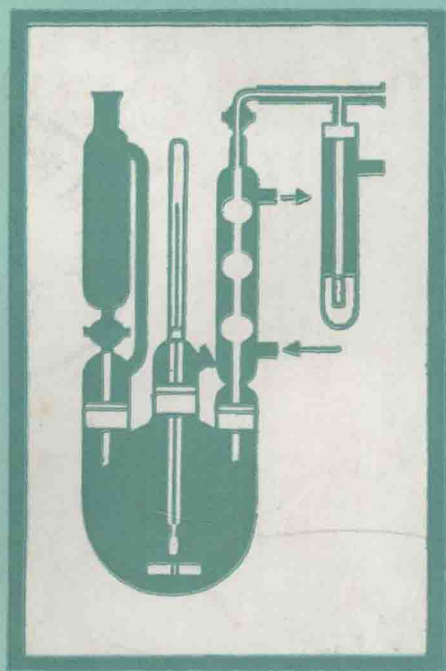


稳定同位素标记有机合成法

范如霖 编译
冯成湜 校



化学工业出版社

稳定同位素 标记有机合成法

范如霖 编译
冯成湜 校

化学工业出版社

编译者的话

标记化合物在医学和化学研究中的应用已有较长的历史，如放射性碘化物被用于检测甲状腺的机能以及酯化反应机制的研究。随着科学研究的蓬勃发展，1965年出现了介绍标记化合物的专业刊物“*Journal of Labelled Compounds*”。如今，标记物对现实生活的渗透已达到了当初难以预见的广度和深度。一个明显的例证是：新药在进入国际市场前，必须阐明它在人体内的代谢情况，而这种生化过程的研究通常总离不开标记物。

从世界范围看，笔者认为标记有机物合成的发展大体经历了两个高潮。首先，是二次世界大战之后，原子能工业的发展提供了物质基础，很多科学家和平利用原子能的真诚愿望使标记合成普遍受到重视。1958年出版的A·默里和D·L·威廉斯的专著《使用同位素的有机合成》(A·Murray and D·L·Williams: “*Organic Syntheses with Isotopes*”), 篇幅长达二千页。该书是这一广泛研究的总结，是标记有机合成的经典著作，至今仍在发挥着作用。第二个研究高潮是随着稳定核素生产的发展和分析仪器的进步而兴起的，大约从七十年代开始，在继续研究放射性同位素标记的同时，稳定同位素标记得到了应有的重视。1981年Donald G·Ott的“*Syntheses With Stable Isotopes of Carbon, Nitrogen, Oxygen*”便是这一时期研究的结晶。该书虽篇幅不大，却与默里和威廉斯的著作一起成为标记化合物领域内迄今仅有的两部介绍合成方法的专著。

就合成技术和设备而言，制备稳定同位素的标记物毋需特殊防护。但由于原料品种和价格的限制，它必然具有不同于常规有机合成的特点。编译本书的目的，在于向我国化学工作者介绍稳定同位素标记物的合成方法，期待越来越多的同行熟悉和利用这种切实可行、往往能为我们的研究提供珍贵信息的手段。

本书以Donald G. Ott的著作为蓝本进行编译。编译中对蓝本第一章绪论作了改写和补充。由于蓝本的层次不很清楚，故对其各章内容的编排顺序作了调整，将每一章分成若干节，并对每一项制备冠以序号；在少数情况下，蓝本对为进行合成所需的关键中间体只引出文献，为方便读者起见，本书则直接叙述了有关的内容。此外，本书还对蓝本作了如下两项补充。

1) 考虑到重氢标记物广泛的实际用途，主要从默里和威廉斯的著作中选择了部分较有代表性的用途广泛的氘标记合成法，其中包括某些常用的试剂，如氘代氯仿，全氘代丙酮及氘代甲醇等的合成方法；又考虑到该书出版年代较早，故对所征引的内容，在多数情况下作者均校核了原始文献。

2) 核磁共振谱(PMR及CMR)对于标记化合物的分析价值很大，蓝本却完全没有叙述。为便于读者理解，特参考近期有关杂志，补入了部分产物的分析数据。鉴于标记物的图谱有时相当复杂，甚至需要与相应的未标记物逐项比较才能明确地显示其意义。既然本书以讨论合成方法为主，补充的数据便只能是比较简单和明确的。

标记合成中关键中间体的制备特别重要，因为在合成复杂分子时，最大的障碍常常在于制备那些结构简单的关键化合物。因此本书的取材，无论是蓝本还是补充的资料，均以介绍关键中间体的合成与典型的标记方法为重点；凡与未标记物基本相同（即标记原子的存在不影响其合成方法）的，除个别情况外，均从略。本书以化学合成为主，兼及少数有特殊价值的生化方法。每一合成均仿照《有机合成》(“Organic Syntheses”)的编排格式，力求明确，使读者不必求助于原始文献就可以直接采用。

除第一章绪论外，全书按官能团分章。这种分类方法难免带来矛盾，如某些醇可能作为合成的中间体而出现在烃的章节内等等。本书正文之后的索引按母体化合物的中文名称排列，可弥补这一缺陷。使用前读者请查阅索引说明。

标记有机合成无疑是一个极有意义而且前途广阔的研究领域。

可以预期，随着我国社会主义建设事业的发展，它的应用将越来越广，对标记产品的品种和数量的需求将越来越多，研究工作也必将得到广泛的开展。笔者期待我国的化学工作者尽早写出更好的著作。

本书蒙冯成湜教授于百忙中校阅，在此深致谢忱。

水平所限，谬误难免，恳请广大读者指正。

目 录

第一章 绪论	1
第一节 同位素的性质、分析和浓缩	2
第二节 标记合成的一般原则	5
第三节 合成技术和装置	9
第四节 同位素标记化合物的命名	11
第五节 同位素效应	17
第二章 羧酸及其衍生物	22
第一节 甲酸及其衍生物	24
第二节 二碳羧酸及其衍生物	33
第三节 三碳羧酸及其衍生物	52
第四节 四碳羧酸及其衍生物	64
第五节 长碳链脂肪酸及其衍生物	74
第六节 芳羧酸及其衍生物、其它羧酸	90
第三章 醛和酮	109
第一节 脂肪醛和脂肪酮	110
第二节 芳醛和芳酮	122
第四章 醇、醚、酚	140
第一节 醇	141
第二节 醚和酚	164
第五章 烃、胺、硝基化合物	171
第一节 烃及其衍生物	171
第二节 胺及硝基化合物	210
第六章 杂环化合物	227
第一节 单环杂环化合物	227
第二节 多环和稠环杂环化合物	251
第七章 其它化合物	269
第一节 元素及无机物	269

第二节	几种最简单的有机化合物	277
第三节	含硫、磷及金属元素的有机化合物	283
第四节	糖类、腺苷及甾体化合物	294
索引	307

第一章 绪 论

所谓标记物或示踪物，是指伴随着所欲追踪的目标，而在正常情况下却不存在，或不以其特征浓度而存在的那些物质，它们使被追踪的目标与其类似物产生显著的差别。用荧光染料标记某些物质或用同位素标记分子都是众所周知的实例。由于同位素标记化合物与其相应的正常化合物在物理、化学、乃至生化性质方面均极其相似，而标记原子的存在使其易于被检测和跟踪，所以在研究反应机理、反应动力学、生理生化以及医药卫生等方面都有极其重要的用途。

早在本世纪三十年代末和四十年代初，浓缩至天然丰度以上的稳定（非放射性）同位素已被用作有效的分子示踪剂^[1~4]。然而随着放射性核素，尤其是碳-14和氟供应的急剧增长，加之发展了简单而有效的分析方法^[2,5,6]，到四十年代后期，放射性核素的应用很快地远远超过了那些稳定的同位素。只是由于放射性氮和氧的半衰期太短，使用不便，才依然使用稳定的氮，氧同位素进行直接示踪。

碳-13、氮-15、氧-17和氧-18似乎早就应该被大量地用于各种物理和生化研究，但实际情况并非如此。这主要是由于它们的价格太高，以及缺乏比较简单的分析方法，妨碍了它们的广泛应用。这些同位素只有当其大量生产时成本才可能降低，而需求不多这一事实阻碍了成本的下降。为了打破稳定同位素开发利用中这种循环性的牵制，六十年代末期，一些工业先进国家的有关部门采取了有效措施，使稳定的碳、氧、氮同位素的产量急剧增长，价格才有了决定性的下降^[1,7,8]。几乎与此同时，分析仪器也获得了飞速进展，傅利叶变换核磁共振仪、气相色谱与质谱联用的多离子检测仪等相继出现。一旦克服了价格高和难以分析这双重障碍，稳定同位素标

记的独特优点便充分地显示出来：由于它们没有放射性，可以使用普通的有机化学手段进行制备和处理；它不存在放射性标记化合物所无法避免的辐射自分解；它没有半衰期，其使用不受时间的限制。这样，稳定同位素在各研究领域内的应用推广、同位素生产的发展、以及分析仪器的进步这三者不断地相互促进，开创了一个蓬勃的新局面。

几乎在所有使用同位素的场合，都必须首先将同位素分离过程的产物转化为其它适当的化学形态。使用稳定的碳、氮和氧同位素时，通常必须从少数基本原料，如一氧化碳、二氧化碳、氨和水出发，将其转入有机化合物中。对于标记的要求也是多种多样的：有时必须在某一个或几个特定的位置上加以标记，有时则需要全部标记；有时需要用一种以上的同位素作多重标记，该多重标记可能只在特定的部位，也可能是标记于整个分子；在某些情况下需要高的同位素浓度，而对另一些情况，低浓度已经足够，甚至为特定的用途所必需。为了进行一次性的或重复性的研究，所需化合物的数量可以从少至数毫克到多达几公斤。为满足这多种多样的要求，必须选择和应用恰当的方法及技术，以便将同位素有效地接入化合物。所谓有效，是指花费最少的劳动和最经济地使用原料。

第一节 同位素的性质、分析和浓缩

作为一种有用的标记物，它必须具有可检测性，使它与那些和它十分相似的物质有所区别。表1列出了某些稳定同位素的性质，基于这些不同的性质，我们可以将那些化学上基本相同的化合物彼此区别开来。两种硫的同位素显然有很大的潜在用途，正有待于开发利用。

分析方法无疑是基于同位素之间的差别。质谱、核磁共振谱、振动光谱和电子光谱等分析方法以及密度的测定和核反应均可用于分析^[1-5,9-14]。具体方法的选择取决于特定同位素的种类，所欲得到的信息，样品的性质和数量，可供利用的仪器以及技术的熟练程度。没有一种在任何情况下都符合理想的方法，而且人们认为最好

表 1 某些稳定同位素的性质

核 素	质 量	自然丰度, %	核 自 旋	核磁共振性质	
				相对共振频率	相对敏感度
^1H	1.0078	99.98	$1/2$	100.00	1.0000
^2H	2.0131	0.02	1	15.35	0.0096
^{12}C	12.0000	98.89	0	/	/
^{13}C	13.0033	1.11	$1/2$	25.14	0.0159
^{14}N	14.0031	99.63	1	7.22	0.0010
^{15}N	15.0001	0.37	$-1/2$	10.13	0.0010
^{16}O	15.9949	99.76	0	/	/
^{17}O	16.9991	0.04	$-5/2$	13.56	0.0291
^{18}O	17.9991	0.20	0	/	/
^{32}S	32.9715	0.74	$3/2$	7.67	0.0023
^{34}S	33.9679	4.22	0	/	/

的那种方法实际上不一定有条件采用。

质谱是最适合、而且也是广泛应用的同位素分析法，它还可以有不同的用法。对于转化成简单分子如二氧化碳、水或氮的样品，它能精确测定某一元素各同位素的总比例。利用质谱又能测出分子本身及其裂解碎片的质量。除了总的同位素组成外，这种方法还能向我们提供分子结构的有关资料，也就是同位素在分子内的分布情况。如果将质谱仪与气相色谱仪、微处理机以及计算机联用，则成为一种极其有力而且非常灵敏的定性和定量技术。

在测定很多有关结构和构型的参数时，核磁共振谱无疑是一种强有力的手段。在本领域内，通过分析共振峰的强度，它也能提供简单同位素的浓度值。多重标记化合物中 ^{13}C — ^{13}C 的偶合会形成多重峰，虽然它常使问题复杂化，但可按多种方式加以利用，从中获得各种类型的信息^[15]。对于那些在相邻碳原子上作了双重标记的化合物，如乙酸- $^{13}\text{C}_2$ 分裂的羧基共振峰的相对强度能告诉我们甲基中碳-13的浓度；而从甲基碳的各个峰的强度也可进行羧基的同位素分析^[1]。 ^1H —NMR也能为碳-13分析提供信息（如果各个峰复杂的交叠不产生严重干扰的话）。再以乙酸- $^{13}\text{C}_2$ 为例，甲基质子

的共振讯号被甲基中的碳-13分裂为双重峰，再与羧基中的碳-13远程偶合而进一步分裂。这样，如果碳-13的原子浓度为100%，势将形成一对双重峰；当浓度较低时，图谱中则出现九个小峰，正确地计算出所有峰值幅度的总和及各峰所占的比例后，即可得知每一碳上的同位素浓度^[16]。质子核磁共振谱也能用于单标记化合物，如甲醇-¹³C或乙酸-2-¹³C的同位素分析，而且毋需加入内标准，也不必使用校正曲线。

当以稳定同位素为示踪剂时，如今已有很多测定同位素比的方法，以适应各种各样的样品^[9~14]。在碳、氮标记化合物的制备过程中，很少需要元素分析。因为原料中的同位素浓度通常是已知的，它被接入到另一化合物中时，该浓度一般没有变化。譬如通过格利雅反应制成的羧酸，它的羧基中碳-13的浓度与用以羧化的二氧化碳相同；在酰胺中所富集的氮-15，可以预料，将与原料胺或腈中的氮-15浓度相等。然而对于氧标记的化合物，有时因为用到同位素交换反应，更多地则是由于这种交换反应的客观存在，分析就成了合成中的一个重要环节。

液体闪烁计数器为使用碳-14、氚以及其它放射性同位素带来很多方便，与这种装置相似的“黑盒”（black box）则总有一天可被用于稳定同位素。退一步说，即使没有一种装置能够提供快速、自动的同位素分析，凭藉现代不断进步的仪器也能获得大量的实验资料，这足以保证稳定同位素在各科技领域内的应用日益发展。稳定核素与放射性同位素各有特点，在某一具体情况下，对于某一特定目的，究竟使用哪一种最适合，正是由这些特点与很多其它因素共同决定的。

如同放射性同位素一样，碳、氮、氢、氧的稳定同位素（见表1）也必须浓缩至正常浓度以上才能用作示踪剂。目前，大多数稳定核素的分离都是利用某种简单化合物的各种同位素异构体的蒸气压之差，这种差别很小，然而有决定性的意义^[7,9,10,17]。碳的两种同位素是通过在-100℃以下的低温下分馏一氧化碳而分开的。¹⁴C¹⁶O与¹²C¹⁶O的蒸气压之差足以使我们能够将重同位素浓缩至

90%原子浓度以上，将碳-12浓缩至99.999%。近来，通过一种氧同位素平衡技术，再继之以重复分馏，巧妙地克服了进一步浓缩重同位素的主要障碍（ $^{12}\text{C}^{18}\text{O}$ 与 $^{13}\text{C}^{16}\text{O}$ 的性质极其相似），从而使产物 $^{13}\text{C}^{16}\text{O}$ 中碳-13的含量超过99%^[17]。迄今建造的精馏塔最高已达205m，从地洞中冲天而立，并配有复杂精巧的控制机构，是近代化学工程创造性的伟大贡献。

与此相似，五种氮和氧的同位素是通过低温精馏一氧化氮而分离的。由于此时分离参数较为有利，精馏塔不必再那样高。为使产物较易贮藏和便于使用，通常于分离后加以催化氢化，制成硫酸铵和水的各种同位素异构体。

主要丰度的同位素（碳-12、氮-14、氧-16）也各有其独特的用途。譬如氧-16，当 α -射线照射于氧的其它同位素时，将形成副产物中子，而加有氧化铀的空间辅助燃料中的氧-16则能降低这种中子的背景浓度。尿素- ^{12}C 中的碳-12能消除天然丰度尿素对于尿素变性蛋白的 ^{13}C -NMR图谱的干扰，而氮-14则被用于肥料的田间规模研究。碳-12化合物以及富集了碳-12（即贫化 ^{13}C ）的溶剂在核磁共振谱研究中的用途是显而易见的，迟早将显示出其重要性。轻质同位素的应用无疑将日益普遍。譬如在进行微生物学示踪实验时，使用重同位素示踪剂之前，首先在碳-12、氮-14和氧-16的基质上进行培养，可以降低碳-13、氮-15和氧-16的（天然的）背景浓度，从而使此后重同位素的示踪效果更加理想。

第二节 标记合成的一般原则

制备标记化合物的方法，大致有化学合成法、生物合成法、同位素交换法、热原子反冲标记法等四种，本书重点讨论与稳定同位素标记关系密切的前两种方法。后两种方法主要用于放射性同位素标记。同位素交换法比较简单，但有很大局限性；且难以完成高浓度的定位标记。唯有重氢交换，有时实用价值颇大。热原子反冲标记法的产物不纯，比放射性低，没有很大的实用价值。

就稳定同位素标记物的化学合成和生物合成方法而言，其所采

用的多为普通的有机化学和生物化学反应，合成技术也是众所周知的。然而在设计 and 实现这些合成时，当然还需要考虑到某些不同于非同位素常规合成的途径。

一个化合物可按不同的方式予以标记——使用一种或多种同位素标记于分子的一处或多处，也就是单一标记或复合标记。对于某一特定同位素异构体拟订的合成路线，也许并不适合于另一种同位素异构体，因为可能的标记中间体，即使结构比较简单，也是多种多样的，通常无法从市场购得。同位素标记合成常不得不从很基本的原料，如水、氨和一氧化碳开始，而许多化学家在这方面经验较少。

浓缩同位素的价格较高。在进行标记合成时，化学家自然希望利用高收率的制备反应，而且有理由要求研究经费和研究时间，但同时也应注意将这些考虑与计划中的其它因素加以适当的平衡。市场价格通常是就每克或每升而言的，其实，如果按每摩尔的价格进行比较，将可作出更为科学的评价。在国际市场上，基本同位素原料的价格，每摩尔为一千美元的数量级^[7c]，这与若干非同位素化学品和试剂（其中很多还是常用试剂）的市场价格相比，并无很大差别。

当然原料的价格和来源毕竟是一个重要因素。正因如此，在标记合成中常对所涉及普通试剂的质量提出更高的要求；有时需在标记之前先作模拟试验；在设计合成路线时，标记反应应尽可能地推后，以防止和减少标记中心在反应中的损失。

化学家希望采用简短和高收率的程序，每一种新合成方法的出现都可能有助于合成程序的简化。关键中间体和基本化合物的制备方法尤其重要，因为利用这些方法，可以对大量更复杂的分子进行特定的标记。然而从经济角度考虑，为了发展或改进合成路线以求得高同位素收率所付出的时间和劳动必须与原料成本的因素求得平衡。当需要大量产物或者该制备方法将被重复使用时，为提高收率或简化操作而付出代价通常是值得的。然而从经济观点看，真正的问题倒在于，常常为一些华而不实的次要改进花费了过多的时间^[18]。

设计标记化合物的合成路线时，应该进行常规的文献检索。如果你所需化合物的标记方法是已知的，即使由于某种特殊原因必须加以改进，问题也毕竟简单得多。再说，无论是否存在已知的方法，一些重要的有关著作总是应该参阅的^[2,3,5,19-21]。这些著作中特别有价值的是默里和威廉斯的“Organic Syntheses with Isotopes”^[5]。该书不仅载有合成路线，对仪器和合成技术也有介绍。很多杂志均刊有标记化合物制备的论文，其中内容最丰富的当推“Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals”。仔细研究类似化合物的合成方法，常能形成一种合理的设想，甚至找到可以直接运用的程序。譬如说，倘使你想合成2-氨基戊酸-¹⁵N，你就应该考虑甘氨酸-¹⁵N和丙氨酸-¹⁵N以及它们的碳-13异构体的合成方法。

用以制备某一有机核素的合成法常能很容易地被移植于另一核素。例如还原苯甲酰氯以制取氘代或氚代苯甲醛的方法可直接用于碳-13异构体的制备；在将标记的嘧啶接入核苷时，同位素为碳-13或为氮-15对于制备程序并无影响。但有时一种优良的放射性核素标记法却不能有效地转用于稳定同位素标记，因为在后一情况下制备规模一般较大，或者必须用到未标记的载体。当比较各种碳同位素的标记方法时，应该记住碳-13的一氧化碳是容易得到的原料（而¹⁴CO则不然）。将来发展氯-35、氯-37、硫-33以及硫-34的标记法时，无疑当在很大程度上借助于放射性氯-36和硫-35的标记方法^[3,5]。

如果找不到可用的已知方法，或者感到已知的方法不合要求，则必须设计新路线。只要考虑到手头原料的性质，并注意切勿丢失同位素标记，很多成熟的合成反应同样可用以制备标记化合物。至于新路线的设计，也有很多著作可供参考。布勒和皮尔逊^[22]、费赛尔^[23]、哈里森^[24]的著作、“有机合成”^[25]、默克索引（The Merck Index）^[26]以及各种实验课本均在这些著作之列。有经验的合成化学家在本领域内几乎能照样地得心应手，即使那些缺乏经验的研究者也不必将这看作难以胜任的特殊领域。其实，很多优秀的同位素

标记合成法正是由有机合成技术并不熟练的研究者所设计的。

大多数标记化合物都通过有机合成方法制得，但对于某些物质，特别是结构复杂而且具有多个手性中心的化合物，生物合成方法^[27]虽然未必是唯一适用的方法，却常是十分可取的。即使有机化学家对微生物技术和生化技术不很熟悉，也不应该无视这种方法。况且生化技术常属于有机化学家力所能及的范围，实验设备也是如此。某些生化方法能以高同位素收率制成特殊的化合物，实际上非常有用。例如利用切下的植物绿叶进行光化合成以生产葡萄糖- $^{14}\text{C}_6$ ，以及利用海藻的嫩芽从 $^{13}\text{CO}_2$ 制备半乳糖基丙三醇- $^{13}\text{C}_9$ ^[28]。将有机合成与生化合成二者结合起来，还可以对特殊化合物以及复杂的生命分子上的某些部位进行特定的标记。将L-组氨酸- $2\text{-}^{13}\text{C}$ 接入血红蛋白进行核磁共振谱的研究就是一例^[29]。对于另一些特殊标记化合物，尤其是氨基酸类，这种有机合成与生物合成相结合的方法很可能成为一种优良的程序。若干已知的和正在培育中的微生物突变体^[30]可能具有很大的实用价值。例如以适当标记的吲哚和/或丝氨酸作基质，利用需要吲哚和/或丝氨酸的特殊菌株，可以得到各种标记部位的色氨酸（需要时还可作多重标记）。为了满足对于这类最重要标记化合物的需求，这种综合的合成法具有很大的潜力。另一方面，利用藻类或其它微生物进行光合作用以接入同位素，随后进行蛋白质的水解，再将各组份分离以生产全标记氨基酸的方法，在多数情况下却似乎既不经济，又不很有效。只当需要很少数量的某几种氨基酸，譬如用作质谱的内标准时，这种方法才是可行的。

无论采用何种合成路线，最困难的环节常常是产物的分离和精制，这对收率高低和工作量大小的影响甚至比完成化学反应更为关键。精制方法的选择常取决于反应规模。例如大量制备时很少使用层析技术，使用蒸馏和重结晶不会导致物料的严重损失；少量制备则相反。了解产物的用途常能使精制程序得以简化。譬如说，倘若下一步反应将在水溶液中进行，显然不必浪费精力和时间预先从水溶液中分离出纯粹的晶体。同样，在决定以何种化学形态离析该产

物最为相宜时，应顾及对产物的要求，如分离酸和碱可能要比分离盐难得多，而它们的用途却常是一样的。

在可供选择的合成路线、分离和提纯方法中，究竟哪一种最适合人们的要求，这不仅取决于人们所希望达到的收率，而且必须考虑到这些路线在具体条件（实验设备、试剂供应、研究者的能力和经验）下所耗费的工作量以及可供安排的人员。某一实验室的最佳程序在另一实验室内未必可取^[18]。所选用的合成方法无疑必须符合对产物的要求，这包括标记同位素的种类，标记浓度和标记部位、产物的数量和纯度、该产物的前途和其它用途以及有效的贮藏期等等。对于这些要求，应该了解得尽可能地彻底和详细，而且最好预先知道，当遇到意想不到的困难时，这些要求中哪些可作适当的变通和让步。

第三节 合成技术和装置

反应过程中同位素的存在并不一定意味着必须采用不同于常规合成的新技术，但稳定同位素标记有机合成毕竟有其特殊性。总的说来，由于标记合成的反应规模较小，微量和半微量操作技术显得十分重要，这要求对物料进行精密计量；由于标记原料价格较高，使用中不能浪费和轻易过量；（在将普通制备程序移植于本领域时，这一点尤需注意，因为在普通制备中，经常不必要地过量使用某些原料。）标记合成常用到小分子的标记中间体（如一氧化碳、二氧化碳、氨、氧、甲烷、乙炔、水、氰化氢、各种醇、卤化物、胺类以及很多其它化合物），它们具有足够高的蒸气压，以气态处理更为方便和有效；最后，标记合成要求更严格地避免环境物质的干扰。

由此看来，对于标记合成技术和装置的要求，主要是半微量操作、精确、处理气体、使用惰性气体和密闭系统。如用¹³CO₂对格利雅试剂进行羧化反应时，不采用普通的回流冷凝器，而是接上真空表和二氧化碳源（密闭的发生器或钢瓶），将反应混合物冷至所需的温度，减压至溶剂的蒸汽压，再将二氧化碳-¹³C压入反应器。从

压力表可以掌握原料气进入的速度和数量。这类密闭系统可以是专用的，也可以按照不同的用途装配成不同的形式。实验室内常需进行各种类型的制备反应，由不锈钢组件装配成的歧管非常有用。由于历史原因和现实的供应情况，也由于透过玻璃可以看出反应物外观的变化，多数化学家都熟悉并喜欢玻璃仪器。其实，金属的反应系统往往比玻璃器皿优越，它不仅能在减压条件下使用，且也能承受较高的压力。它由反应器、接头、阀门、真空表和压力计以及进出口和贮器等部件组成，能适应多种用途。一个有机合成工作者，只要想一想、试一试，很快便能熟练地使用钢制仪器。

低压反应可使用常见的玻璃器皿（带有适当的接头以备接入歧管），高压反应则采用各种类型的高压釜。但在很多情况下，各种尺寸的不锈钢气瓶（40、75、150、300、和1000ml容量的气瓶）却是既经济又适用。在接上阀门和其它配件之前向钢瓶中投入包有聚四氟乙烯的磁铁制搅拌棒即可提供有效的搅拌。此时将磁动搅拌器从正常位置偏转 90° ，沿着垂直（或倾斜）的瓶壁安装，就能使瓶内的搅拌棒上下翻飞，更有效地搅拌钢瓶的内容物。如果反应钢瓶不必始终与歧管或其它固定部件相连，则也可以使用振荡器来达到搅拌目的。加热可藉电热线圈或油浴进行。固体原料必须在接上阀门之前投入反应器；液体可按同样方式投入，也可以利用减压抽入已装配好的瓶中。反应完成后拆除附件，倾出固态的或高沸点的液体产物。

钢瓶可用来转移一定数量的气体或低沸点液体。此时可将歧管接上大小适中的贮器钢瓶。利用压力与体积之间的关系式，将一定数量的物质在低温下从贮瓶转移到较小的钢瓶或反应混合物中。对于像氨、二氧化碳之类能在低压下液化的气体，应注意到其压力与体积（也就是压力与其数量）之间的关系式是非线性的。尽管如此，在相当范围内所需作的校正量实际并不大。而且只要在一定压力下对转移入装置中的物质进行称重，就可以作出校正曲线。在转移之前，须先用优良的机械泵将系统减压；但太高的真空度并不必要，更毋需使用扩散泵。尽管一氧化碳在液氮温度下的蒸气压几乎