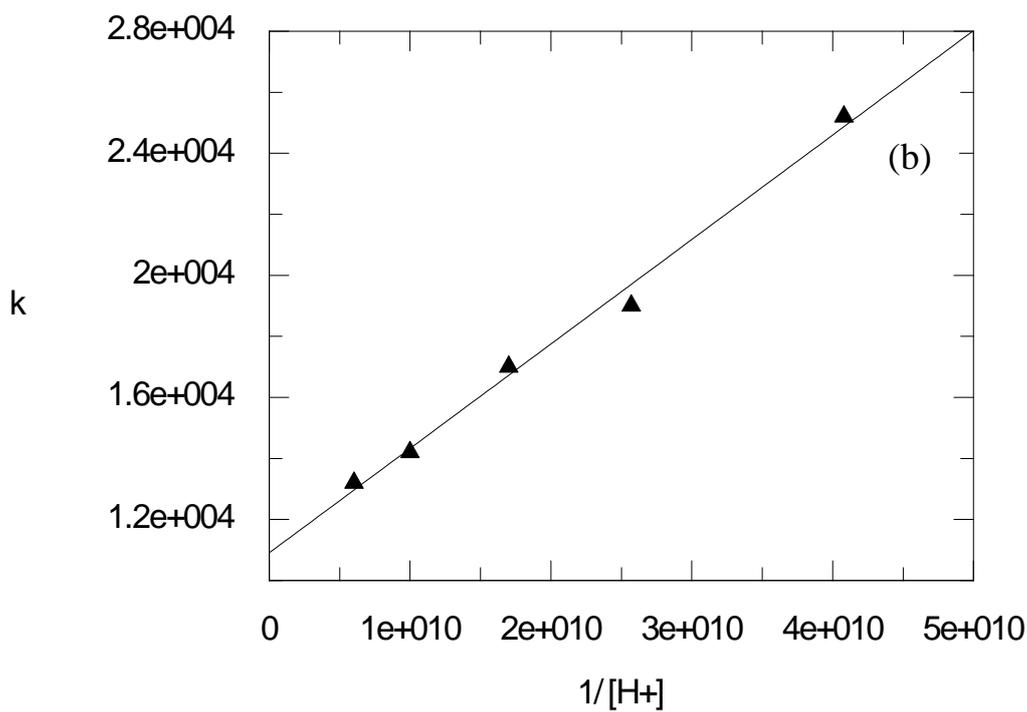
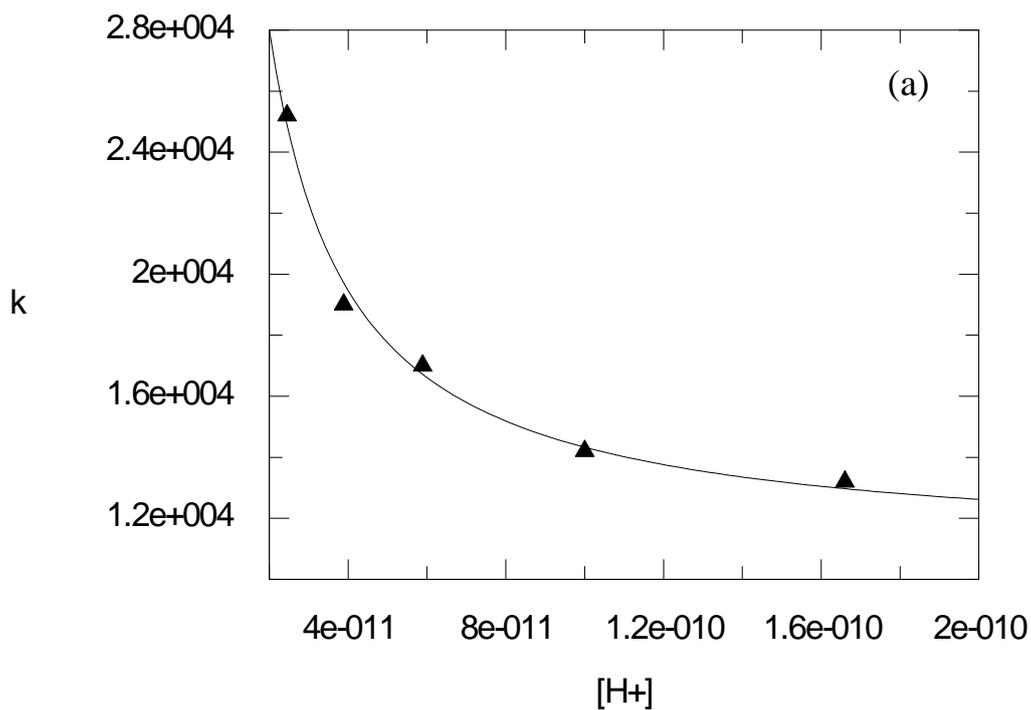


Figure 17. pH 9.78 - 10.61, $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物與 fisetin 反應之

(a) k vs. $[\text{H}^+]$ 作圖 (b) k vs. $1/[\text{H}^+]$ 作圖

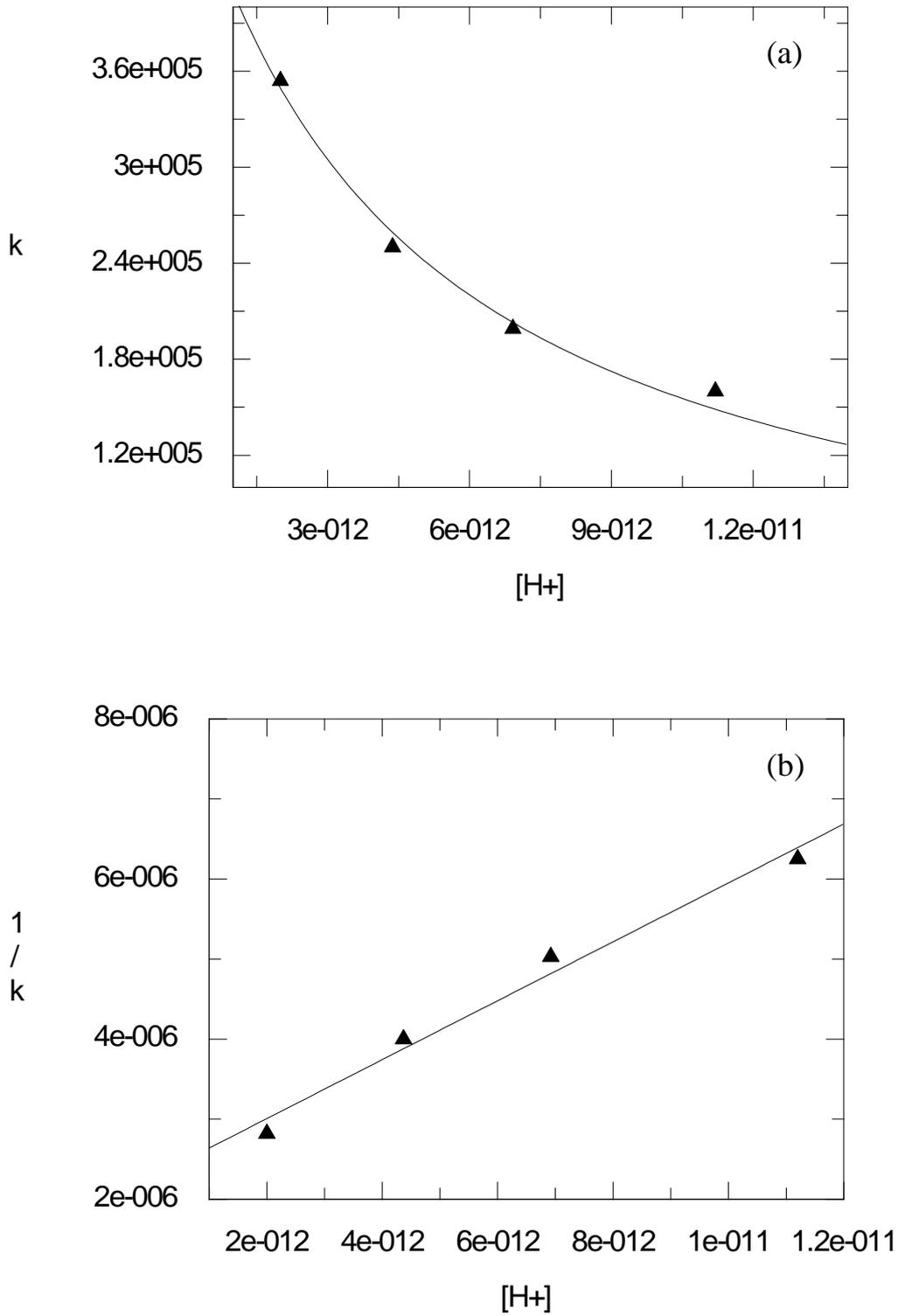


Figure 18. pH 10.95 - 11.70 , $Co(phen)_3^{3+}$ 錯合物與 fisetin 反應之

(a) k vs. $[H^+]$ 作圖 (b) $1/k$ vs. $[H^+]$ 作圖

3. $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ – quercetin, pH = 9.07 – 12.00

(a) pH = 9.85 – 10.80

在此 pH 值範圍， k 與 $1/[\text{H}^+]$ 和 fisetin 在 pH = 9.78-10.61 氧化情況完全相同，如 Fig. 19(b) 所示，因此 rate law 應遵照 eq. (33)，以非線性最小平方差分析 k vs. $[\text{H}^+]$ ，(如 Fig. 19(a))，可得到 k_1 值及 k_2K_{a2} 值，分別為 $k_1 = (1.06 \pm 0.01) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ， $k_2K_{a2} = (9.85 \pm 0.43) \times 10^{-8}$ 。

(b) pH = 11.23 – 11.70

在此 pH 值範圍， $1/k$ 與 $[\text{H}^+]$ 與 fisetin 在 pH = 10.95 – 11.70 氧化情況完全相同，如 Fig. 20(b) 所示，因此 rate law 亦可以 eq. (35) 表示，再依據 eq. (35) 以非線性最小平方差分析 k vs. $[\text{H}^+]$ ，(如 Fig. 20(a))，可得到 k_2 值及 K_{a2} 值，分別為 $k_2 = (4.15 \pm 0.18) \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ， $K_{a2} = (2.60 \pm 0.22) \times 10^{-12}$ ($\text{p}K_{a2} = 11.59$)。

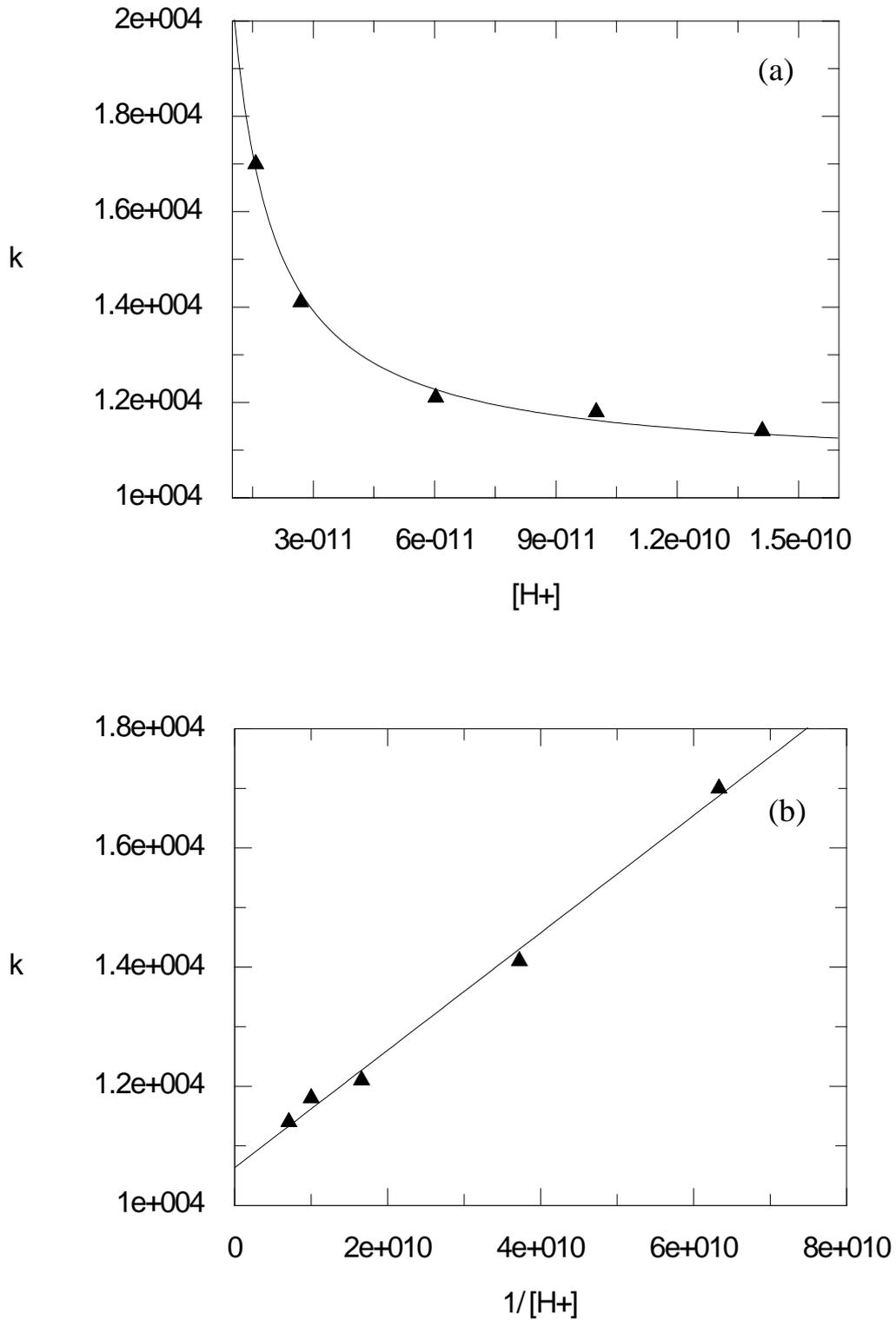


Figure 19. pH 9.85 - 10.80 , $Co(phen)_3^{3+}$ 錯合物與 quercetin 反之

(a) k vs. $[H^+]$ 作圖 (b) k vs. $1/[H^+]$ 作圖

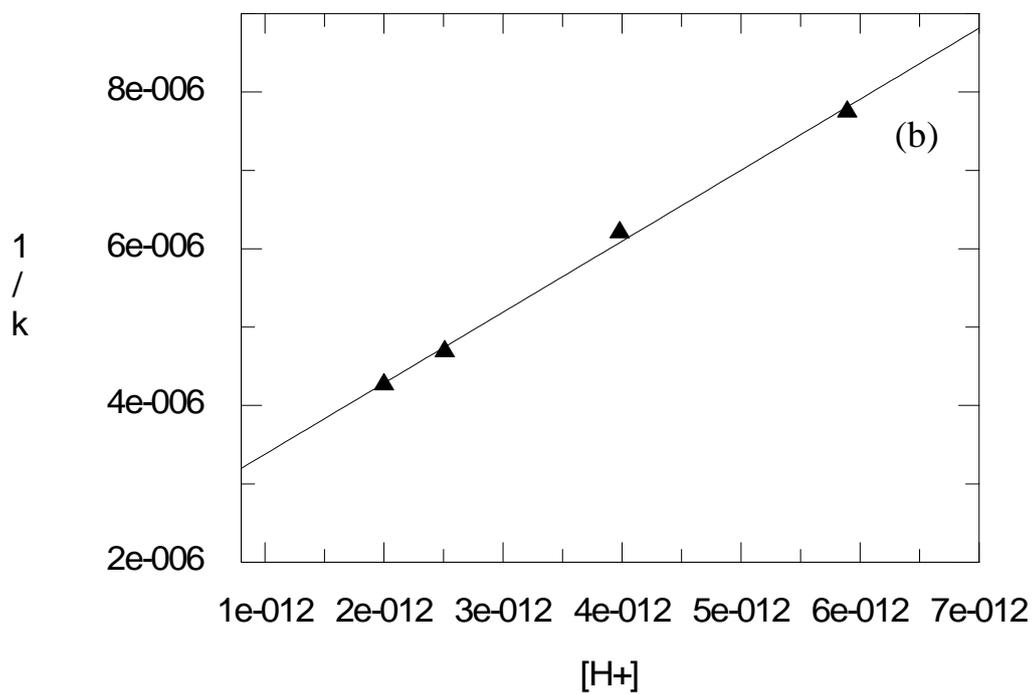
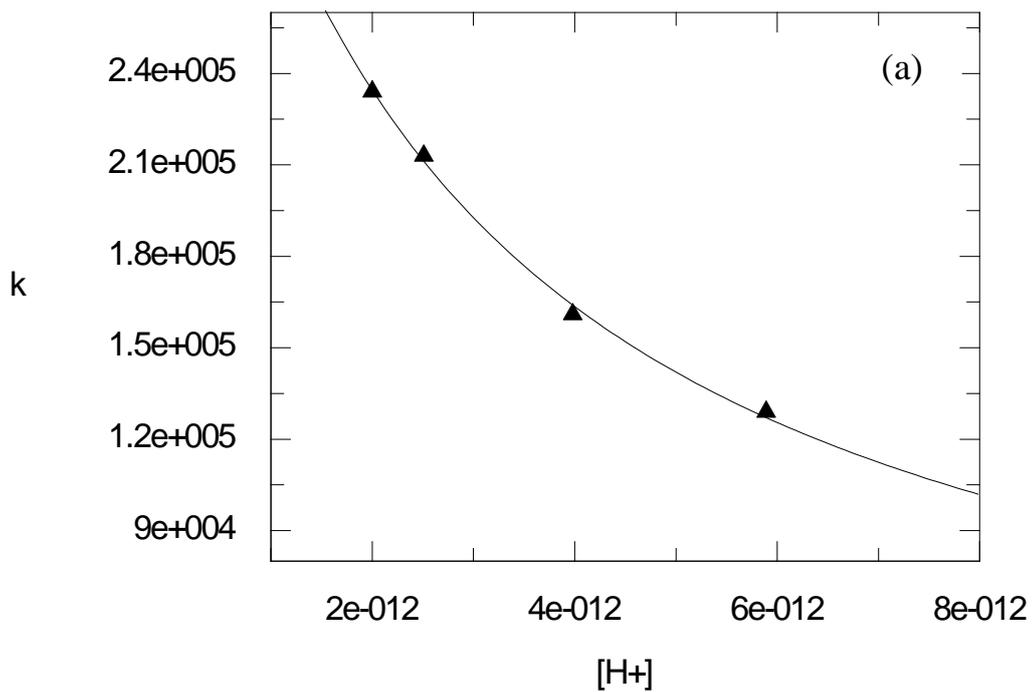


Figure 20. pH 11.23 - 11.70 · Co(phen)₃³⁺ 錯合物與 quercetin 反之

(a) k vs. [H⁺] 作圖 (b) 1/k vs. [H⁺] 作圖

4. Co(phen)_3^{3+} – rutin, pH = 10.25 – 12.11

(a) pH = 10.25 – 12.11

在此 pH 值範圍， $1/k$ 與 $[\text{H}^+]$ 與 fisetin、quercetin 氧化情況完全相同，如 Fig. 21(b) 所示，因此 rate law 亦可以 eq. (35) 表示，再依據 eq. (35) 以非線性最小平方差分析 k vs. $[\text{H}^+]$ ，(如 Fig. 21(a))，可得到 k_2 值及 K_{a2} 值，分別為 $k_2 = (4.47 \pm 0.11) \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ， $K_{a2} = (8.55 \pm 0.26) \times 10^{-12}$ ($\text{p}K_{a2} = 11.07$)。

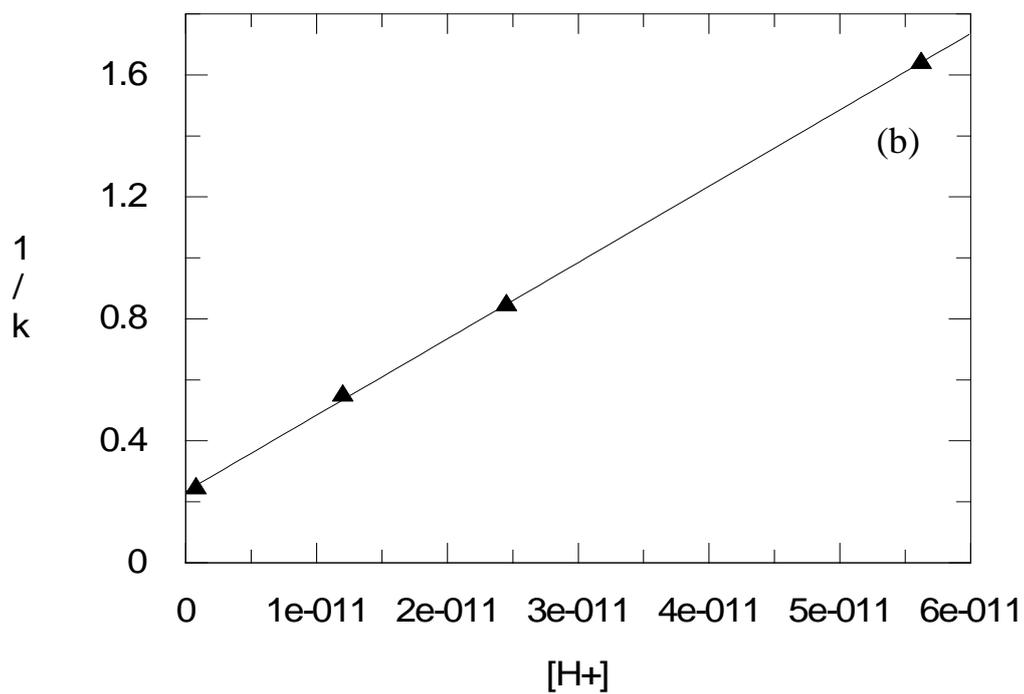
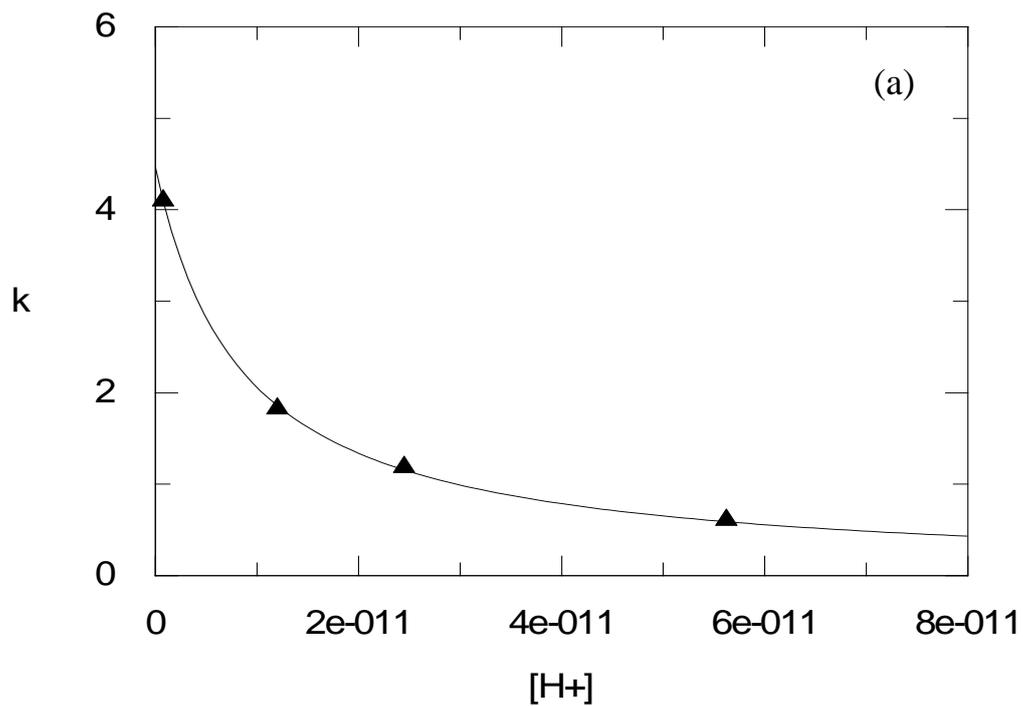


Figure 21. pH 10.25 - 12.11, $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 錯合物與 rutin 反之

(a) k vs. $[H^+]$ 作圖 (b) $1/k$ vs. $[H^+]$ 作圖

5. Ru(NH₃)₅(pzCH₃)⁴⁺ – fisetin, [H⁺] = 0.02 – 0.10 M

(a) [H⁺] = 0.02 – 0.10 M

在此條件下只有 Ru(NH₃)₅(pzCH₃)⁴⁺ 錯合物具有足夠的氧化力 (E_{1/2} = 0.92 V)²⁸ 可以氧化 flavonoids，動力學測量以 flavonoids 為過量，觀測 Ru(NH₃)₅pzCH₃³⁺ 錯合物 (λ_{max} = 540 nm) 的形成，在此範圍內，[H⁺] >> K_{a1}, K_{a2}，eq. (29)可簡化為 eq. (36)

$$k = \frac{k_0[\text{H}^+]^2 + k_1K_{a1}[\text{H}^+] + k_2K_{a1}K_{a2}}{[\text{H}^+]^2} \quad (36)$$

當以 k vs. 1/[H⁺] 作圖時，發現呈良好線性關係，如 Fig. 22(b)所示，因此可以確定 (k₀[H⁺]² + k₁K_{a1}[H⁺]) >> k₂K_{a1}K_{a2}，eq. (36) 可進一步簡化為 eq. (37)

$$k = \frac{k_0[\text{H}^+] + k_1K_{a1}}{[\text{H}^+]} \quad (37)$$

利用非線性最小平方差根據 eq. (37) 分析 k vs. [H⁺]，(如 Fig. 22(a)) 可得到 k₀ 及 k₁K_{a1} 值，分別為 k₀ = (3.01±0.10)×10²，k₁K_{a1} = (5.56±0.29) ×10³。

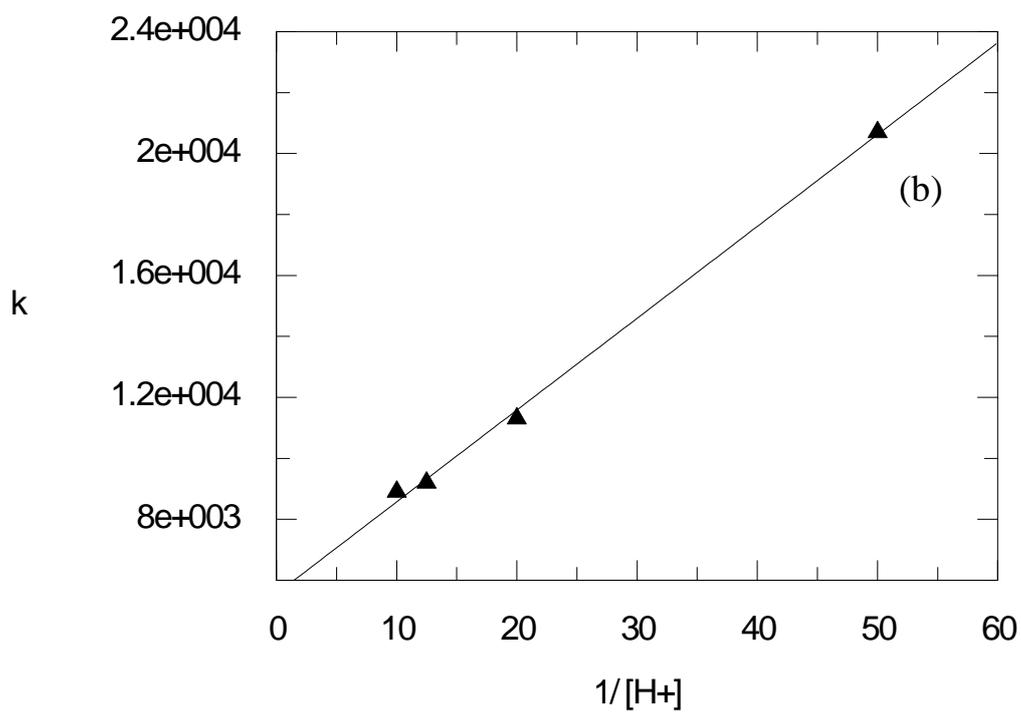
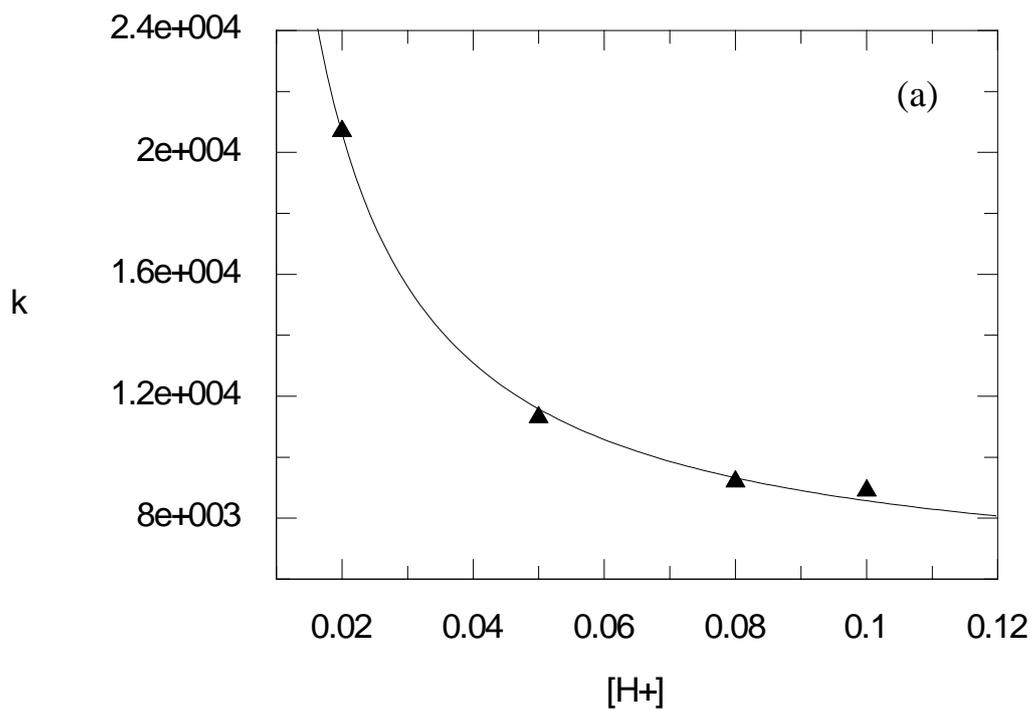
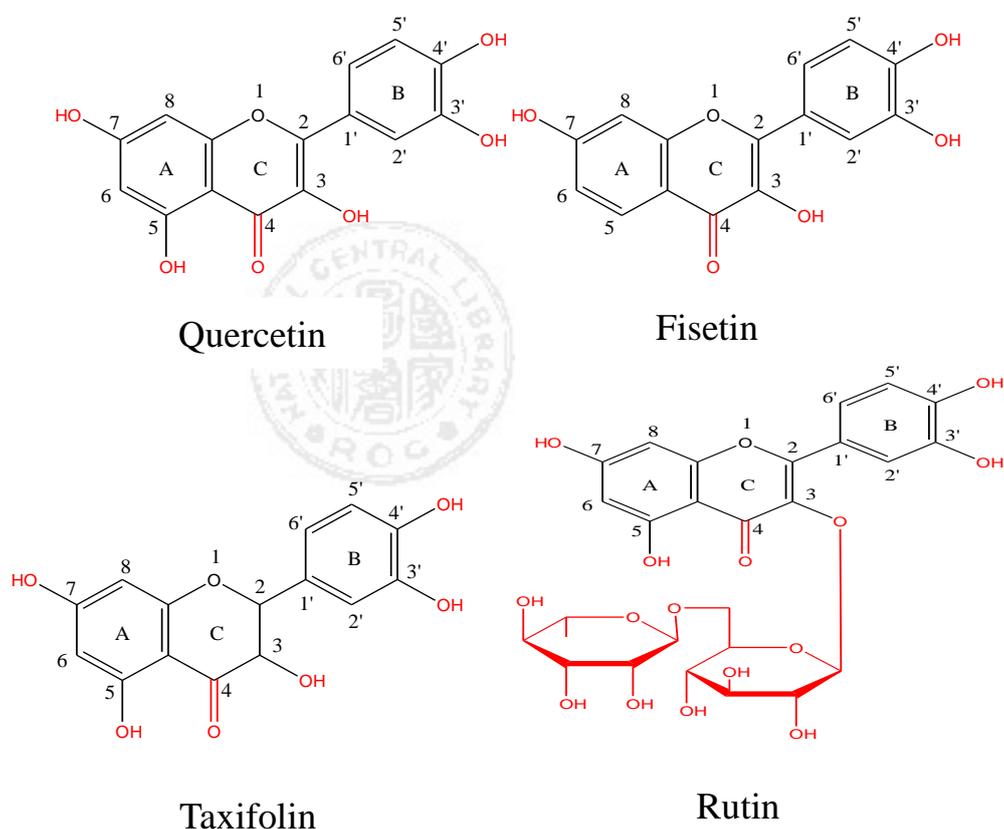


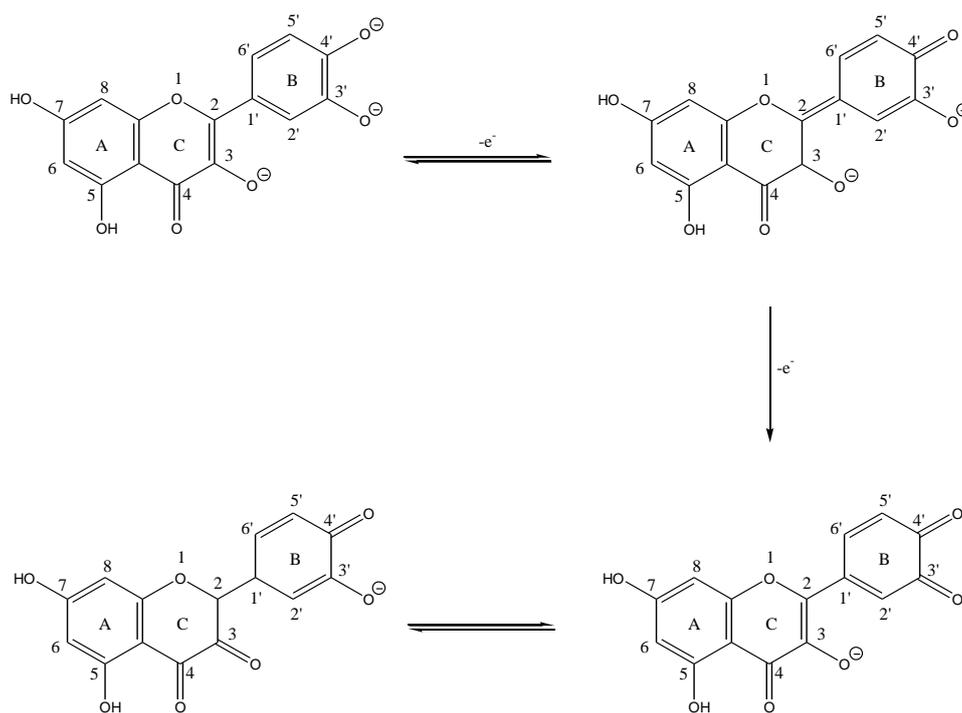
Figure 22. $[H^+] = 0.02 - 0.10 \text{ M}$, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzCH}_3)^{4+}$ 錯合物
與 fisetin 反應之 (a) k vs. $[H^+]$ 作圖 (b) k vs. $1/[H^+]$ 作圖

第四章、討論

過去在探討 quercetin 的氧化反應時，我們發現 quercetin 在水溶液中溶解度很低，無法探討與過度金屬錯合物的反應，直到最近我們發現在鹼性溶液中 quercetin 可完全溶解²⁹，因而再度引起我們的興趣，但吸收光譜的結果卻顯示，quercetin 在鹼性溶液中 ($[\text{OH}^-] = 0.01 \text{ M}$) 極不穩定，光譜吸收變化快速²⁸，此不尋常的現象究竟是 quercetin 本身在鹼性溶液中不穩定，或只是對空氣敏感所引起，為此之故，我們嘗試量測 quercetin 在絕氧狀態的光譜，結果發現吸收光譜相當穩定，但一旦暴露於空氣中時，quercetin 的吸收迅速消失，而 quinone 吸收開始生成，直至最後反應完全，光譜不再改變為止⁵¹。為了進一步確定 quercetin 在鹼性條件下的氧化活性是 quercetin 特有的性質或是一般 flavonoids 的通性，我們同時探討 fisetin、rutin 及 taxifolin 在相同條件的氧化反應，結果顯示 fisetin 與 quercetin 結果一致；而 rutin 及 taxifolin 兩者在鹼性條件下相當穩定，進一步的機構探討，我們發現造成如此大差異的原因，主要可能來自結構上的不同⁵¹。由於鹼性條件下，所有酚基皆已去質子化，quercetin 與 fisetin 的 catechol 環與 pyrone 環之 $\text{C}_2\text{-C}_3$ 鍵成共軛關係，當 C_3 上酚基去質子化後，其氧上未配位電子對電子雲密度增加，可藉共軛效應而

delocalize 至 catechol 環，大幅增加了 catechol 環上的電子密度，使得 B 環容易被氧化。不僅如此，氧化產物可藉 tautomerization (scheme IV) 而增加穩定性，趨使反應容易進行。反觀 rutin，雖有 B 環與 C 環的共軛，但由於 C₃ 上接有極大的 rutinose 基團，使得氧上的電子密度並未受影響，catechol 環上電子密度也未因此大幅增加，而且 rutin 氧化後之 quinone 產物並無 tautomerization 之穩定性，因此對氧化反應速率影響並不大。Taxifolin C₂-C₃ 為單鍵，無法與 catechol 環共軛，雖然 C₃ 上之酚基已去質子化，但其氧上之未配位電子對仍停留在 C₃ 上，無法藉共軛 delocalize 至 catechol 環，因此對反應速率不造成影響。





Scheme IV

為了確認是否為結構不同所造成 quercetin 反應活性的必要條件，引起我們探討 fisetin 氧化反應的興趣，當 fisetin 在絕氧條件下，溶於 0.01 M NaOH 時，吸收光譜相當穩定，在 24 小時內吸收維持不變如 Fig. 23(a) 所示，但將溶液暴露於空氣中時，fisetin 之 235 nm、281 及 420 nm 吸收迅速消失，相對地在 330 nm 另有新的吸收跟著生成，同時在 $\lambda = 297$ 及 378 nm 處有兩個 isosbestic points，如 Fig. 23(b) 所示，直至最後吸收光譜不再變化為止，如 Fig. 23(c) 所示，與 quercetin 的觀測結果完全一致⁵⁰，為了確定此氧化現象究竟是僅限於對空氣的敏感，抑或 fisetin 本身容易被氧化，我們同時觀測以 Co(edta)^- 錯合物氧化 fisetin，結果發現光譜變化與以 O_2 之氧化相

似，如 Fig. 24 所示，顯示兩者氧化機制相同。為了進一步確認，我們同時探討 fisetin、quercetin 及 rutin 在 pH = 9-12 的氧化動力學，希望藉此求得 k_2 及 K_{a2} ，至目前為止尚未有關 fisetin 及 quercetin，catechol 環上 pK_{a1} 及 pK_{a2} 的文獻報導，所得結果列於 Table 7。

在 $[H^+] = 0.02 - 0.10$ M 條件下，fisetin 在 C_3 上 OH 官能基維持質子化狀態，因此未顯著增加 catechol 環上的電子密度，與 quercetin、rutin 及 taxifolin 相同，因此反應速率並無太大差異，quercetin、fisetin、rutin 及 taxifolin 之 k_0 值分別列於 Table 8。

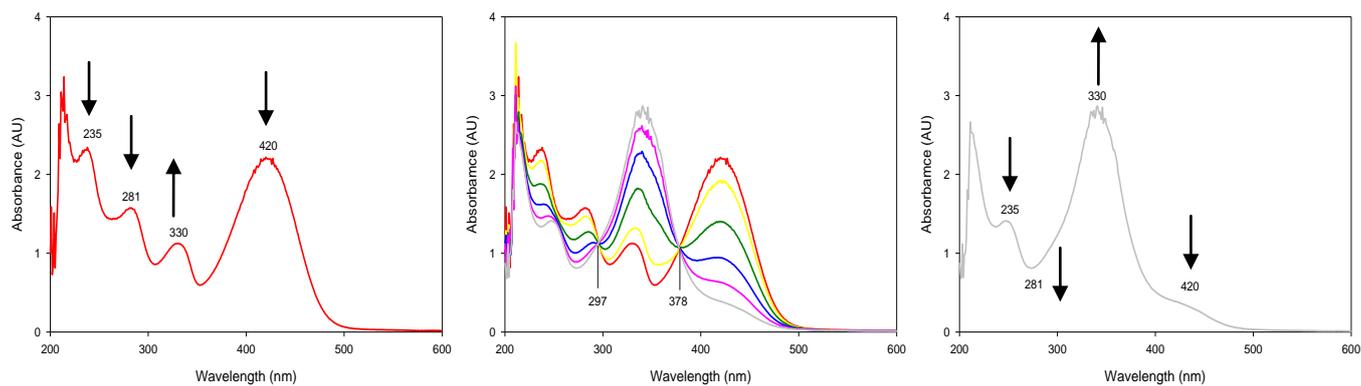


Figure 23. (a) fisetin 在絕氧狀態 (b) fisetin 與 O_2 氧化圖

(c) 最後 fisetin 氧化後狀態， $[NaOH] = 0.01 M$ ， $T = 25^\circ C$

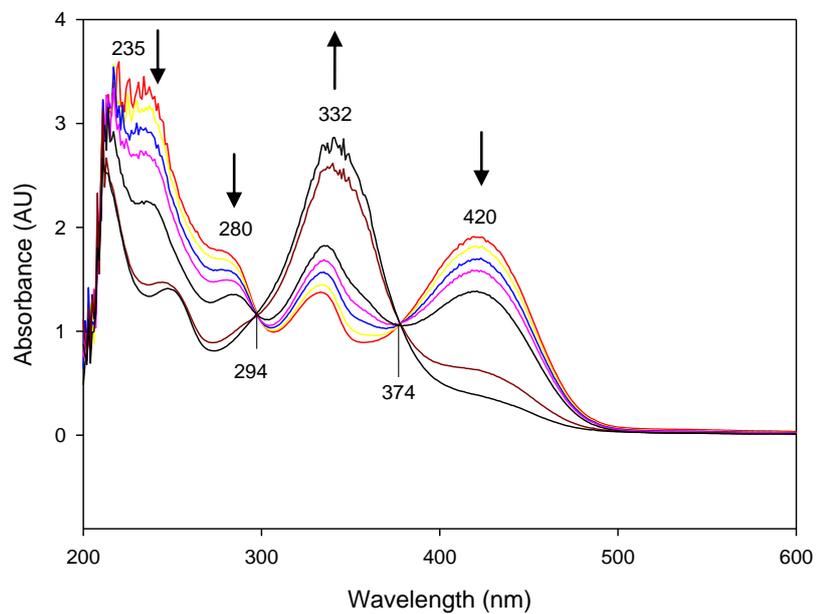


Figure 24. fisetin 與 $Co(edta)^-$ 錯合物氧化圖，

$[NaOH] = 0.01 M$ ， $T = 25^\circ C$

Table 7. Co(phen)₃³⁺、Co(edta)⁻ 錯合物之還原反應速率常數

flavonoids	Co(phen) ₃ ³⁺			Co(edta) ⁻	
	k ₁ , M ⁻¹ s ⁻¹	k ₂ , M ⁻¹ s ⁻¹	pK _{a2}	k ₂ , M ⁻¹ s ⁻¹	pK _{a2}
fisetin	(1.09 ± 0.04)×10 ⁴	(4.95±0.46)×10 ⁵	11.32	(1.49 ± 0.09)×10 ²	11.58
quercetin	(1.06 ± 0.01)×10 ⁴	(4.15±0.18)×10 ⁵	11.59	(4.60 ± 0.10)×10 ^{2a}	11.40 ^a
rutin		(4.47±0.11)	11.07 (11.04) ^b	(1.40 ± 0.10)×10 ^{-1a}	11.12 ^a

a. ref. 50

b. ref. 28

Table 8. Ru(NH₃)₅(pzCH₃)⁴⁺ 錯合物之還原反應

速率常數

flavonoids	k ₀ , M ⁻¹ s ⁻¹
quercetin	(3.5±0.40)×10 ^{2a}
rutin	(3.4±0.10)×10 ^{2a}
taxifolin	(2.84±0.08)×10 ^{2a}
fisetin	(3.01±0.10)×10 ²

a. ref. 50

由 Table 7 之結果可得知，fisetin、quercetin 分別與 Co(phen)₃³⁺ 及 Co(edta)⁻ 錯合物氧化所得 pK_{a2} 值相當接近，不僅如此，對 rutin 氧化所得 pK_{a2} 值與文獻值一致。取 Co(phen)₃³⁺、Co(edta)⁻ 錯合物氧化 fisetin 及 quercetin 所得 pK_{a2} 之平均值，分別為 11.45 及 11.50。

另外，我們發現以 Co(phen)_3^{3+} 錯合物氧化 fisetin 及 quercetin 所得之 k_2 值較氧化 rutin 所得的 k_2 值大了 5 個 order，而以 Co(edta)^- 錯合物為氧化劑，氧化 fisetin 及 quercetin 之 k_2 較 rutin 只大了 3 個 order，所以有此差異可能是由於電荷效應所引起，對 fisetin 及 quercetin 而言， C_3 及 catechol 環上酚基皆已去質子化，使得此兩 flavonoids 帶有 3- 電荷，因此與 Co(phen)_3^{3+} 錯合物反應根據 eq. (15)，離子對的形成乃 (3+, 3-) 之作用；而 rutin 在鹼性條件下，僅 catechol 環去質子化，使得 rutin 帶 2- 電荷，離子對形成乃 (3+, 2-) 之作用，因此 Co(phen)_3^{3+} -fisetin、quercetin 反應之 Q_{IP} 值大於 Co(phen)_3^{3+} -rutin 之反應。相反的，以 Co(edta)^- 為氧化劑，與 fisetin 及 quercetin 反應屬於 (1-, 3-) 作用；而 rutin 則為 (1-, 2-) 作用，與 rutin 反應所得 Q_{IP} 反較 fisetin 及 quercetin 為大，此 Q_{IP} 的影響也使得 $k_2(\text{fisetin, quercetin})/k_2(\text{rutin})$ 比值有如此大的差異。

第五章、結論

Fisetin、quercetin 及 rutin 在鹼性條件下皆進行雙電子的氧化，而形成 quinone 產物。

在酸性條件下，fisetin 在 C₃ 上 OH 官能基並未去質子化，因此 catechol 環上的電子密度不會增加，使得 k₀ 的值與其他 flavonoids 無明顯差異。

在鹼性溶液中，fisetin、quercetin 不論是以 Co(phen)₃³⁺ 或是 Co(edta)⁻ 錯合物作為氧化劑，反應速率 k₂ 值均遠較 rutin 為快，主要乃因酚基的去質子化及 pyrone 環與 catechol 環之間的共軛性，使 flavonoids 有高反應活性。

Co(phen)₃³⁺ 錯合物氧化 fisetin 及 quercetin 所得之 k₂ 值較氧化 rutin 所得的 k₂ 值大了 5 個 order，而以 Co(edta)⁻ 錯合物為氧化劑，氧化 fisetin 及 quercetin 之 k₂ 較 rutin 只大了 3 個 order，此差異並非 flavonoids 在不同氧化系統中，反應活性的差異，單純是由電荷效應所引起。

第六章、參考文獻

1. P. B. Lane, S. S. Gross, *Sci. and Med.* 8 (2002) 96.
2. J. Weaver, S. Porasuphatana, P. Tsai, G. L. Cao, T. A. Budzichowski, L. J. Roman, G. M. Rosen, *J. Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 302 (2002) 781.
3. P. Greenwald, C. K. Clifford, J. A. Milner, *Eur. J. Cancer.* 37 (2001) 948.
4. E. Cadenas, A. Boveris, C. I. Ragan, A. O. M. Stoppani, *Arc. Biochem. Biophys.* 180 (1997) 248.
5. F. Visioli, L. Borsani, C. Galli, *Cardiovascular Research.* 47 (2000) 419.
6. Y. H. Wei, H. C. Lee, *Oxidative stress and Mtdna Mutation in Aging.* (2002) 617.
7. B. Halliwell, *Chem. Phys. Lipids.* 44 (1987) 327.
8. J. M. McCord, I. Fridovich, *Free Rradic. Biol. Med.* 5 (1988) 363.
9. T. D. H. Bugg, *Tetrahedron.* 59 (2003) 7075.
10. L. M. Lin, M. H. Lien, A. Yeh, *Int. J. Chem. Kin.* 37 (2005) 126.
11. J.L. Svirbely, A. Szent- Györgyi, *Biochem. J.* 27 (1933) 279.
12. T. A. Geissman, *J. Am. Chem. Soc.* 62 (1940) 3258.
13. H. Arima, H. Ashida, G. Danno, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66 (2002) 1009.
14. L. Wang, Y. C. Tu, T. W. Lian, J. T. Hung, J. H. Yen, M. J. Wu, *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 9798.
15. C. Bosetti, M. Rossi, J. K. McLaughlin, E. Negri, R. Talamini, P. Lagiou, M. Montella, V. Ramazzotti, S. Franceschi, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 16 (2007) 98.
16. D. Grassi, C. Lippi, S. Necozione, G. Desideri, C. Ferri, *Am. J. Clin. Nutr.* 81 (2005) 611.
17. S. T. Francis, K. Head, P. G. Morris, I. A. Macdonald, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 47 (2006) S210-S214.
18. D. B. McPhail, R. C. Hartlry, P. T. Gardner, G. G. Duthie, *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 1684.
19. P. G. Pietta, *J. Nat. Prod.* 63 (2000) 1035.
20. J. P. Cornard, J. C. Merlin, *J. Inorg. Biochem.* 92 (2002) 19.
21. M. Bishnoi, K. Chopra, S. K. Kulkarni, *Fundam. Clin. Pharmacol.* 21 (2007) 521.

22. J. E. Brown, H. Khodr, R. C. Hider, C. A. Rice-Evans, *Biochem. J.* 330 (1998) 1173.
23. N. L. Jones, J. W. Reagan, M. C. Willingham, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20 (2000) 773.
24. J. L. Witztum, D. J. Steinberg, *J. Clin. Invest.* 88 (1991) 1785.
25. I. F. Cheng, K. Breen, *BioMetals.* 13 (2000) 77.
26. S. Caillet, H. Yu, S. Lessard, G. Lamouroux, D. Ajdukovic, M. Lacroix. *Food Chem.* 100 (2007) 542.
27. C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, G. Paganga, *Trends Plant Sci.* 2 (1997) 152.
28. J. Sung, K. S. Huang, T. J. Lai, Y. Y. Chen, C. Y. Lin, A. Yeh, D. Wu, *Inorg. Chem.* 47 (2008) 11361.
29. C. S. Yang, J. M. Huang, H. L. Newmark, *Annu. Rev. Nutr.* 21 (2001) 381.
30. P. Hollman, M. Hertog. M. Katan, *Food Chem.* 57 (1996) 43.
31. B. Havsteen, *Biochem. Pharmacol.* 32 (1983) 1141.
32. M. Chopra, P. E. Fitzsimons, J. J. Strain, D. I. Thurnham, A. N. Howard, *Clin. Chem.* 46 (2000) 1162.
33. M. A. Pereira, C. J. Grubbs, L. H. Barnes, H. Li, G. R. Olson, I. Eto, *Carcinogenesis.* 17 (1996) 1305.
34. J. Tang, J. Guo, J. Yuan, *LWT.* 41 (2006) 1060.
35. M. G. Hertog, P. C. Hollman, M. B. Katan, D. Kromhout, *Nutr. Cancer.* 20 (1993) 21.
36. R. Guo, P. Wei, W. Liu, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 43 (2007) 1580.
37. C. Creutz, H. Taube, *J. Am. Chem. Soc.* 95 (1973) 1086.
38. M. J. Akhtar, A. Haim, *Inorg. Chem.* 27 (1988) 1608.
39. H. E. Toma, J. M. Malin, *Inorg. Chem.* 12 (1973) 1039.
40. U. Furholz, A. Haim, *J. Phys. Chem.* 90 (1986) 3686.
41. C. H. Hung, H. Y. Hung, J. Y. Liao, A. Yeh, *Inorg. Chem.* 29 (1990) 2940.
42. H. Y. Hung, W. J. Chen, C. C. Yang, A. Yeh, *Inorg. Chem.* 30 (1991) 1862.
43. M. H. Chen, S. Lee, S. Liu, A. Yeh, *Inorg. Chem.* 35 (1996) 2627.
44. C. N. Chen, M. C. Wu, A. Yeh, Thomas Y. R. Tsai, *Inorg. Chim. Acta.* 267 (1998) 81.
45. B. R. Baker, Fred Basolo, H. M. Neumann. *J. Phys. Chem.* 63 (1959) 371.
46. A. A. Schilt, R. C. Taylor. *J. Inorg. Nucl. Chem.* 9 (1959) 211.

47. L. H. Vogt, J. L. Katz, S. E. Wiberley, *Inorg. Chem.* 4 (1965) 1157.
48. A. I. Potapovich, V. A. Kostyuk, *Biochemistry.* 68 (2003) 514.
49. R. Farina, R. G. Wilkins, *Inorg. Chem.* 7 (1968) 514.
50. 東海大學化學系, 陳緯霖碩士論文.
51. L. M. Lin, H. Y. Wu, W. S. Li, W.L. Chen, Y. J. Lee, D. C. Wu, P. Li, A. Yeh, *Inorganic Chemistry Communications.* 13 (2010) 633.

附錄一

Table A 1. pH = 10.03-11.86 , Co(edta)⁻ 錯合物與 fisetin 氧化反應之 k_{obs}

pH	Co(edta) ⁻ , M	$k_{\text{obs}}, \text{s}^{-1}$	pH	Co(edta) ⁻ , M	$k_{\text{obs}}, \text{s}^{-1}$
10.03	1.00E-03	7.51E-03	10.67	1.00E-03	3.14E-02
	1.52E-03	1.12E-02		1.51E-03	4.90E-02
	2.03E-03	1.51E-02		2.02E-03	6.66E-02
	2.51E-03	2.07E-02		2.51E-03	8.36E-02
10.20	1.00E-03	1.04E-02	10.81	9.90E-04	4.33E-02
	1.49E-03	1.54E-02		1.51E-03	6.46E-02
	2.00E-03	2.12E-02		2.01E-03	8.39E-02
	2.50E-03	2.89E-02		2.50E-03	1.12E-01
10.29	1.01E-03	1.29E-02	10.95	1.02E-03	5.65E-02
	1.50E-03	1.94E-02		1.50E-03	8.31E-02
	2.01E-03	2.82E-02		2.00E-03	1.13E-01
	2.51E-03	3.65E-02		2.51E-03	1.47E-01
10.46	1.00E-03	1.90E-02	11.10	1.01E-03	7.36E-02
	1.51E-03	2.84E-02		1.51E-03	1.08E-01
	2.01E-03	4.03E-02		2.00E-03	1.45E-01
	2.51E-03	5.14E-02		2.52E-03	1.88E-01
10.54	9.99E-04	2.44E-02	11.22	1.01E-03	9.23E-02
	1.50E-03	3.89E-02		1.51E-03	1.35E-01
	2.00E-03	5.16E-02		2.01E-03	1.80E-01
	2.51E-03	7.01E-02		2.50E-03	2.31E-01

 $\mu = 0.10 \text{ M LiClO}_4$, T = 25°C

pH	Co(edta) ⁻ , M	k_{obs} , s ⁻¹	pH	Co(edta) ⁻ , M	k_{obs} , s ⁻¹
11.34	1.01E-03	1.61E-01	11.61	1.01E-03	2.34E-01
	1.52E-03	2.46E-01		1.50E-03	3.46E-01
	2.01E-03	3.19E-01		2.00E-03	4.37E-01
	2.51E-03	3.89E-01		2.51E-03	5.56E-01
11.49	1.03E-03	2.01E-01	11.86	1.00E-03	2.46E-01
	1.50E-03	2.96E-01		1.51E-03	3.62E-01
	2.01E-03	3.97E-01		2.02E-03	4.64E-01
	2.50E-03	4.92E-01		2.51E-03	6.18E-01

$\mu = 0.10 \text{ M LiClO}_4$, $T = 25^\circ\text{C}$

Table A 2. pH = 9.37-10.76 , Co(phen)₃³⁺ 錯合物與 fisetin 氧化反應之 k_{obs}

pH	Co(phen) ₃ ³⁺ , M	k_{obs} , s ⁻¹	pH	Co(phen) ₃ ³⁺ , M	k_{obs} , s ⁻¹
9.37	5.03E-04	1.96	10.23	5.00E-04	3.15
	1.00E-03	2.63		1.00E-03	3.85
	1.50E-03	3.28		1.50E-03	4.18
	2.00E-03	3.57		2.00E-03	4.33
	2.50E-03	3.78		2.50E-03	4.49
9.53	5.00E-04	2.24	10.41	5.02E-04	3.43
	1.00E-03	2.95		1.00E-03	4.19
	1.50E-03	3.41		1.50E-03	4.55
	2.00E-03	3.70		2.00E-03	4.64
	2.50E-03	3.93		2.50E-03	4.85
9.78	5.02E-04	2.77	10.61	5.00E-04	3.73
	1.00E-03	3.39		1.00E-03	4.38
	1.50E-03	3.69		1.50E-03	4.59
	2.00E-03	3.97		2.00E-03	4.78
	2.50E-03	4.11		2.50E-03	4.91
10.00	5.01E-04	2.88	10.76	5.01E-04	4.71
	1.00E-03	3.57		1.00E-03	5.31
	1.50E-03	3.92		1.50E-03	5.52
	2.00E-03	4.08		2.00E-03	5.68
	2.50E-03	4.26		2.50E-03	5.73

 $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$, T = 25°C

Table A 3. pH = 10.80-12.00 , Co(phen)₃³⁺ 錯合物與 fisetin 氧化反應之 k_{obs}

pH	Co(phen) ₃ ³⁺ , M	k_{obs} , s ⁻¹	pH	Co(phen) ₃ ³⁺ , M	k_{obs} , s ⁻¹
10.80	1.01E-04	2.71	11.36	1.02E-04	14.80
	2.02E-04	3.44		2.00E-04	20.00
	3.03E-04	3.88		3.02E-04	23.30
	4.02E-04	4.15		4.00E-04	25.40
	5.02E-04	4.30		5.00E-04	26.90
10.95	1.02E-04	6.62	11.70	1.03E-04	21.00
	2.01E-04	8.59		2.00E-04	30.70
	3.02E-04	9.36		3.01E-04	35.30
	4.03E-04	9.69		4.00E-04	38.20
	5.00E-04	9.93		5.00E-04	40.20
11.16	1.02E-04	9.65	12.00	1.01E-04	53.60
	2.00E-04	12.30		2.00E-04	68.70
	3.02E-04	13.80		3.03E-04	73.90
	4.00E-04	14.80		4.03E-04	77.10
	5.00E-04	15.30		5.00E-04	79.80

 $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$, T = 25°C

Table A 4. pH = 9.07-10.80, Co(phen)₃³⁺ 錯合物與 quercetin 氧化反應之 k_{obs}

pH	Co(phen) ₃ ³⁺ , M	k_{obs} , s ⁻¹	pH	Co(phen) ₃ ³⁺ , M	k_{obs} , s ⁻¹
9.07	5.01E-04	1.80	10.00	5.00E-04	2.09
	1.00E-03	2.20		1.00E-03	2.51
	1.50E-03	2.46		1.50E-03	2.69
	2.00E-03	2.54		2.00E-03	2.81
	2.50E-03	2.70		2.50E-03	2.92
9.38	5.02E-04	1.87	10.22	5.00E-04	2.19
	1.00E-03	2.26		1.00E-03	2.66
	1.50E-03	2.53		1.50E-03	2.87
	2.00E-03	2.60		2.00E-03	2.99
	2.50E-03	2.73		2.50E-03	3.09
9.53	5.01E-04	1.91	10.57	5.01E-04	2.35
	1.00E-03	2.36		1.00E-03	2.78
	1.50E-03	2.56		1.50E-03	3.02
	2.00E-03	2.65		2.00E-03	3.16
	2.50E-03	2.76		2.50E-03	3.24
9.85	5.00E-04	2.02	10.80	1.02E-04	0.95
	1.00E-03	2.41		2.01E-04	1.32
	1.50E-03	2.61		3.02E-04	1.49
	2.00E-03	2.74		4.00E-04	1.59
	2.50E-03	2.80		5.01E-04	1.71

 $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$, T = 25°C

Table A 5. pH = 11.10-12.00 , Co(phen)₃³⁺ 錯合物與 quercetin 氧化反應之 k_{obs}

pH	Co(phen) ₃ ³⁺ , M	k_{obs} , s ⁻¹	pH	Co(phen) ₃ ³⁺ , M	k_{obs} , s ⁻¹
11.10	1.03E-04	2.59	11.60	1.01E-04	11.40
	2.02E-04	3.15		2.02E-04	15.20
	3.01E-04	3.42		3.03E-04	17.40
	4.00E-04	3.54		4.00E-04	18.20
	5.01E-04	3.63		5.00E-04	19.10
11.03	1.03E-04	3.85	11.70	1.03E-04	13.60
	2.01E-04	6.01		2.00E-04	19.90
	3.01E-04	7.37		3.03E-04	23.10
	4.02E-04	8.53		4.00E-04	25.70
	5.00E-04	9.25		5.00E-04	27.20
11.23	1.01E-04	5.80	12.00	1.01E-04	28.70
	2.02E-04	6.98		2.01E-04	36.50
	3.01E-04	7.50		3.01E-04	40.50
	4.00E-04	7.81		4.00E-04	43.80
	5.00E-04	8.11		5.00E-04	45.50
11.40	1.02E-04	6.61			
	2.01E-04	8.62			
	3.01E-04	9.67			
	4.00E-04	10.40			
	5.01E-04	10.90			

 $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$, $T = 25^\circ\text{C}$

Table A 6. pH = 11.10-12.00 , Co(phen)₃³⁺ 錯合物與 quercetin 氧化反應之 k_{obs}

pH	Co(phen) ₃ ³⁺ , M	k_{obs} , s ⁻¹	pH	Co(phen) ₃ ³⁺ , M	k_{obs} , s ⁻¹
10.25	1.01E-03	2.59	11.00	1.00E-03	11.40
	1.50E-03	3.15		1.50E-03	15.20
	2.02E-03	3.42		2.00E-03	17.40
	2.50E-03	3.54		2.50E-03	18.20
10.56	1.02E-03	5.80	12.11	1.00E-03	13.60
	1.51E-03	6.98		1.50E-03	19.90
	2.00E-03	7.50		2.00E-03	23.10
	2.50E-03	7.81		2.50E-03	25.70

 $\mu = 0.10 \text{ M LiCl}$, T = 25°C**Table A 7.** [H⁺] = 0.02 – 0.10 M , Ru(NH₃)₅(pzCH₃)⁴⁺ 錯合物與 fisetin還原反應之 k_{obs}

[H ⁺]	[Fisetin], M	k_{obs} , s ⁻¹	[H ⁺]	[Fisetin], M	k_{obs} , s ⁻¹
0.02	3.07E-04	14.2	0.08	3.00E-04	6.57
	6.01E-04	25.2		6.11E-04	11.7
	9.01E-04	36.5		9.01E-04	16.3
	1.21E-03	50.0		1.21E-03	22.2
0.05	3.00E-04	7.20	0.10	3.00E-04	6.64
	6.11E-04	13.9		6.01E-04	11.0
	9.01E-04	20.4		9.05E-04	16.5
	1.21E-03	27.0		1.21E-03	21.5

 $\mu = 0.10 \text{ M LiClO}_4$, T = 25°C