

N-二异丙基磷酰化氨基酸-*N*-4-氨基吡啉衍生物的合成及对河豚毒素(TTX)解毒生物活性的研究

方 华 陈伟珠 洪碧红 张怡评 易瑞灶*

(国家海洋局第三海洋研究所 海洋生物资源化学与化工中心 厦门 361005)

摘要 通过母体化合物4-氨基吡啉(4-AP)与*N*-二异丙基磷酰化氨基酸(DiPP-AA)在 Ph_3P 和 C_2Cl_6 体系下的缩合反应,将具有生物活性的氨基吡啉环引入到磷酸化氨基酸结构中,设计、合成了5个*N*-二异丙基磷酰化氨基酸-*N*-4-氨基吡啉衍生物A1~A5。所有目标化合物均经IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^{31}P NMR, MS的表征。初步生物活性测试结果表明:目标化合物对河豚毒素(TTX)中毒的小鼠均有一定的解毒作用,并不同程度地延长了生存时间,而且毒性比母体化合物降低了。

关键词 4-氨基吡啉(4-AP); 河豚毒素(TTX); 质谱裂解; 解毒活性

Synthesis of *N*-4-Pyridyl Amide Derivatives of *N*-Diisopropoxyphosphoryl Amino Acids and Antidotal Activity of Tetrodotoxin (TTX)

Fang, Hua Chen, Weizhu Hong, Bihong Zhang, Yiping Yi, Ruizao*

(The Third Institute of Oceanography of the State Oceanic Administration, Xiamen 361005)

Abstract Some novel 4-aminopyridine derivatives of the title compounds containing the unit of *N*-diisopropoxyphosphoryl amino acids were synthesized. Their structures were confirmed by IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, and mass spectra. In the present work, a group of 4-aminopyridine derivatives were synthesized in order to find novel structure with higher antagonize effects and lower toxicity. On the other hand, their fragmentation behaviors were investigated by positive ion electrospray ionization mass spectrometry in conjunction with tandem mass spectrometry. The preliminary bioassay results showed that chemical modification of 4-aminopyridine possessed stronger bioactivity of antidote tetrodotoxin intoxication.

Keyword 4-aminopyridine (4-AP); tetrodotoxin (TTX); ESI-MS/MS; antidote

海洋生物毒素河豚毒素(TTX)中毒是我国食用水产品中毒的一个主要原因。但是,目前临床上对海洋生物毒素 TTX 中毒尚无特效药,主要采取综合对症治疗措施,早期可催吐、洗胃,用 2%碳酸氢钠中和胃内毒素^[1~3]。4-氨基吡啉(4-AP)是近年深受重视的离子通道抑制剂,它对传出神经的各类突触传递均有易化作用,促使中枢乙酰胆碱酯酶(AchE)从神经末段的释放,兴奋正常动物的呼吸,升高血压和加快心率。由于 4-AP 的上述药理学特性使它有可能被发展为一种有效抑制 TTX 毒素中毒的解毒剂药物^[4~6]。1997 年,Chang 等^[7]证实

1~2 mg/kg 剂量的 4-AP 的对 TTX 解毒作用的治疗效果非常惊人。1998 年, Tuncok 等^[8]证实 4-AP 对异博定中毒麻痹的小鼠模型有明显的提高血压和心率的作用。但值得注意的是,4-AP 在较大剂量时对机体正常细胞也造成损伤,当它的用药剂量超过 2 mg/kg 的时候,实验组小鼠会出现乱抓,分泌失调、肌肉抽搐、昏厥和痉挛等威胁生命的副作用。为了增强 4-AP 对 TTX 解毒作用的生物活性,同时减小它的毒性,以化学修饰方法制备 4-氨基吡啉类衍生物,或以其为先导化合物,修饰其结构,显得十分有意义。由于生物体中存在多种磷酸酯和磷酸

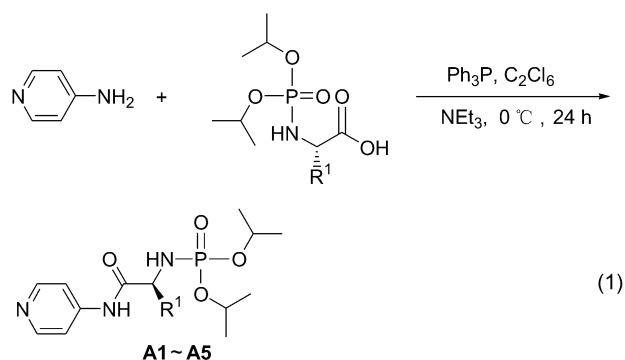
* E-mail: yiruizao@yahoo.com.cn

Received May 10, 2011; revised July 25, 2011; accepted September 15, 2011.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 40806032), and the Natural Science Foundation of Fujian Province (Nos. 2009J05099, 2010NZ0001-2).

国家自然科学基金(No. 40806032)、福建自然科学基金(Nos. 2009J05099, 2010NZ0001-2)资助项目。

酯酶,而含有磷酰化氨基酸端基的药物不但具有良好的生物相容性外,还可能赋予药物分子有类似运转天然物质的性质^[9],所以,我们将不同的 *N*-二异丙基磷酰化氨基酸与母体化合物 4-AP 相结合,合成了一系列 *N*-二异丙基磷酰化氨基酸-*N*-4-氨基吡啶衍生物 **A1**~**A5**,希望得到新型的具有更强解毒作用以及更低毒副作用的 4-氨基吡啶类化合物,具体合成路线如 Eq. 1. 通过 IR、核磁、质谱、高分辨质谱对其结构进行了充分的表征,并利用多级质谱分析了 **A1**~**A5** 加氢离子的 ESI-MS/MS 裂解规律.



$R^1 = \text{CH}_3$ (**A1**), $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (**A2**), $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ (**A3**), $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (**A4**), CH_2Ph (**A5**)

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Yanaco 显微熔点仪,温度计已加校正;Bruker VERTEX-70 红外光谱仪,溴化钾压片;Varian 400 MHz 型核磁共振仪, CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标;Bruker ESQUIRE-3000 离子阱型质谱仪;Waters Micro-mass-LCT Premier 时间飞行质谱仪.

二氯甲烷用 P_2O_5 回流干燥处理,四氢呋喃用金属钠回流干燥,其余试剂与溶剂均为化学纯或分析纯,不需进一步纯化处理.

1.2 中间体 DiPP-AA 的合成

N-二异丙基磷酰化氨基酸(DiPP-AA)根据文献合成,制备所得产物的主要理化性质与文献报道一致^[10,11].

1.3 目标化合物 A1~A5 的合成

50 mL 装入圆底烧瓶中称取 Ph_3P (0.39 g, 1.50 mmol)和 C_2Cl_6 (0.39 g, 1.65 mmol),加入干燥处理过的 15 mL 二氯甲烷,在冰盐浴 $0\sim 5\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下反应 30 min,待用.在另一个 50 mL 圆底烧瓶中称取 1 mmol DiPP-AA 和 1 mmol 4-AP (94 mg)加入 15 mL 四氢呋喃 (THF),同时注入三乙胺(0.6 mL)让它们完全溶解,将 THF 溶液慢慢滴加到上述 Ph_3P 和 C_2Cl_6 的反应液中^[12~14].冰盐浴条件下,反应 24 h.反应液显悬浊状,

砂芯漏斗滤去白色固体,减压浓缩除去有机溶剂,加入 30 mL 水,乙酸乙酯萃取二次,有机相用无水 MgSO_4 干燥 4~5 h,过滤,减压浓缩得到粗产物,常压柱层析,即得产物.

N-二异丙基磷酰化丙氨酸-*N*-4-氨基吡啶(**A1**):白色固体,产率 74%. m.p. $117.8\sim 119.5\text{ }^\circ\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.14 (br, 1H, NH), 8.47 (d, $J=6\text{ Hz}$, 2H, PyH), 7.61 (d, $J=6\text{ Hz}$, 2H, PyH), 4.61~4.58 (m, 2H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 4.09~4.06 (m, 1H, CH), 3.96 (br, 1H, NH), 1.49 (t, $J=4\text{ Hz}$, 3H, CH_3), 1.33~1.31 (m, 12H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 173.1 (C=O), 150.5, 145.9, 113.6, 110.1 (Py), 71.7 ($\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 71.5 ($\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 51.9 (CH), 24.0 ($\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 20.9 (CH_3); IR (KBr) ν : 3310 (N—H), 2979, 1703 (C=O), 1595, 1524 (芳环骨架振动), 1221 (P=O), 998, 837 (P—O—C) cm^{-1} ; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 160 MHz) δ : 4.92; MS m/z : 330 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 352 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 189, 301; HRMS (TOF-MS) calcd for $[\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_4\text{P}+\text{H}]^+$ 330.1577, found 330.1574.

N-二异丙基磷酰化亮氨酸-*N*-4-氨基吡啶(**A2**):白色固体,产率 63%. m.p. $198.2\sim 200.4\text{ }^\circ\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.04 (br, 1H, NH), 8.49 (d, $J=5\text{ Hz}$, 2H, PyH), 7.63 (d, $J=5\text{ Hz}$, 2H, PyH), 4.55~4.63 (m, 2H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 3.90~3.95 (m, 2H, NH, CHCH_2), 1.78~1.82 (m, 1H, CHCH_2H_b), 1.68~1.69 (m, 1H, CHCH_2H_b), 1.58~1.61 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.27~1.33 (m, 12H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 0.93~0.96 (m, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 173.4 (C=O), 150.5, 145.6, 113.7 (Py), 72.1 ($\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 71.9 ($\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 55.3 (NHCH), 43.4 (CH_2CH), 24.7 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 23.8 ($\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 21.9 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); IR (KBr) ν : 3264 (N—H), 2977, 1690 (C=O), 1594, 1531 (芳环骨架振动), 1222 (P=O), 990, 835 (P—O—C) cm^{-1} ; ^{31}P NMR (CDCl_3 , 160 MHz) δ : 4.92; MS m/z : 372 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 394 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 205, 239; HRMS (TOF-MS) calcd for $[\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_4\text{P}+\text{H}]^+$ 372.2047, found 372.2062.

N-二异丙基磷酰化异亮氨酸-*N*-4-氨基吡啶(**A3**):白色固体,产率 72%. m.p. $195.7\sim 198.1\text{ }^\circ\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 10.08 (br, 1H, NH), 8.47 (d, $J=5\text{ Hz}$, 2H, PyH), 7.63 (d, $J=5\text{ Hz}$, 2H, PyH), 4.52~4.62 (m, 2H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 4.00 (br, 1H, NH), 3.73~3.78 (m, 1H, CHNH), 1.83~1.85 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{H}_b\text{CH}_3$), 1.68~1.70 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{H}_b\text{CH}_3$), 1.15~1.19 (m, 1H, CHCH_3), 1.27~1.32 (m, 12H, $2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 0.97~0.98 (m, 3H, CHCH_3), 0.91~0.88 (m, 3H, CH_2CH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100

MHz) δ : 172.8 (C=O), 150.4, 145.6, 113.8, (Py), 72.0 (OCH(CH₃)₂), 71.6 (OCH(CH₃)₂), 61.5 (CH), 38.7 (CHCH₃), 24.8 (CH₂CH₃), 23.7 (OCH(CH₃)₂), 15.5 (CHCH₃), 11.2 (CH₂CH₃); IR (KBr) ν : 3256 (N—H), 2979, 1686 (C=O), 1595, 1534 (芳环骨架振动), 1224 (P=O), 998, 832 (P—O—C) cm⁻¹; ³¹P NMR (CDCl₃, 160 MHz) δ : 4.97; MS m/z 372 [M+H]⁺, 394 [M+Na]⁺, 239, 301; HRMS (TOF-MS) calcd for [C₁₇H₃₁N₃O₄P+H]⁺ 372.2047, found 372.2047.

N-二异丙基磷酰化缬氨酸-*N*-4-氨基吡啶(**A4**): 白色固体, 产率 65%. m.p. 177.6~182.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 10.32 (br, 1H, NH), 8.47 (d, J =5 Hz, 2H, PyH), 7.69 (d, J =5 Hz, 2H, PyH), 4.52~4.62 (m, 2H, 2OCH(CH₃)₂), 4.02~4.04 (m, 1H, CHNH), 3.69~3.74 (m, 1H, CHNH), 2.05~2.13 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 1.21~1.34 (m, 12H, 2OCH(CH₃)₂), 1.03~1.01 (m, 6H, CH(CH₃)₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 173.0 (C=O), 149.6, 141.8, 113.9 (Py), 71.9 (OCH(CH₃)₂), 71.7 (OCH(CH₃)₂), 62.4 (CH), 32.0 (CH(CH₃)₂), 23.76 (OCH(CH₃)₂), 19.37 CH(CH₃)₂, 18.19 (CH(CH₃)₂); IR (KBr) ν : 3260 (N—H), 2979, 1688 (C=O), 1594, 1535 (芳环骨架振动), 1224 (P=O), 999, 831 (P—O—C) cm⁻¹; ³¹P NMR (CDCl₃, 160 MHz) δ : 3.49; MS m/z : 358 [M+H]⁺, 380 [M+Na]⁺, 301; HRMS (TOF-MS) calcd for [C₁₆H₂₈N₃O₄P+H]⁺ 358.1890, found 358.1898.

N-二异丙基磷酰化苯丙氨酸-*N*-4-氨基吡啶(**A5**): 白色固体, 产率 70%. m.p. 197.9~201.1 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 9.40 (br, 1H, NH), 8.47 (d, J =5 Hz, 2H, PyH), 7.50 (d, J =5 Hz, 2H, PyH), 7.17~7.30 (m, 5H, ArH), 4.41~4.50 (m, 2H, 2OCH(CH₃)₂), 4.14~4.20 (m, 1H, CH), 3.12~3.18 (m, 2H, CH₂), 1.78 (br, 1H, NH), 1.16~1.31 (m, 12H, 2OCH(CH₃)₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 171.8 (C=O), 150.7, 144.9, 113.6 (Py), 136.2, 129.5, 128.8, 127.2 (Ar), 72.1 (OCH(CH₃)₂), 72.0 (OCH(CH₃)₂), 57.6 (CH), 39.4 (CHCH₂), 23.7 (OCH(CH₃)₂); IR (KBr) ν : 3273 (N—H), 2980, 1691 (C=O), 1596, 1535 (芳环骨架振动), 1224 (P=O), 991, 836 (P—O—C) cm⁻¹; ³¹P NMR (CDCl₃, 160 MHz) δ : 5.29; MS m/z : 406 [M+H]⁺, 428 [M+Na]⁺, 301, 189; HRMS (TOF-MS) calcd for [C₂₀H₂₈N₃O₄P+H]⁺ 406.1890, found 406.1899.

1.4 对 TTX 解毒活性的测定方法

TTX 毒素和解毒剂药物溶液在使用前几分钟配制. 注射用 TTX 溶液是从储备液的 TTX (1 μ g/mL in 0.03% 乙酸; 本实验室自制)配制而成. TTX 毒素的给药剂量是

0.45 μ g/mL(腹腔注射 0.5 mL). 4-AP 以及所合成的化合物 **A1**~**A5** 解毒剂的剂量是 0.03 mg/mL(腹腔注射 0.5 mL). 昆明种实验小鼠从厦门大学医学院购置, 动物单独关在带有食物和铺垫的塑料篮子里.

2 结果与讨论

2.1 中间体及目标化合物的合成

N-二异丙基磷酰化氨基酸(DiPP-AA)根据文献合成, 制备所得产物的主要理化性质与文献报道一致^[12]. Ph₃P 和 C₂Cl₆ 在溶液中“现场生成”缩合剂, 无需预先制备目标分子, 由于缩合剂的生成是发热反应, 冰盐浴的温度最好控制在 0~5 °C, 同时, 生成的缩合剂在 CH₂Cl₂ 中溶解度不是很好, 1 mmol 的反应物需加入 10 mL CH₂Cl₂ 溶剂, 反应液才会是澄清液, 如果 CH₂Cl₂ 溶剂量太少, “现场生成”的缩合剂会以固体形式析出, 不利于下一步的缩合反应. 另外, 由于 4-AP 在 CH₂Cl₂, CH₃CN 以及 1,4-二氧六环中的溶解度非常小, 在上述溶剂中反应不易进行, 而在 THF 中的溶解度较好, 我们选择 THF 为反应媒介. 反应过程中会产生 3 equiv. 的 HCl 副产物, 如果反应溶液中长时间存在过量的 HCl 会把磷酸酯上的异丙基切断, 而导致产生其他副产物, 所以, 实验过程中应当加入 3.5 equiv. 的缚酸剂 Et₃N, 让反应溶液尽量保持中性, 以避免其他副产物的生成.

2.2 目标化合物的结构表征

在 IR 谱图中, 目标化合物 **A1**~**A5** 的红外光谱均在 1686~1703 cm⁻¹ 有强的强吸收峰, 是羰基的伸缩振动吸收峰; 在 3310~3256 cm⁻¹ 有强吸收, 是酰胺键的 N—H 伸缩振动吸收峰; 化合物在 1594~1596 (s) 和 1524~1535 cm⁻¹ (s) 有强吸收, 是芳环碳骨架伸展振动吸收峰($\nu_{\text{芳环}}$); 在 1221~1224 cm⁻¹ (s) 有强吸收, 是磷氧双键伸展振动吸收峰($\nu_{\text{P=O}}$); 在 991~999 cm⁻¹ (s) 有强的双峰吸收峰, 是 P—O—C 的伸展振动吸收峰($\nu_{\text{P-O-C}}$). 这就表明这些化合物里既有芳环、羰基, 又有酰胺键、磷氧双键、磷氧键.

表 1 列出化合物 **A1**~**A5** 加氢离子的电喷雾多级质谱碎片离子及相对丰度. 对化合物 *N*-二异丙基磷酰化氨基酸-*N*-4-氨基吡啶衍生物加氢母离子进行电子轰击时, 可以得到以下主要的碎片离子: a 离子[M-42]⁺ ([M-C₃H₆]⁺), b 离子[M-122]⁺ ([M-NC₃H₄NHCHO]⁺), c 离子[M-164]⁺ 和 d 离子[M-206]⁺ ([M-C₁₂H₁₈N₂O]⁺). a 碎片是母离子在电子的轰击作用下失去一分子丙烯得到[M-C₃H₆]⁺的离子峰, b 碎片是 C—C(与羰基相连的碳原子)键发生断裂而失去一分子吡啶甲酰胺分子后得到的离子峰[M-NC₃H₄NHCHO]⁺. 为了进一步分析 c 碎片的分子结构, 有必要对二级离子碎片做第三级电子

轰击. 以化合物 **A3** 为例说明此 4-氨基吡啶衍生物化合物的裂解规律. 对 **A3** 的分子离子峰 $m/z=372$ 作二级质谱轰击得到 $m/z=330$ (a 离子 $[M-42]^+$), 250 (b 离子 $[M-122]^+$), 208 (c 离子 $[M-164]^+$) 和 166 (d 离子 $[M-206]^+$) 的碎片离子峰. a 离子 $m/z=330$ 是母离子失去一分子丙烯的碎片峰, 对它作三级质谱轰击得到的是再失去一分子单异丙基亚磷酸酯片段的 c 碎片离子 $m/z=208$, 同时, b 离子 $m/z=250$ 是母离子失去一分子吡啶甲酰胺分子的碎片峰, 对它做三级质谱轰击将得到接连失去两分子丙烯的 c' 碎片离子 $m/z=208$ 和 d 碎片离子 $m/z=166$. 碰巧的是 c 和 c' 的碎片离子都是 $m/z=208$, 但是它们所对应的离子结构完全不一样. 其他 *N*-二异丙基磷酰化氨基酸-*N*-4-氨基吡啶衍生物在 ESI-MS/MS 质谱中都表现出与 **A3** 相同的裂解规律. 图 1 是 *N*-二异丙基磷酰化氨基酸-*N*-4-氨基吡啶衍生物 **A1**~**A5** 加氢离子的裂解途径示意图.

2.3 目标化合物的生物活性

对所合成的化合物进行了 TTX 中毒小鼠的解毒活性研究, 并与母体化合物 4-AP 的活性进行了比较. 活性实验过程中, 以活体昆明种(KM 种)小鼠为实验对象, 将 42 只 18~22 g KM 小鼠分成 7 组, 每组 6 只(第 1 组为空白对照组, 第 2~7 组为解毒剂实验组). 每组小鼠都腹腔注射致死量的 TTX 毒素(0.45 $\mu\text{g/mL}$, 腹腔注射 0.5 mL), 在腹腔注射完 TTX 毒素后, 解毒剂实验组马上腹腔注射 4-AP 以及所合成的化合物 **A1**~**A5** (0.03 mg/mL, 腹腔注射 0.5 mL)解毒剂进行解毒实验, 空白对照组给予等剂量的纯净水注射. 实验小鼠从中毒到死亡的过程中, 各组的小鼠基本表现出相同的症状, 死亡前会强烈抽搐, 跳跃, 最后呼吸衰竭死亡, 记录死亡时间作为活性筛选的依据.

从表 1 可以明显看出, 没有给解毒剂的空白对照组小鼠其存活时间只有(581 $\pm$ 61) s. 而解毒剂实验组小鼠给母体化合物 4-AP 解毒剂(0.03 mg/mL, 腹腔注射 0.5 mL)的时候, 实验小鼠的存活时间有明显的增加, 达到了(948 $\pm$ 61) s, 说明 4-氨基吡啶确实对 TTX 中毒的小鼠

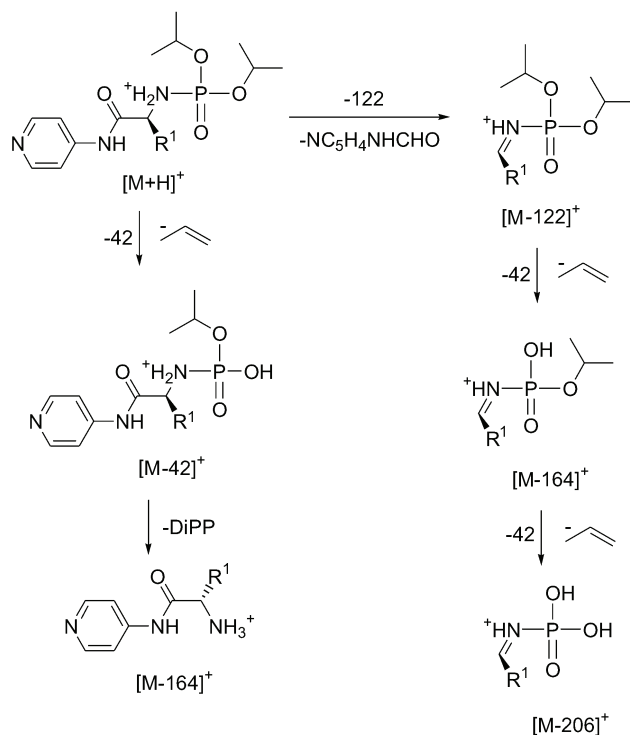


图 1 化合物 **A1**~**A5** 加氢离子的 ESI-MS/MS 碎裂途径示意图

Figure 1 Fragmentation pattern obtained from the product ion scan of the protonated molecules from compounds **A1**~**A5**

有一定的解毒并延长其存活时间的功效.

当我们进一步考察所合成化合物 **A1**~**A5** 的解毒功效时, 发现吡啶环上 4 位氨基经过修饰的后的化合物 **A1**~**A5** 对 TTX 中毒小鼠都有不同程度的解毒作用, 其中以 **A1** 的解毒功效最好, 其对中毒小鼠延长存活时间达到 2 倍多[存活时间(1168 $\pm$ 186) s, 甚至有一只小鼠没有死亡, 显著差异 $p<0.05$], 以上的实验数据充分说明母体化合物 4-AP 经过 4-位氨基的磷酰化修饰后的化合物能延长中毒小鼠的存活时间.

在化合物毒性实验中, 我们设计以下实验, 实验小鼠在亚致死量 TTX (0.15 $\mu\text{g/mL}$, 0.5 mL)作用下, 腹腔注射 4-AP (0.06 mg/mL, 0.5 mL)和合成的 **A1** (0.06

表 1 解毒剂化合物 **A1**~**A5** 对致死剂量 TTX 作用下小鼠存活时间的比较(s)
Table 2 Comparison of survival time (s) of compounds **A1**~**A5** on lethal dose of TTX

No.	TTX	4-AP	A1	A2	A3	A4	A5
1	840	988	648	529	629	718	739
2	681	960	1296	655	1143	1050	1042
3	501	898	930	903	785	980	635
4	422	976	1209	1012	1003	848	812
5	555	1008	1757	529	886	1052	858
6	527	860	∞	871	1309	817	871
平均	581 $\pm$ 61	948 $\pm$ 23	1168 $\pm$ 186	794 $\pm$ 88	954 $\pm$ 108	991 $\pm$ 58	783 $\pm$ 43

mg/mL, 0.5 mL), 观察小鼠的死亡时间. 实验结果表明, 在亚致死剂量的 TTX 作用下, 腹腔注射 4-AP (0.06 mg/mL, 0.5 mL) 的小鼠, 其死亡率达到 67% (6 只实验小鼠在 60 min 试验过程中 4 只小鼠出现死亡), 说明达到一定剂量的 4-AP 具有相当的毒性, 但是经过修饰的化合物 A1 在同样剂量的 TTX 下并没有出现死亡小鼠, 即修饰过的 4-氨基吡啉衍生物毒性较其母体结构的毒性下降了.

3 结论

本文以 4-氨基吡啉为原料, 对其 4 位氨基进行了结构修饰改造, 设计合成了 5 个对 TTX 解毒作用未见报道的 4-AP 修饰衍生物, 它们的结构通过 IR、核磁、质谱、高分辨质谱进行了充分的表征, 确证了结构. 同时, 初步测试了它们对 TTX 中毒小鼠的解毒活性, 实验结果显示, 4-AP 修饰衍生物对 TTX 中毒小鼠均有不同程度的延长生存时间, 都有一定的解毒活性, 而且经过结构修饰后的化合物其毒性下降了.

References

- [1] Song, W.-Z.; Gu, D.-X. *China Public Health* **2000**, *16*, 947 (in Chinese).
- [2] Hong, Z.; Yi, R.-Z.; Xu, C.; Yang, Z.-W.; Zhang, Y.-Y. *Chin. J. Marine Drugs* **2004**, *23*, 49 (in Chinese).
(洪专, 易瑞灶, 许晨, 杨志文, 张扬扬, 中国海洋药物, **2004**, *23*, 49.)
- [3] Chen, H. M.; Lin, C. H.; Wang, T. M. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1996**, *141*, 44.
- [4] Benton, B. J.; Keller, S. A.; Spriggs, D. L.; Capacio, B. R.; Chang, F.-C. T. *Toxicon* **1998**, *36*, 571.
- [5] Chang, F. T. C.; Robert, M.; Capacio, B. R. *Toxicon* **1996**, *34*, 671.
- [6] Hu, G.-X.; Lin, D.; Chen, Z.-K. *J. Wenzhou Med. College* **1992**, *22*, 141 (in Chinese).
(胡国新, 林丹, 陈志康, 温州医学院学报, **1992**, *22*, 141.)
- [7] Chang, F. T. C.; Spriggs, D. L.; Benton, B. J.; Keller, S. A.; Capacio, B. R. *Fundam. Appl. Toxicol.* **1997**, *38*, 75.
- [8] Tuncok, Y.; Apaydin, S.; Gelal, A.; Ates, M.; Guven, H. *J. Toxicol., Clin. Toxicol.* **1998**, *36*, 301.
- [9] Ni, F.; Li, W.; Li, Y.-M.; Zhao, Y.-F. *Curr. Protein Pept. Sci.* **2005**, *6*, 437.
- [10] Zhao, Y.-F.; Zhang, J.-C.; Cao, S.-X.; Xu, J.; Rong, C.-L.; Qu, L.-B. *Chin. J. Org. Chem.* **2004**, *24*, 609 (in Chinese).
(赵玉芬, 张建臣, 曹书霞, 徐军, 荣垂林, 屈凌波, 有机化学, **2004**, *24*, 609.)
- [11] Brands, K. M. J.; Wiedbrauk, K.; Williams, J. M.; Dolling, U. H.; Reider, P. J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9583.
- [12] Appel, R.; Baeumer, G.; Struever, W. *Chem. Ber.* **1975**, *108*, 2680.
- [13] Appel, R.; Roland, M. *Chem. Ber.* **1977**, *110*, 2382.
- [14] Yin, Q.; Ye, Y.; Tang, G.; Zhao, Y.-F. *Spectrochim. Acta: Part A* **2006**, *63*, 192.

(Cheng, F.; Lu, Z.)