

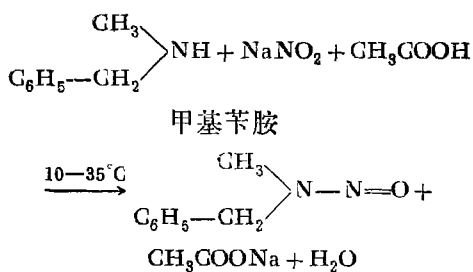
N-甲基苄基亚硝胺合成方法

—醋酸、亚硝酸钠法

新乡师范学院化学系 杨清堂 魏天俊 潘载炳

N-甲基苄基亚硝胺是一种引起动物食管癌的致癌物,国内外许多工作者常拿它做诱癌试验,分析工作者也常需要它作为分析样品的标准对照物。过去,常用的合成方法是盐酸、亚硝酸钠法,但合成N-甲基苄基亚硝胺的产率很低,反应后析不出油状物,且须用冰冷却,诸多不便。有人用醋酸、亚硝酸钠法合成出了甲基-N-亚硝基-β-甲胺基异丁基酮(Methyl-N-Nitroso-β-methyl amino-isobutyl Ketone)。我们用醋酸、亚硝酸钠法合成了N-甲基苄基亚硝胺。产率很高(94%),反应后有油层析出,反应在室温下即可进行,不需要用冰冷却,较盐酸、亚硝酸钠法优越,屡试均获成功。仲胺的分析也可用本法使其转化为亚硝胺后进行气相色谱测定。

一、反应原理



甲基苄基亚硝胺(MBN)

二、实验方法

1. 药品及仪器:

甲基苄胺 24 克实验试剂 (上海试剂三厂出品)。

冰醋酸 27.7 克 A.R. (北京化工厂出品)。

亚硝酸钠 36 克 A.R. (北京红星化工厂出品)。

三口圆底烧瓶 250 毫升一个

电动搅拌器一套

滴液漏斗 60 毫升一个

分液漏斗 250 毫升一个

减压蒸馏装置一套

2. 合成步骤:

在三口烧瓶内加入甲基苄胺 25 毫升,在不断搅拌下加入冰醋酸 13 毫升,搅拌 15 分钟。称亚硝酸钠 36 克溶于 55 毫升水中,边搅拌边用滴液漏斗徐徐加入烧瓶。再量取冰醋酸 16 毫升,用滴液漏斗缓慢加入烧瓶。(反应激烈时可用自来水冷却)温度控制在 10~35°C 之间,不久即有黄色油状物甲基苄基亚硝胺析出,再继续搅拌 1.5~2 小时,反应即告完成。加入 3 N 氢氧化钠水溶液 100 毫升,搅拌十分钟后移入 250 毫升分液漏斗内,将水层与油层分开,用乙醚 150 毫升分三次萃取水层中的甲基苄基亚硝胺,乙醚并入油层,放入 250 毫升三口圆底烧瓶内,接上冷凝器在 60°C 水浴中蒸去乙醚,直到不再有乙醚馏出为止。接入真空系统,换油浴进行减压蒸馏。(油浴温度 125°C, 压力=100 毫米汞柱)蒸去水份及低沸点馏份,瓶中即为黄

色甲基苯基亚硝胺。产量 26.4 克,产率94%。

3. 鉴定(薄层层析法)

吸附剂: 硅胶 G(萤光化学厂出品)

展开剂: 己烷;乙醚;二氯甲烷=4:3:2

显色剂:

① 苯胺盐酸盐乙醇液(0.1 克/毫升)

② α -萘胺、对氨基苯磺酸醋酸液
(Griess 试剂)

结果: 自制品与标准物 R_f 值基本一致。

表 一 甲基苯基亚硝胺 R_f 值

样 品	点 样 量	显 色 剂	R_f 值
自制甲基苯基亚硝胺(MBN)	5 r	Aniline. HCl	0.49~0.5
		Griess	0.49
医科院药物所制 MBN	1~2 r	Aniline. HCl	0.52~0.56
参考资料记录 MBN			0.53 ⁽¹⁻²⁾ 、0.58 ⁽²⁾
太原燃化所测 MBN (医科院药物所制)		Griess	0.49

参 考 资 料

1. Preussman et al: Nature.201:5021964;

2. Anal. chem.,202:187(1964)

3. Sen et al: J.Ass. Offic. Anal. Chem.,52:47(1969)

用原瓶集落形成的方法观察复方丹参 对培养的人食管癌细胞附着性的影响

中国医学科学院肿瘤防治研究所, 细胞生物室

单层培养的纤维样细胞或上皮样细胞, 都必须具有附着基质的能力, 然后才有增殖的可能。因此若阻止细胞对基质的附着, 细胞就不能生长繁殖。们我设计了一种原瓶集落形成的方法, 用此方法试验复方丹参对体外培养的人食管癌上皮细胞的作用, 结果表明一定剂量的复方丹参能阻碍细胞附着于培养瓶底面, 从而未见有新集落在“新区域”内形成。

材料及方法

一 细胞及其培养

实验用的细胞为我室建立的人食管癌上皮细胞株, 简称 Eca-109⁽¹⁾。常规培养于含 20%小牛血清的 199 培养液中, 每毫升培养液加 100 单位青霉素, 100 微克链霉素, 并以 5.6%NaHCO₃ 调 pH 至 7.2 左右。(以下简称此培养液为常规培养液)。一般四天换液一次。

二 复方丹参液

复方丹参是一种常用的“活血化瘀”药, 本实验所用的是上海第九制药厂出产的注射针剂, 每 2 毫升含丹参, 降香生药各一克。本实验所用浓度为每毫升常规培养液中含上