

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00692

食管癌造模分子 N-甲基-N-戊基亚硝胺的合成

王逢春¹, 吴爱群², 缪震元^{3*}

1. 北京军区总医院医务部, 北京 100700
2. 第二军医大学基础部解剖学教研室, 上海 200433
3. 第二军医大学药学院药物化学教研室, 上海 200433

[关键词] 食管肿瘤; N-甲基-N-戊基亚硝胺; 有机合成

[中图分类号] R 735.1

[文献标志码] B

[文章编号] 0258-879X(2012)06-0692-02

Synthesis of N-methyl-N-amyl nitrosamine for establishing esophageal cancer model

WANG Feng-chun¹, WU Ai-qun², MIAO Zhen-yuan³

1. Department of Medical Service, General Hospital, PLA Beijing Military Area Command, Beijing 100700, China
2. Department of Anatomy, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
3. Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Key words] esophageal neoplasms; N-methyl-N-amyl nitrosamine; organic synthesis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(6): 692-693]

N-亚硝基化合物是环境以及食物中广泛存在的一类化学物质, 迄今已发现 300 多种, 这类化合物对动物的致癌性已经得到广泛的实验证实, 至今尚未发现一种动物对这类化合物具有抵抗力^[1]。

亚硝基化合物对器官和组织细胞并没有直接致癌作用, 但在亚硝基化合物中与氮氮相连的 α -碳原子上的氢受到肝微粒体酶 P450 的作用, 使 α -碳原子上的氢形成羟基, 进一步分解和异构化生成烷基偶氮基化合物, 产生很强的致癌活性^[2]。因此通过这类化合物来研究肿瘤的防治、最大限度地降低其对人类的危害是非常有必要的。

许禄等^[3]用半经验分子轨道论法获得电子结构参数与致癌活性的定量关系, 其中化合物 N-甲基-N-戊基亚硝胺(N-methyl-N-amyl nitrosamine, MNAN) 是致癌强度较高的一个化合物, 并且已广泛运用于食管癌造模研究^[4-6]。但是, 以往这类化合物的合成步骤较多, 具有一定的难度, 且相关工艺研究开展并不多。目前商业化的 MNAN 价格昂贵, 对科学研究带来了极大的不便。本研究报道一种较为简便、经济的 MNAN 全合成方法, 为实现其工业化生产进行初步探索。

1 试剂和仪器

核磁共振谱用 BRUKER AVANCE 300 型核磁共振仪 (Bruker Company, Germany) 测定, CDCl_3 或 DMSO-d_6 (Sigma) 为溶剂, TMS 为内标。旋转蒸发器用 Heidolph LABO-

ROTA 4000, 紫外分析仪用三用紫外分析仪 SHB-III A, 循环水式多用真空泵 (上海豫康科教仪器设备有限公司循环水式多用真空泵 ZF78)。薄层色谱硅胶板和柱层析硅胶为青岛海洋化工有限公司产品, 所用起始原料均为市场销售的分析纯或化学纯试剂。

2 方法和结果

2.1 合成路线 化合物 N-甲基-N-戊基亚硝胺合成路线图, 见图 1。

2.2 1-(N-甲基-N-苄基)-2-异丙醇(M2)的制备 将 N-甲基苄胺(M1) 10.7 g 和 1 ml 水加入 100 ml 的三口瓶中搅拌, 室温缓慢滴加 10.6 ml 环氧丙烷, 滴毕, 60℃ 下反应 12 h, 冷却至室温浓缩得淡黄色粗品 (M2) 约 16.0 g。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): 1.05 (d, 3H, $J=6.3$ Hz, CH(OH)CH_3), 2.14 (s, 3H, $-\text{NCH}_3$), 2.24 (m, 1H, CH(OH)CH_2), 2.32 (m, 1H, CH(OH)CH_2), 3.48 (d, 2H, $J=7.2$ Hz, phCH_2), 7.24 (m, 1H, Ar-H), 7.30 (m, 4H, Ar-H)。

2.3 1-(N-甲基)-2-异丙醇(M3)的制备 将上步制备所得的 M2 10.0 g, 加入 500 ml 茄形瓶中, 加 300 ml 乙酸乙酯, 1.0 g Pd/C, 常压下通入氢气, 室温反应 24 h, TLC 监测紫外吸收消失, 停止反应, 滤去催化剂, 浓缩得脱苄粗品(M3), 核磁鉴定芳香区消失。不进行纯化, 直接进行下一步反应。

[收稿日期] 2012-02-20

[接受日期] 2012-05-20

[作者简介] 王逢春, 博士, 主管药师. E-mail: wfcc2002@yahoo.com.cn

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-81871241, E-mail: miaozhenyuan@hotmail.com

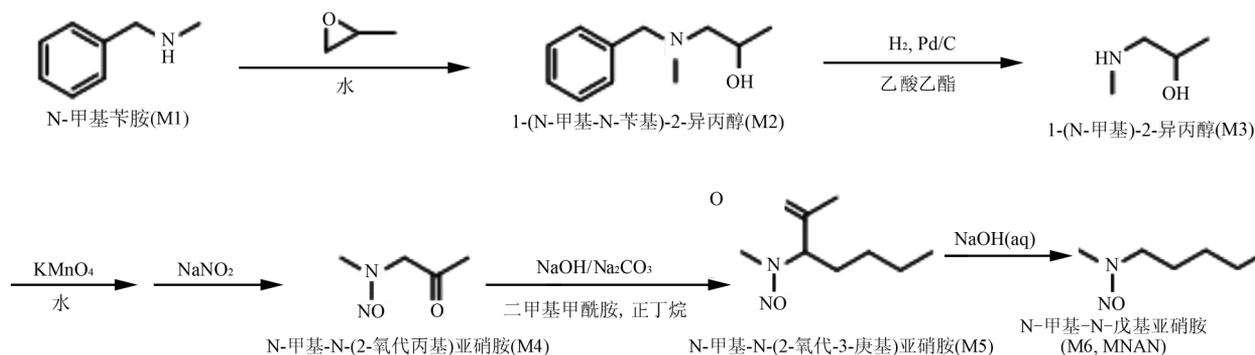


图1 化合物N-甲基-N-戊基亚硝胺合成路线图

2.4 N-甲基-N-(2-氧代丙基)亚硝胺(M4)的制备 将上步所得粗品M3 10.0 g和400 ml水加入2 L的三口瓶中,冷却至0℃,用100 ml冰醋酸酸化。在0℃下缓慢加入35.6 g KMnO_4 ,加毕,室温反应3 h。再将反应液冷却至0℃,将200 ml含有77.2 g亚硝酸钠的水溶液滴加入反应液中,滴毕,0℃下搅拌30 min后升至室温继续反应2 h,至溶液变澄清停止反应。反应液用二氯甲烷萃取3次,所得有机相再用0.1 mol/L氢氧化钠溶液洗涤,并用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得M4 6.4 g,收率约为49.1%。核磁确证产物为E/Z两种构型。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 2.17 (s, 3H, COCH_3), 2.25 (s, 3H, COCH_3), 3.05 (s, 3H, NCH_3), 3.84 (s, 3H, NCH_3), 4.31 (s, 2H, COCH_2), 5.00 (s, 2H, COCH_2)。

2.5 N-甲基-N-(2-氧代-3-庚基)亚硝胺(M5)的制备 在100 ml茄形瓶中加入2.16 g氢氧化钠、1.83 g碳酸钠以及25 ml干燥的二甲基甲酰胺(DMF),然后将M4 5 g加入反应瓶,后将11.9 g碘代正丁烷滴加入反应液中。滴毕,反应25 min, TLC显示反应完全,通过硅胶G柱层析分离得纯品M5 3.6 g,收率为48.6%。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 0.90 (t, 3H, $J=8.0$ Hz, CH_3CH_2), 1.39-1.43 (m, 4H, CH_2CH_2), 1.93 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CHCOCH}_3$), 2.21 (s, 3H, COCH_3), 2.97 (s, 3H, NCH_3), 3.74 (s, 1H, CHCOCH_3)。

2.6 N-甲基-N-戊基亚硝胺(M6, MNAN)的制备 将M5 2.5 g加入50 ml茄形瓶中,加入20 ml 20%氢氧化钠溶液,回流反应3 h, TLC监测显示反应完全,停止反应。经填料式精馏塔得到纯品M6 1.35 g,收率为71.4%。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 0.91 (t, 3H, $J=8.0$ Hz, CH_3CH_2), 1.28-1.39 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.72-1.78 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.05 (s, 3H, NCH_3), 4.15 (s, 2H, NCH_2)。

3 讨论

本研究开发了一条合成MNAN的全新路线,共5步反应,其中3步用水做溶剂或者催化剂,合成过程成本较低。并且起始原料易得,操作步骤简单,多步反应不需纯化可直接进入下一步使用。此外,本方法与文献报道的真菌繁育法^[7]相比具有高效的特点,不受生物环境的制约,并且可运

用工业放大生产。

化合物M4存在亚硝基E/Z两种构型,为降低分离成本,我们并未将化合物M4进行分离,而利用正丁基的位阻效应提高了化合物M5和M6的Z式构型的选择性。

由于产物MNAN沸点较低,其纯化存在一定的难度。普通的柱层析纯化后浓缩使得收率大大降低,减压蒸馏纯化效果不明显。通过填料式精馏塔纯化可以快速高效的得到较纯的MNAN,这样也便于工业化放大生产。

总之,通过新的合成工艺得到的N-甲基-N-戊基亚硝胺10 g,经与标准品对比,谱图数据完全一致。同时采用本研究合成的化合物已成功构建食管癌小鼠模型(资料待发表),为后续的食管癌作用机制研究打下了基础。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

【参考文献】

- [1] 吴坤. 营养与食品卫生学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005: 253-257.
- [2] 许后效. 环境中的N-亚硝基化合物[M]. 北京:科学出版社, 1988:36-37.
- [3] 许禄,姚瑜元. N-亚硝基化合物结构-致癌活性的相关性研究[J]. 高等学校化学学报, 1995, 16: 1371-1373.
- [4] Huang Q, Stoner G, Resau J, Nickols J, Mirvish S S. Metabolism of N-nitrosomethyl-N-amylamine by microsomes from human and rat esophagus[J]. Cancer Res, 1992, 52: 3547-3551.
- [5] Attwood S E A, Smyrk T C, DeMeester T R, Mirvish S S, Stein H J, and Hinder R A. Duodenoesophageal reflux and the development of esophageal adenocarcinoma in rats[J]. Surgery, 1992, 111: 503-510.
- [6] Cao L, Xu X, Cao L L, Wang R, Coumoul X, Kim S S, et al. Absence of full-length Brca1 sensitizes mice to oxidative stress and carcinogen-induced tumorigenesis in the esophagus and forestomach[J]. Carcinogenesis, 2007, 28: 1401-1407.
- [7] Ji C, Li M H, Li J L, Lu S J. Synthesis of nitrosomethylisoamylamine from isoamylamine and sodium nitrite by fungi[J]. Carcinogenesis (Lond.), 1986, 7: 301-303.

【本文编辑】尹茶