

红光诱导菠菜叶提取物催化对羟基苯甲腈的绿色合成 ——药学类本科生新创实验的研究与探索

曹陶, 房方*, 李念光, 张毅楠, 詹其琛

南京中医药大学药学院, 南京 210023

摘要: 在现代有机化学合成反应中, 光照是一种重要的反应条件, 但是在现行的有机化学实验教材中很少涉及。本新创实验采用微量化方法, 借鉴自然界中的光合作用原理, 尝试利用可见光红光诱导菠菜叶中的叶绿素, 催化对氰基苯硼酸与空气中的氧气发生氧化反应合成对羟基苯甲腈。在校有机化学实验教学中引入该综合实验, 具有如下优点: (1) 所用催化剂绿色环保、简单易得, 合成过程安全可靠, 实验成本低; (2) 微量化实验有利于减少环境污染, 提高实验安全, 节省试剂和时间, 减少仪器损耗, 有利于培养学生严谨细致的实验作风和习惯; (3) 在拓宽学生的知识面和眼界的同时, 激发学生的学习兴趣, 调动学生的学习积极性。

关键词: 菠菜叶; 叶绿素; 红光; 对羟基苯甲腈; 绿色合成

中图分类号: G64; O6

Green Synthesis of *p*-Hydroxybenzointrile Catalyzed by Spinach Extracts under Red-Light Irradiation: Research and Exploration of Innovative Experiments for Pharmacy Undergraduates

Tao Cao, Fang Fang*, Nianguang Li, Yinan Zhang, Qichen Zhan

College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China.

Abstract: Visible light irradiation is a crucial factor in modern synthetic organic chemistry, yet it is often overlooked in undergraduate organic experiment textbooks. This innovative experiment introduces a microscale approach, inspired by the principles of photosynthesis, to catalyze the oxidation of *p*-cyanophenylboronic acid to *p*-hydroxybenzointrile using extracts from spinach leaves under red-light irradiation. The incorporation of this comprehensive experiment into our school's organic chemistry laboratory teaching offers several advantages: (1) The environmentally friendly catalyst is easily accessible, and the synthesis process is safe and reliable with low experimental costs. (2) Microscale experiments contribute to reducing environmental pollution, enhancing laboratory safety, saving reagents and time, minimizing instrument wear and tear, and fostering students' meticulous experimental style and habits. (3) Beyond expanding students' knowledge and horizons, this experiment also ignites their interest in learning and boosts their learning enthusiasm.

Key Words: Spinach leaves; Chlorophyll; Red light; *p*-Hydroxybenzointrile; Green synthesis

收稿: 2023-09-28; 录用: 2024-01-15; 网络发表: 2024-02-26

*通讯作者, Email: fylfh@163.com

基金资助: 2021年度南京中医药大学药学院课程思政示范项目(2021KCSZ008); 2022年度南京中医药大学本科教育教学改革研究课题重点项目(NZYJG2022012); 江苏高校品牌专业建设工程资助项目(PPZY2015A070)

1 引言

习近平总书记在党的二十大报告中指出,推动绿色发展,促进人与自然和谐共生^[1]。因此,在有机合成实验中提倡绿色合成,对环境保护及社会的可持续发展是具有重大意义的。

在现代有机合成反应中,光照是一种重要的反应条件,但是在现行的有机化学实验教材中很少涉及^[2,3]。由于可见光是一种简单易得、来源丰富、可再生的清洁能源,具有绿色环保、使用简便的特点。近年来,可见光催化已经被有效地应用于有机合成化学领域,取代其他高能耗和高污染的方法制备高附加值化合物^[4,5]。将光化学反应引入本科生有机化学实验教学,可以使本科生对有机化学学科前沿进展有所了解。然而,大多数光化学反应需要使用过渡金属络合物或有机染料作为光催化剂^[6,7]。这些结构复杂且不易得的催化剂不宜用于本科有机化学实验的教学。光合作用是自然界中最著名的化学反应之一,植物在太阳光和叶绿素作用下将二氧化碳和水转化为糖类,而叶绿素作为光合作用的光敏剂和催化剂具有储量丰富、绿色环保的特点。

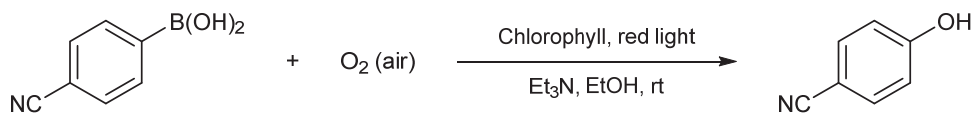
酚羟基是天然活性分子及药物分子中广泛存在的、最重要的有机官能团之一,工业上制备酚类化合物的主要方法是苯磺酸盐碱熔法、卤代芳烃水解法和异丙苯法^[8],这些方法条件苛刻、危险性大、设备要求高,难以引入本科实验教学。因此,绿色、新型、高效的酚羟基合成方法一直是有机合成领域的重要需求。

本新创实验利用菠菜叶中的叶绿素作为光敏剂,在可见光红光催化下,采用微量实验,使对氰基苯硼酸与空气中的氧气反应生成对羟基苯甲腈。在本科有机化学实验教学中引入该实验,具有如下优点:(1)本实验所用催化剂为可见光红光以及菠菜叶中的叶绿素,氧化剂则来源于空气中的氧气,反应条件为室温,由此可见,本实验所用催化剂绿色环保、简单易得,合成过程安全可靠,实验成本低。(2)微量实验有利于减少环境污染,提高实验安全,节省试剂和时间,减少仪器损耗,培养学生严谨细致的实验作风和习惯,这已经成为当代化学实验教学的发展趋势和潮流。(3)将光化学反应引入本科生有机化学实验教学,可以使本科生对有机化学学科前沿进展有所了解,拓宽学生的知识面和眼界。区别于传统的有机合成方法,催化剂来源于日常生活,使实验具有较高的趣味性,可激发学生的学习兴趣和积极性。

2 实验部分

近年来可见光诱导的有机合成反应取得了长足发展,这些反应对光能的利用主要集中于能量较高的蓝光^[9]。叶绿素对可见光中的红橙光和蓝紫光都有强烈吸收。相比于蓝光,在有机合成中使用低能量的红光具有如下优点:(1)更好的生物体穿透性;(2)避免高能光源引发的副反应;(3)实验操作过程中对人眼更为友好。

本实验采用菠菜叶乙醇提取物中的叶绿素作为光敏剂,利用其对680 nm的红光的强吸收诱导光化学氧化反应,使对氰基苯硼酸与空气中的氧气反应制备对羟基苯甲腈:



反应机理如图1所示。叶绿素(Chl)在红光的激发下,给出一个电子变成叶绿素正离子自由基(I),氧气得到一个电子变成负离子自由基(II);随后,氧气负离子自由基II与对氰基苯硼酸结合,生成中间体III。另一方面,叶绿素正离子自由基I从三乙胺中得到一个电子,重新回到叶绿素分子,而三乙胺转化为正离子自由基(IV)。正离子自由基IV将中间体III还原,生成中间体V,随之发生重排生成中间体VI。中间体VI发生水解反应最终得到产物对羟基苯甲腈。

2.1 试剂和仪器

本实验所用主要试剂和材料如表1所示,所用主要仪器如表2所示。

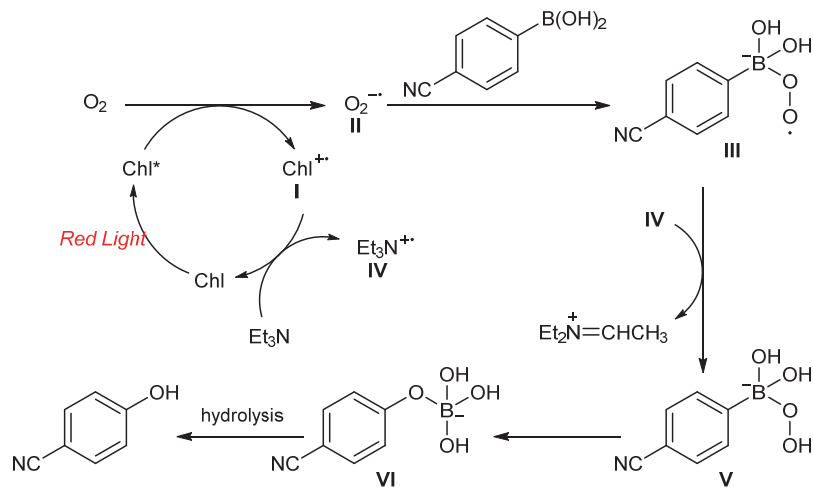


图1 反应机理

表1 主要试剂和材料

名称	纯度或规格	品牌或生厂商
新鲜菠菜	-	-
对氰基苯硼酸	98%	上海阿达玛斯(上海)
无水乙醇	分析纯	国药集团化学试剂有限公司(上海)
石油醚	60-90 °C, 分析纯	国药集团化学试剂有限公司(上海)
乙酸乙酯	分析纯	国药集团化学试剂有限公司(上海)
硅胶	200-300目	青岛海洋化工有限公司
氘代氯仿	99%	阿达玛斯(上海)
溴化钾	99.9%, 光谱纯	阿达玛斯(上海)
硅胶薄层析板	0.2-0.25 mm	青岛海洋化工有限公司

表2 主要仪器

仪器	型号	品牌
红光反应器	4孔红光反应器	格奥化学(武汉)
磁力搅拌器	RH digital	艾卡(德国)
旋转蒸发器	N-1300	东京理化(日本)
紫外分析仪	ZF-20D	上海光豪分析仪器有限公司
熔点仪	WRS-2	仪电物光(上海)
核磁共振仪	AVANCE III 500	布鲁克(德国)
红外光谱仪	NICOLET iS5	赛默飞(美国)

2.2 实验步骤

2.2.1 从菠菜中提取叶绿素

称取10 g新鲜菠菜叶，放入研钵中，加少量(3-5 mL)无水乙醇研磨。研磨完毕后向研钵中加入50 mL无水乙醇，静置10 min后抽滤，即得滤液，旋干滤液，可得含有叶绿素的菠菜叶提取物。

2.2.2 产品的合成

在厚壁反应管中加入磁子，称取0.294 g (2 mmol)对氰基苯硼酸加入反应管，用10 ml乙醇分三次

将旋干后的菠菜叶提取物转移至反应管中，再用移液枪量取280 μL 三乙胺加入反应管中。将反应管置于红光反应器中，敞口搅拌。利用硅胶薄层层析板观察反应的进程并确定反应是否已经达到终点，反应约3 h。

2.2.3 产品的分离

反应结束后，将反应液转移至圆底烧瓶，用少量乙酸乙酯荡洗反应管三次，荡洗液合并至圆底烧瓶。再向圆底烧瓶中加入适量硅胶，旋干，即得吸附产品的硅胶，备用。

在30 cm \times 3.0 cm的具砂芯玻璃层析柱中，湿法或干法装柱，加入硅胶，硅胶柱高约10 cm。将吸附产品的硅胶倒入层析柱中，再铺一层石英砂，用3 : 1石油醚-乙酸乙酯(体积比)作洗脱剂，用试管接洗脱液，利用硅胶薄层层析板监测产品的出现。合并含有产品的洗脱液，旋干，称重，计算产率。

2.2.4 产品的分析

制备熔点毛细管，测定产品的熔点。

取约10 mg产品于25 mL茄形瓶中，加入约0.5 mL氘代氯仿溶解，用胶头滴管转移至核磁管中，用核磁共振仪表征产品的氢核磁共振谱。

将1–2 mg样品与200 mg光谱纯溴化钾置于玛瑙研钵中研磨均匀，然后将混合物压片，将制备好的样品置于红外光谱仪上，表征产品的红外光谱。

3 结果与讨论

3.1 菠菜叶提取物的制备

实验曾尝试使用破壁机和研钵两种方式处理菠菜叶。当使用破壁机时，得到的碎菠菜叶十分细腻，将其用乙醇浸泡后，无论常压过滤，还是减压抽滤，均会堵塞滤纸，造成过滤困难。同时，使用破壁机处理菠菜叶时，会导致菠菜叶中的水分过多析出，接下来乙醇浸提后很难旋干。

当使用研钵手动研磨菠菜叶时，得到的碎片较大，乙醇浸提后可以很顺利地进行减压抽滤。同时，手动研磨所析出的水分较少，提取物容易旋干。虽然使用破壁机可以将叶绿素提取的更完全，但从适合本科实验时间经济性的角度考虑，本实验采用研钵手动研磨菠菜叶提取叶绿素的方法更合适。

3.2 提取溶剂的考察

在选择叶绿素的提取溶剂时，需要综合考虑溶剂的绿色环保、安全性、提取效率、经济性等因素。有机化学实验室常用的溶剂有石油醚、乙酸乙酯、乙醇和二氯甲烷等。二氯甲烷对环境污染较大且有很强的毒性，不符合绿色化学的理念；当使用石油醚浸泡研磨好的菠菜叶时，有机层显无色透明，表明石油醚无法溶解叶绿素；乙酸乙酯和乙醇对叶绿素的溶解性较好，这两种溶剂均符合绿色环保的理念，且对人体毒性较小，因此实验重点考察了这两种溶剂提取叶绿素催化对氰基苯硼酸氧化的产率，如表3所示。

表3 不同溶剂提取叶绿素催化对氰基苯硼酸氧化的产率

实验序号	产率/%	
	乙酸乙酯	乙醇
1	29	67
2	34	65
3	30	64
平均	31	65

由表3可知, 由乙酸乙酯提取叶绿素催化反应, 产品的产率只有29%–34%; 而使用乙醇提取叶绿素催化反应, 得到的产率为64%–67%。表明乙醇对叶绿素的提取效果更好, 且本实验具有较好的可操作性和可重复性。

3.3 产品的表征

所得产品经熔点仪测定熔点为109.6–110.3 °C, 与文献值吻合较好^[10], 表明合成的产品纯度较高。

产品的氢核磁共振谱图如图2所示, 可以清晰地指认出两组芳基氢: 7.55 (d, $J = 10.0$ Hz, 2H, ArH), 6.92 (d, $J = 10.0$ Hz, 2H, ArH) 和一个羟基氢(6.32 (s, 1H, OH))。

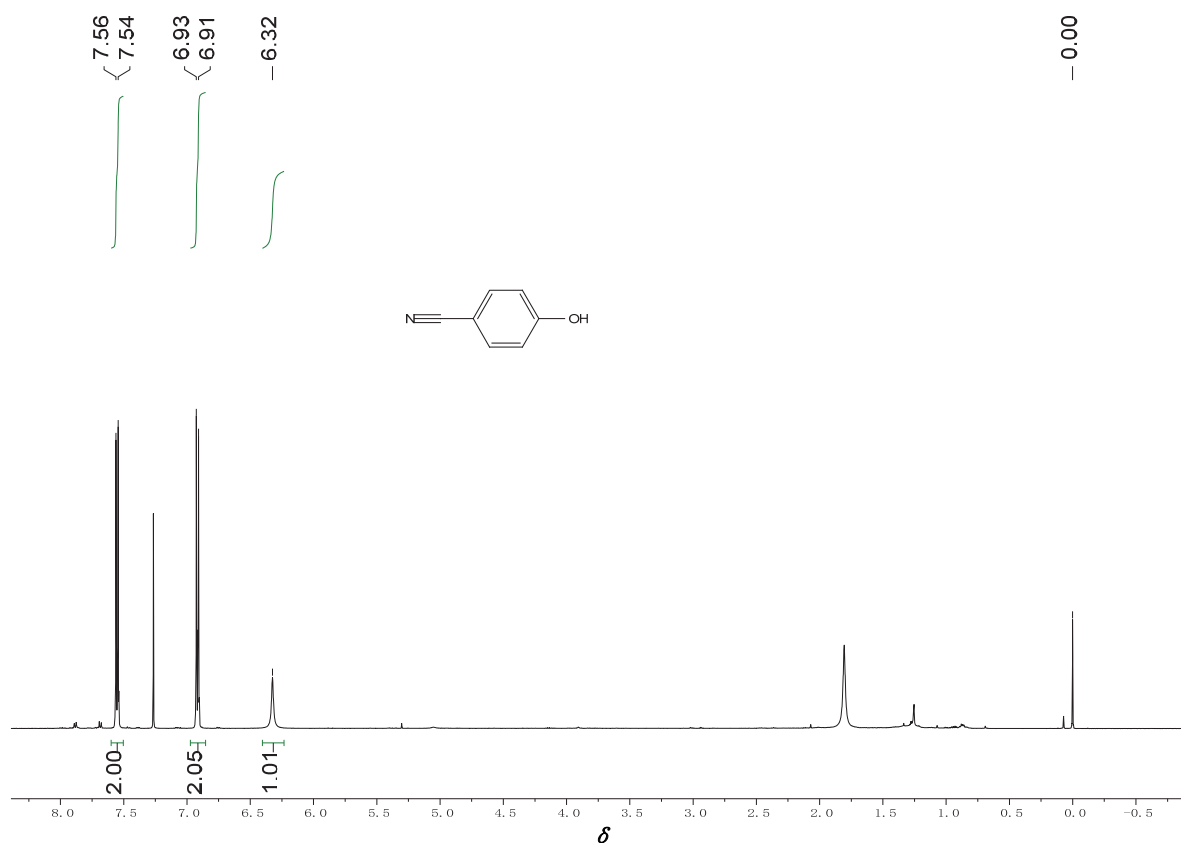


图2 对羟基苯甲腈的氢核磁共振谱图

产品的红外光谱图如图3所示, 羟基的伸缩振动峰(3289 cm^{-1})、氰基的伸缩振动峰(2233 cm^{-1})清晰可见。综上所述, 本实验的产品结构无误, 且纯度较高。

3.4 讨论

可见光诱导苯硼酸衍生物经空气氧化制备酚类化合物的研究已有很多, 使用的催化剂有过渡金属配合物光敏剂、有机小分子光敏剂、超分子光敏剂等。这些催化剂价格昂贵, 结构复杂, 不适于本科有机化学实验的教学。

2022年, 有文献报道使用分离纯化的叶绿素可以催化此类反应的发生^[11]。实验将菠菜叶打碎后使用柱层析分离出纯净的叶绿素, 再将叶绿素用于催化硼酸的氧化反应。文献中使用0.2% (摩尔分数)的叶绿素作为催化剂, 反应24 h后可以以很高的产率得到酚类化合物。作为科研论文, 使用的催化剂用量低, 反应的产率高、选择性好是十分重要的考量点。但是作为本科实验教学, 需要注重实验方案的可操作性, 尤其要注重时间的合理性。由于产品的纯化这一步须用到柱层析分离, 若在提取叶绿素这一步也用柱层析分离, 则在一个教学实验中需要用到两次同样的操作, 从实验时间、耗

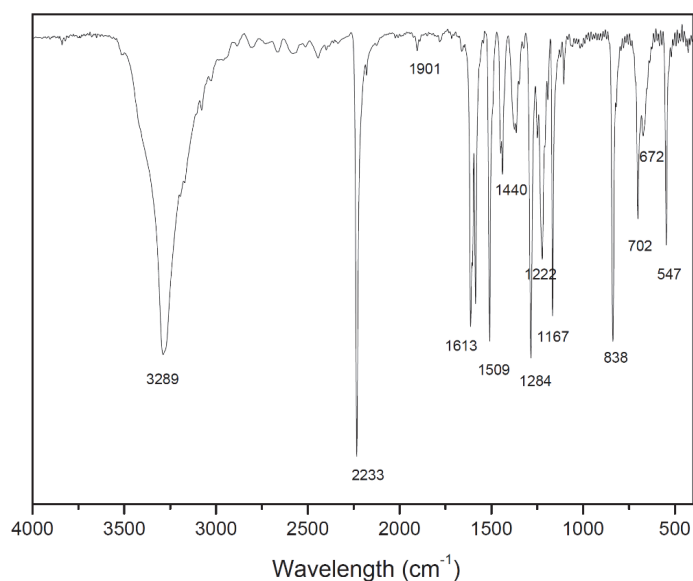


图3 对羟基苯甲腈的红外光谱图

材及学生掌握基础操作的角度而言并无必要。因此本新创实验将提取叶绿素这一步的柱层析省略，直接使用叶绿素乙醇提取物来催化反应。这些提取物里面除了含有叶绿素a、叶绿素b之外，还含有叶黄素、胡萝卜素等其他色素，以及菠菜叶中含有的其他有机物。实践证明，这些混合物也可以用于催化对氰基苯硼酸的氧化。同时，通过实践研究设计了一个操作性强的微量实验方案，反应时间约3 h，产率约65%。考虑不同学生实验能力差别，以40 min为1学时计算，整个实验所需时间在7 h以内，如表4所示，完全满足了本科有机化学实验的要求。

表4 实验流程及课时安排

1. 从菠菜中提取叶绿素	2. 产品的合成	3. 产品的分离	4. 产品的分析	总课时
1学时	5学时	2学时	2学时	10学时

4 结语

本新创实验成功实现了在红光诱导下，用菠菜叶的乙醇提取物催化对氰基苯硼酸的空气氧化，合成对羟基苯甲腈，其创新性如下：不同于传统的金属催化氧化和化学剂量氧化剂氧化导致的严重环境污染，本实验实现了酚羟基的绿色合成；所需实验试剂便宜易得，而微量实验既降低实验成本又节能减排，符合国家绿色发展理念；本实验条件及操作步骤简单，实验综合性强，实验过程稳定，反应产率较高，实验安全性高。同时，本新创实验立足将有机合成领域最新研究成果引入本科生实验教学，综合训练了本科生的有机合成能力。本实验所涉及到的基础操作包括研磨、固-液萃取、减压过滤、薄层层析、柱层析、旋转蒸发等；实验所得产品用熔点仪、核磁共振、红外光谱表征，训练了学生鉴定化合物和谱图解析的能力；而这些实验训练内容都是药学类本科生所必须的基本技能。

参 考 文 献

- [1] 习近平. 高举中国特色社会主义伟大旗帜为全面建设社会主义现代化国家而团结奋斗——在中国共产党第二十次全国代表大会上的报告. 人民日报, 2022-10-26 (02).

- [2] 兰州大学. 有机化学实验. 第4版. 北京: 高等教育出版社, 2017.
- [3] 吴美芳, 李琳, 等. 有机化学实验. 第1版. 北京: 科学出版社, 2013.
- [4] Cheung, K. P. S.; Sarkar, S.; Gevorgyan, V. *Chem. Rev.* **2022**, *122* (2), 1543.
- [5] Bellotti, P.; Huang, H.-M.; Faber, T.; Glorius, F. *Chem. Rev.* **2023**, *123* (8), 4237.
- [6] Romero, N. A.; Nicewicz, D. A. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (17), 10075.
- [7] Shaw, M. H.; Twilton, J.; MacMillan, D. W. C. *J. Org. Chem.* **2016**, *81* (16), 6898.
- [8] 陆涛. 有机化学. 第9版. 北京: 人民卫生出版社, 2022.
- [9] Cui, W. W.; Li, X. F.; Guo, G. J.; Song, X. Y.; Lv, J.; Yang, D. S. *Org. Lett.* **2022**, *24* (29), 5391.
- [10] Senecal, T. D.; Shu, W.; Buchwald, S. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52* (38), 10035.
- [11] Yan, P.; Zeng, R.; Bao, B.; Yang, X.-M.; Zhu, L.; Pan, B.; Niu, S.-L.; Qi, X.-W.; Li, Y.-L.; Ouyang, Q. *Green Chem.* **2022**, *24* (23), 9263.