

超分子化学在本科实验中的运用 ——六元瓜环对氨基苯酚同分异构体的新型分离方法

林文浩, 刘明, 杨茂霞, 张佳怡, 王成会*, 肖昕*

贵州大学化学与化工学院, 贵州省大环化学与超分子化学重点实验室, 贵阳 550025

摘要: 基于“厚基础, 宽专业, 大综合”的研究型实验教学思想, 本文在本科教学实验中融入超分子化学理论知识, 设计创新综合实验。选取六元瓜环为主体, 运用超分子自组装原理实现邻、间、对氨基苯酚同分异构体选择性梯度分离, 分离纯度分别达91.46%、94.16%、96.70%。整个实验中主要原料均可回收再利用, 充分体现了绿色化学理念。同时, 本实验使用多种化学实验的基本操作, 包含薄层色谱法、液相色谱法、红外光谱法等重要分析手段对目标产物进行分离进程监测、纯度分析与结构表征, 能够使学生结合基础理论知识解释实验原理、分析实验现象, 进一步提升学生的研究型素养和综合运用知识的能力。

关键词: 瓜环; 氨基苯酚; 同分异构体; 选择性梯度分离; 综合实验

中图分类号: G64; O6

Application of Supramolecular Chemistry in Undergraduate Laboratory: A New Method for Separation of Aminophenol Isomers by Cucurbit[6]uril

Wenhao Lin, Ming Liu, Maoxia Yang, Jiayi Zhang, Chenghui Wang*, Xin Xiao*

Key Laboratory of Macrocyclic and Supramolecular Chemistry of Guizhou Province, School of Chemistry and Chemical Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China.

Abstract: Based on the research-oriented laboratory teaching concept of “thick foundation, wide professional, and comprehensive”, this paper combines the theoretical knowledge of supramolecular chemistry and macrocyclic chemistry to design a new comprehensive experiment of selective gradient separation of *o*-, *m*-, *p*-aminophenol isomers with the purity of 91.46%, 94.16% and 96.70%, respectively, based on supramolecular self-assembly using cucurbit[6]uril as the host. All reagents can be recycled after the experiment, fully embodying the concept of green chemistry. This experiment involves TLC, LC, IR, and other important analytical methods to monitor the separation process, purity analysis, and structural characterization of the target product, which enables students to fully master basic theoretical knowledge, experimental principles, and learn to analyze experimental phenomena, thereby improving students’ research-oriented literacy and ability to comprehensively apply knowledge.

Key Words: Cucurbit[n]uril; Aminophenol; Isomeride; Separation method; Comprehensive experiment

1 引言

氨基苯酚同分异构体是一种重要的精细化工中间体, 可用于医药工业, 如制备扑热息痛等药物;

收稿: 2022-10-27; 录用: 2022-12-28; 网络发表: 2023-03-08

*通讯作者, Emails: gyhxxiaoxin@163.com (肖昕); chwang3@gzu.edu.cn (王成会)

基金资助: 贵州省大学生创新创业训练计划项目(202110657017); 贵州大学研究生课程思政示范课程项目(KCSZ2022033)

在染料工业中是生产毛皮染料、偶氮染料和酸性染料的中间体；在农药上，可用于一些杀虫剂的合成。

但氨基苯酚同分异构体由于理化性质十分相似，使得其分离困难。目前氨基苯酚同分异构体常见的分离方法有色谱法、水蒸气蒸馏法、结晶法等，这些方法都是常规的分离方法，创新性差，不适用于当前高校创新型人才的培养，因此需要寻找一种新型材料或新方法，用于氨基苯酚异构体的分离。

超分子化学是一门新型学科，主要研究两个或两个以上的分子通过分子间弱相互作用力聚集在一起形成复杂有序的超分子组装体。自1987年Pederson等超分子化学家获得诺贝尔化学奖以来，超分子化学进入了一个全新的发展领域。在分子识别与组装、分子器件、材料、催化和药物释放等领域具有潜在的应用前景。例如Chen等研究者^[1]使用杯芳烃为主体自组装的胶束装载姜黄素用于治疗三阴性乳腺癌，通过体外和体内实验表明该胶束能抑制人乳腺癌细胞BT-549的增殖、扩散和肿瘤球体的形成，并可抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长。Rahimi等团队^[2]设计合成两亲性杯芳烃修饰的Fe₃O₄磁性纳米粒，通过一系列实验表明该纳米粒能负载甲氨蝶呤用于治疗乳腺癌。因此，将超分子化学知识融于本科基础实验教学中，能够激发学生对超分子化学知识的兴趣，具有极其重要的意义。

瓜环(Cucurbit[*n*]urils, 简称Q[*n*]s或CB[*n*]s, 图1), 作为超分子化学中重要的大环主体化合物之一, 是由2*n*个亚甲基桥接*n*个甘脲单元形成的笼状化合物, 其具有疏水且刚性的特殊空腔, 2*n*个羰基均匀分布在两个开放的端口, 甘脲单元的数量也决定了疏水空腔和端口开口的尺寸^[3]。因其端口分布着高密度的羰基氧, 同时具有疏水性刚性空腔, 使得其能够根据自身空腔大小有效识别包结和其尺寸、形状相配分子, 通过分子间相互作用力形成超分子组装体^[4-19]。

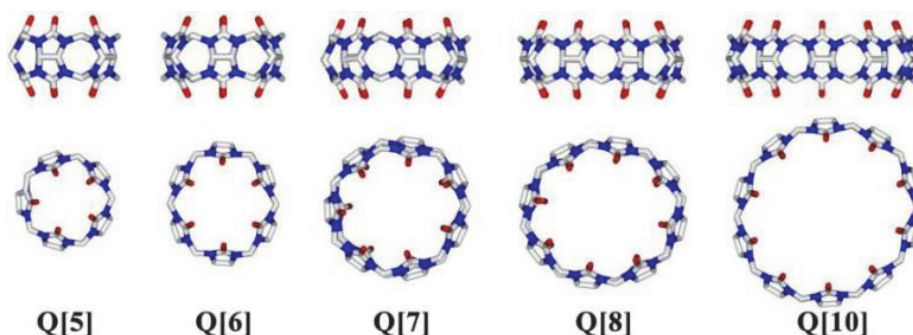


图1 *n*元瓜环的X射线晶体结构

*n*为5, 6, 7, 8, 10

因此, 本实验融入超分子化学与大环化学学科知识, 设计利用六元瓜环实现氨基苯酚同分异构体的选择性梯度分离实验。具有以下三个维度的教学意义:

(1) 学科知识方面。本实验运用了超分子自组装原理, 同时在分离产物的结构表征方面, 还包含了红外光谱法、液相色谱法、核磁共振等本科重要的基础表征手段, 让学生能够理解并掌握基础的超分子化学知识与仪器分析手段。

(2) 学科技能方面。实验涉及两大板块: ① 目标产物的分离, 包含多种基础有机实验操作(称量、溶解、超声震荡、减压抽滤、旋转蒸发、TLC等), 实验学时不超过4 h。② 分离产物的结构表征, 利用常用分析仪器及手段(核磁共振氢谱法、红外光谱法、液相色谱法、TLC法监测等)进行结果分析, 实验学时可根据不同分析仪器要求在2-5学时进行调整。整个实验通过灵活调整实验教学板块, 培养不同层次学生独立完成整个综合性实验的操作能力。

(3) 学科素养方面, 通过本实验不仅能让学生培养实验规范意识和安全意识, 了解化学学科前沿发展, 还能进一步拓宽学科知识交叉运用能力。

2 实验部分

2.1 实验原理

(1) 瓜环的刚性空腔与氨基苯酚同分异构体的位阻效应。

由于邻、间、对氨基苯酚在尺寸、形状上存在着差异，因此选择空腔大小与其分子尺寸和形状相匹配的Q[6]作为主体，使得邻、间、对氨基苯酚在进入Q[6]空腔的过程中受到的位阻大小不同^[20]。

(2) 瓜环端口羰基氧与氨基苯酚同分异构体形成氢键的作用位点差异性。

如图2所示，官能团的位置不同，氨基苯酚上N、O原子与瓜环端口羰基氧形成氢键的作用位点也不同。对氨基苯酚进入Q[6]后，形成的氢键合力点位于空腔中心，利于其在空腔中的稳定存在，间氨基苯酚次之，邻氨基苯酚合力点偏向单一端口，稳定性差不利于与Q[6]形成包结配合物。

在本次实验中，通过改变组装过程中的温度，在室温条件下对氨基苯酚能与六元瓜环形成包结物，而邻、间氨基苯酚无法形成包结物；当温度升高至60 °C，间氨基苯酚与六元瓜环形成包结物，此时邻氨基苯酚与六元瓜环无法形成包结物，处于瓜环端口，从而实现氨基苯酚同分异构体的选择性分离。

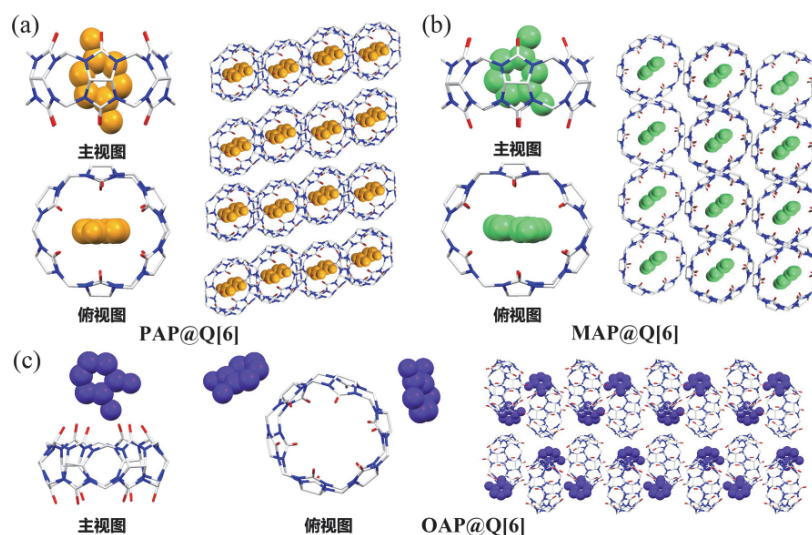


图2 邻、间、对氨基苯酚与六元瓜环形成组装的单晶结构图

OAP-邻氨基苯酚；MAP-间氨基苯酚；PAP-对氨基苯酚；Q[6]-六元瓜环

2.2 实验试剂

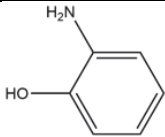
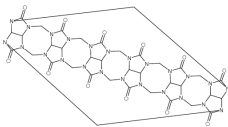
本实验中所使用到的主要试剂如表1所示。

表1 主要实验试剂

试剂名称	结构式	CAS号	纯度	品牌
对氨基苯酚		123-30-8	99%	上海阿拉丁生化科技股份有限公司
间氨基苯酚		591-27-5	99%	上海阿拉丁生化科技股份有限公司

(待续)

(续表1)

试剂名称	结构式	CAS号	纯度	品牌
邻氨基苯酚		95-55-6	99%	上海阿拉丁生化科技股份有限公司
六元瓜环		80262-44-8	98%	上海纳孚生物科技有限公司
乙酸乙酯	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$	141-78-6	分析纯	上海易恩化学技术有限公司
无水乙醇	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	64-17-5	分析纯($\geq 99.7\%$)	重庆川东化工(集团)有限公司

2.3 实验仪器及表征方法

本实验中所使用到的主要仪器如表2所示。

表2 主要实验仪器

仪器名称	型号	制造商
液相色谱仪	Shimadzu LC-20AT	上海岛津
傅里叶变换红外光谱仪	VERTEX 70v	德国Bruker
电子天平	BSM-120.4电子天平	上海卓精
超声波清洗器	KQ5200B	昆山舒美
旋转蒸发器	XD-52AA	上海贤德
循环水式真空泵	SHZ-D(III)	巩义予华

本实验中所涉及到的化合物表征仪器及使用条件如下：

液相色谱仪型号：Shimadzu LC-20AT；色谱柱尺寸：Ultimate XB C18 (4.6 mm × 200 mm, 5 μm)；洗脱液：甲醇，水， $V_{\text{甲醇}} + V_{\text{水}} = 80 \text{ mL} + 20 \text{ mL}$ ；流速： $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ；去除波长：390 nm；保留时间：0–20 min；柱温度：40 °C；注入体积：80 μL。

傅里叶变换红外光谱仪(Bruker)，该仪器为OPUS操作系统(7.0版Bruker光学)软件，deuterated triglycine sulphate (DTGS)作为探测器，锗作为分束器。每个样品的少量粉末被放置在与衰减全反射率(ATR)板接触。在4000–400 cm^{-1} 的频率区域，共加32次扫描，得到分辨率为4 cm^{-1} 的FTIR光谱。所有的光谱都用空气的背景光谱进行了减法。每次扫描后，都采集一个新的参考空气背景光谱。这些光谱被记录为吸光度值，并在每个数据点重复3次。

2.4 实验步骤

实验流程如图3所示。

(1) 邻、间、对氨基苯酚混合溶液的制备。

称取邻、间、对氨基苯酚各0.2728 g (2.50 mmol)，向其中加入100 mL蒸馏水，搅拌均匀使其充分溶解，制得氨基苯酚混合溶液。

(2) 邻、间、对氨基苯酚的分离。

分别向混合溶液中加入六元瓜环1.2460 g (1.25 mmol)，超声振荡30 min，观察到溶液变浑浊。抽滤，往滤液中再加入六元瓜环1.2460 g (1.25 mmol)，重复以上操作，混合两次滤饼。滤饼为对氨基苯酚@六元瓜环。向上述滤液中加入12.4603 g (12.50 mmol)六元瓜环(过量)，在60 °C恒温水浴下超

声振荡30 min, 再次观察到溶液变浑浊。将溶液抽滤, 滤饼为间氨基苯酚@六元瓜环, 滤液为邻氨基苯酚水溶液。将上述邻氨基苯酚水溶液浓缩后与对氨基苯酚@六元瓜环、间氨基苯酚@六元瓜环固体分别溶于乙酸乙酯中, 充分搅拌10 min, 静置萃取30 min。抽滤, 将滤液旋干后各得邻、间、对氨基苯酚固体。干燥至恒重后称重, 计算产率。

(3) 六元瓜环的回收(实验后处理)。

将三次萃取后的滤饼(六元瓜环粗品)置于乙醇中回流8 h, 除去六元瓜环粗品中的杂质。烘干, 得纯净六元瓜环固体, 可以用于下次的实验, 体现出该实验的绿色设计理念。

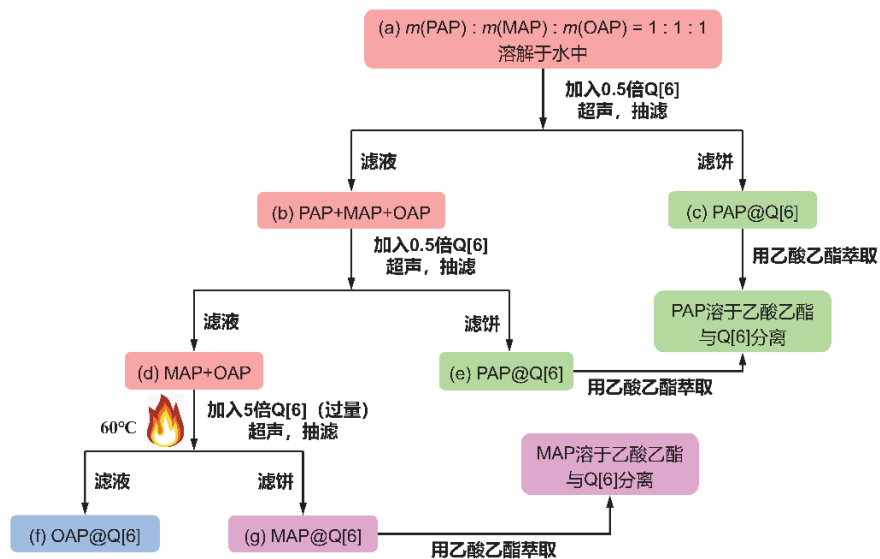


图3 氨基苯酚同分异构体混合物分离流程图

3 结果与讨论

3.1 分离产物的结构表征

3.1.1 薄层色谱法分离监测

取各阶段少许产物, 用甲醇溶解, 点板, 展开(展开剂: $V_{\text{乙酸乙酯}} : V_{\text{石油醚}} = 1 : 1$), 展开结束后放置碘缸中染色。

各阶段薄层色谱法结果如图4所示: 由阶段a到阶段b、c, 部分对氨基苯酚得以分离。再由阶段b

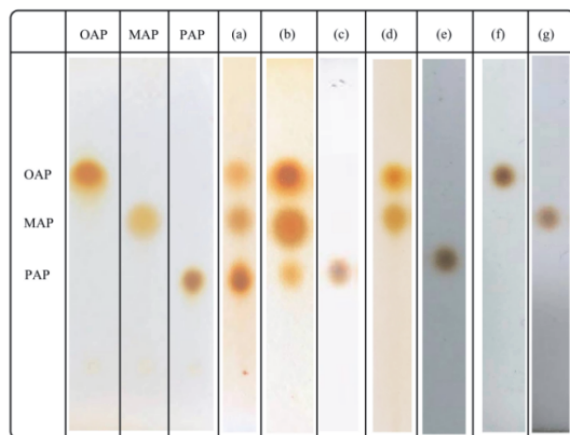


图4 各阶段TLC法及结果示意图

到阶段d、e，大部分对氨基苯酚从溶液中分离出来。最后再从阶段d到阶段f、g，邻氨基苯酚与间氨基苯酚也成功分离。因此，通过比较各阶段薄层色谱法结果，可以追踪各阶段邻、间、对氨基苯酚分离情况。

3.1.2 液相色谱法纯度分析

应用液相色谱对各阶段分离成分进行分析，谱图及分析数据结果如图5–8及表3–6所示。

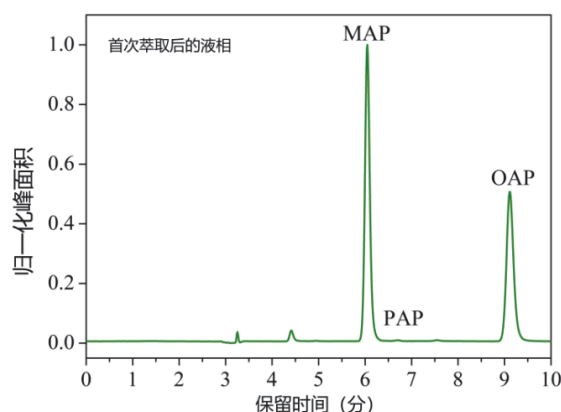


图5 首次分离后液相组分的液相色谱分析光谱

表3 首次分离后液相组分的液相色谱分析数据

同分异构体	保留时间(min)	峰面积($\times 10^5$)	浓度($\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	分离效率(%)
间氨基苯酚	6.05	13.34	23.67	94.68
对氨基苯酚	6.75	0.53	1.32	5.28
邻氨基苯酚	9.14	10.03	23.95	95.80

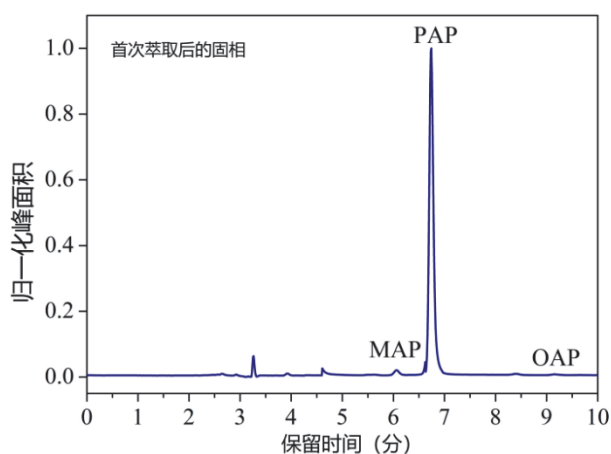


图6 首次分离后固相组分的液相色谱分析光谱

表4 首次分离后固相组分的液相色谱分析数据

同分异构体	保留时间(min)	峰面积($\times 10^5$)	浓度($\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	分离效率(%)	分离纯度(%)
间氨基苯酚	6.05	0.20	0.37	1.48	1.52
对氨基苯酚	6.75	5.98	23.47	93.87	96.70
邻氨基苯酚	9.14	0.12	0.43	1.72	1.77

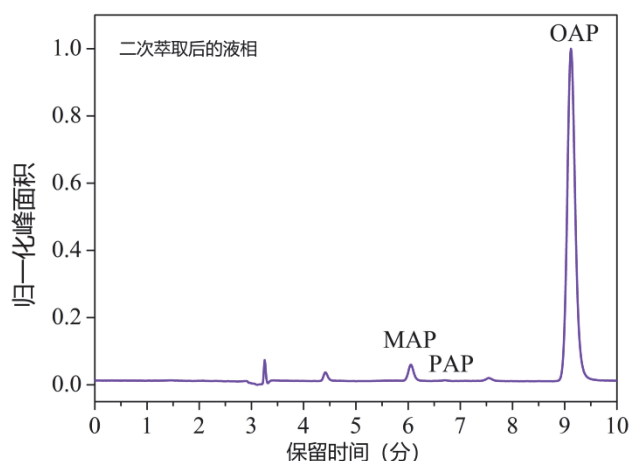


图7 二次分离后液相组分的液相色谱分析光谱

表5 二次分离后液相组分的液相色谱分析数据

同分异构体	保留时间(min)	峰面积($\times 10^5$)	浓度($\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	分离效率(%)	分离纯度(%)
间氨基苯酚	6.05	0.94	1.69	6.76	6.81
对氨基苯酚	6.75	0.31	0.43	1.72	1.73
邻氨基苯酚	9.14	9.50	22.71	90.85	91.46

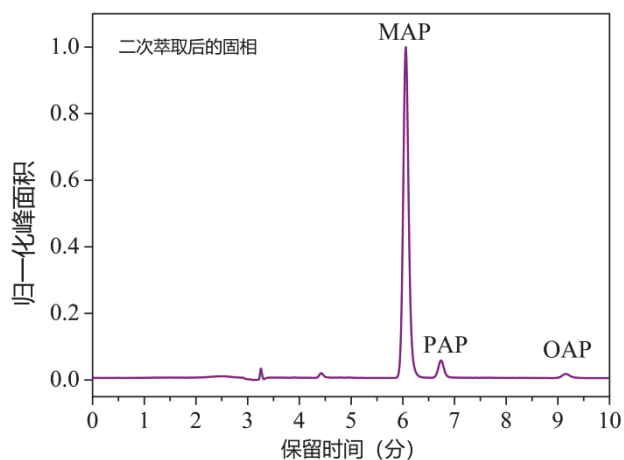


图8 二次分离后固相组分的液相色谱分析光谱

表6 二次分离后固相组分的液相色谱分析数据

同分异构体	保留时间(min)	峰面积($\times 10^5$)	浓度($\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	分离效率(%)	分离纯度(%)
间氨基苯酚	6.05	11.78	20.90	83.59	94.16
对氨基苯酚	6.75	0.35	0.58	2.31	2.60
邻氨基苯酚	9.14	0.24	0.72	2.87	3.23

经液相色谱分析仪测定结果可知,首次分离的水相中以MAP与OAP为主,分离后的固相以PAP为主,其纯度达96.70%;二次分离后的水相以OAP为主,纯度可达94.16%;最后剩余固相为MAP,其纯度可达91.46%。证明本方法对氨基苯酚同分异构体具有很好的分离效果。

3.1.3 红外吸收光谱法结构表征

邻、对氨基苯酚由于其官能团位置的差异,使得各自基团的振动频率也存在着差异。因此通过运用红外吸收光谱法对分离后的同分异构体进行测试,能够进一步地获得准确的分离结果。

将干燥后的三种分离产物进行红外光谱分析,结果如图9所示。

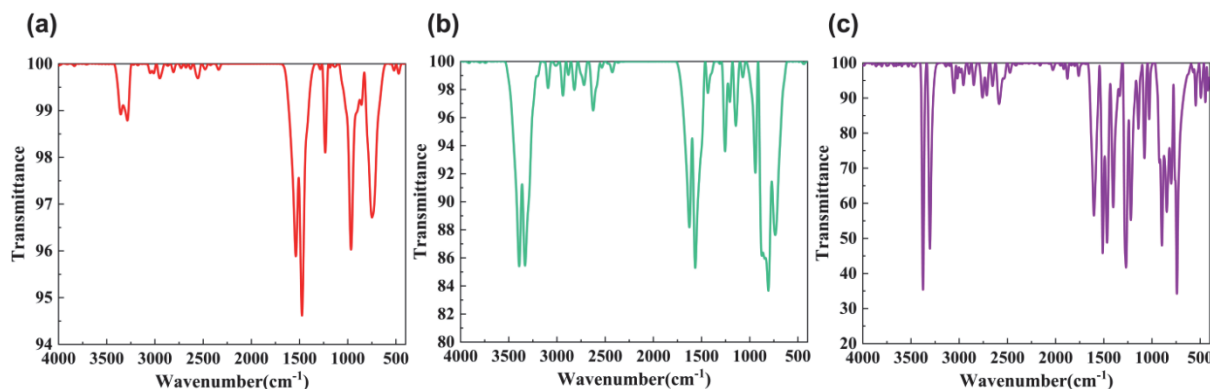


图9 首次分离产物(a)、二次分离产物(b)及最后剩余产物(c)的红外光谱

官能团取代位置的不同会影响IR曲线波动,主要是在波数为 $1300\text{--}670\text{ cm}^{-1}$ 指纹区存在较大差别。由图9可知,首次分离产物中存在着 749 cm^{-1} 处的C—H面外弯曲振动吸收峰,为对位取代特征吸收峰。同理,二次分离产物中存在 942 、 807 、 735 cm^{-1} 处的C—H面外弯曲振动吸收峰,最后剩余产物中存在 742 cm^{-1} 处的C—H面外弯曲振动吸收峰,分别为间位与邻位取代特征吸收峰。

整个分离实验的表征可采用薄层色谱法、红外光谱法、液相色谱法进行。各高校可根据不同知识基础的学生灵活挑选合适的方法让学生进行操作,使得学生在整个综合实验中更加熟悉对基础分析仪器的了解与操作。

4 结语

作为前沿发展学科,超分子化学在本科阶段涉及的教学实验极少。本次创新综合实验,融入这门新型学科体系,选择六元瓜环为主体,以邻、间、对氨基苯酚同分异构体为客体,利用主客体的分子间弱相互作用力为驱动力,进行氨基苯酚同分异构体的分离,且分离效果良好。通过本实验的实行,将有机化学、分析化学、超分子化学等学科体系交叉融合,实现超分子化学在本科教学实验中的应用。同时在实验过程中融入多种分析表征手段,使学生有更多的操作空间去独立完成综合性实验,在动手与思考之间,学生逐渐理解与掌握不同学科知识的交叉运用,从而从学科知识、学科技能、学科素养三个维度来提升自身能力。

5 创新点

- (1) 主要原料可回收利用,将绿色化学理念体现在实践教学。
- (2) 从基础实验操作到分析仪器使用,为不同基础的学生进行分块教学。
- (3) 超分子化学与大环化学在本科教学实验中的应用。

参 考 文 献

- [1] Chen, W.; Li, L.; Zhang, X. F.; Liang, Y.; Pu, Z. J.; Wang, L. F.; Mo, J. X. *Drug Deliv.* **2017**, *24*, 1470.

- [2] Mahdi, R.; Ramin, K.; Ehsan, B. N.; Khudaverdi, G.; Mojtaba, Z.; Fadhil, K.; Bahman, Y.; Milad, B.; Mehdi, Y.; Hossein, S. K. *Int J. Nanomed.* **2019**, *14*, 2619.
- [3] 陶朱, 薛赛凤, 祝黔江, 丛航, 肖昕, 黄英, 倪新龙. 瓜环化学. 2015年版. 北京: 科学出版社, 2015: 1–8.
- [4] Huang, Y.; Gao, R. H.; Liu, M.; Chen, L. X.; Ni, X. L.; Xiao, X.; Cong, H.; Zhu, Q. J.; Chen, K.; Tao, Z. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *133*, 15294.
- [5] Yang, D.; Liu, M.; Xiao, X.; Tao, Z.; Redshaw, C. *Coordin. Chem. Rev.* **2021**, *434*, 213733.
- [6] Gao, R. H.; Huang, Y.; Chen, K.; Tao, Z. *Coordin. Chem. Rev.* **2021**, *437*, 213741.
- [7] Liu, M.; Chen, L. X.; Shan, P. H.; Lian, C. J.; Zhang, Z. H.; Zhang, Y. Q.; Tao, Z.; Xiao, X. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13*, 7434.
- [8] Chen, L. X.; Liu, M.; Zhang, Y. Q.; Zhu, Q. J.; Liu, J. X.; Zhu, B. X.; Tao, Z. *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 14271.
- [9] Cao, L.; Zhang, Y. Q.; Lin, R. L.; Liu, J. X.; Tao, Z. *Cryst. Growth Des.* **2021**, *21*, 2993.
- [10] Wu, H.; Wang, Y.; Jones, L. O.; Liu, W. Q.; Zhang, L.; Song, B.; Chen, X. Y.; Stern, C. L.; Schatz, G. C.; Stoddart, J. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 17587.
- [11] Shen, H. Q.; Liu, C.; Zheng, J.; Tao, Z.; Nie, H.; Ni, X. L. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13*, 55463.
- [12] Wang, H.; Yang, Y. C.; Yuan, B.; Ni, X. L.; Xu, J. F.; Zhang, X. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13*, 2269.
- [13] Zhou, G. L.; Zhang, X. D.; Ni, X. L. *J. Hazard. Mater.* **2020**, *384*, 121474.
- [14] Skorjanc, T.; Shetty, D.; Trabolsi, A. *Chem* **2021**, *7*, 882.
- [15] Chernikova, E. Y.; Berdnikova, D. V. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 15360.
- [16] Yue, L.; Yang, K. K.; Lou, X. Y.; Yang, Y. W.; Wang, R. B. *Matter* **2020**, *3*, 1557.
- [17] Deng, C.; Murkli, S. L.; Isaacs, L. D. *Chem. Soc. Rev.* **2020**, *49*, 7516.
- [18] Zou, L.; Braegelman, A. S.; Webber, M. J. *ACS Cent. Sci.* **2019**, *5*, 1035.
- [19] Zhang, G. W.; Hua, B.; Dey, A.; Ghosh, M.; Moosa, B. A.; Khashab, N. M. *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54*, 155.
- [20] Zhang, G. W.; Emwas, A. H.; Hameed, U. F. S.; Arold, S. T.; Yang, P.; Chen, A. P.; Xiang, J. F.; Khashab, N. M. *Chem* **2020**, *6*, 1082.