

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102250048 A

(43) 申请公布日 2011. 11. 23

(21) 申请号 201110149874. X

A61K 31/343(2006. 01)

(22) 申请日 2011. 06. 03

A61P 25/24(2006. 01)

A61P 25/16(2006. 01)

(71) 申请人 浙江工业大学

地址 310014 浙江省杭州市下城区潮王路
18 号

(72) 发明人 王宇光 刘江 朱勃

(74) 专利代理机构 杭州天正专利事务所有限公
司 33201

代理人 黄美娟 王兵

(51) Int. Cl.

C07D 307/79(2006. 01)

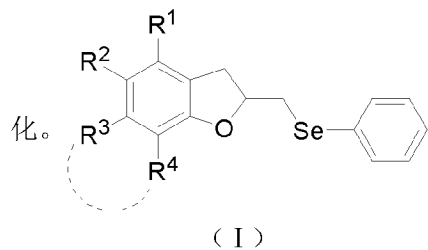
权利要求书 2 页 说明书 8 页

(54) 发明名称

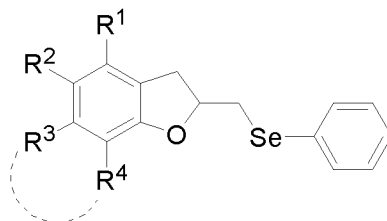
2- 苯硒基甲基 -2, 3- 二氢苯并呋喃及其制备
与应用

(57) 摘要

本发明公开了一种式 (I) 所示 2- 苯硒基甲
基 2, 3- 二氢苯并呋喃类化合物及其制备方
法与应用 ; 以式 (II) 所示的苯基硒溴和式 (III) 所
示的取代邻烯丙基苯酚为原料, 在催化剂的作
用下, 于有机溶剂中、0 ~ 62°C 条件下反应 0. 5 ~ 5h, 制
得所述的 2- 苯硒基甲基 2, 3- 二氢苯并呋喃类
化合物 ; 所述有机溶剂为下列之一 : C3 ~ C6 酮、四
氢呋喃、二氧六环、C2 ~ C4 腈或 C1 ~ C2 卤代
烃 ; 所述的催化剂为所述的催化剂为下列之一 : 三
乙胺、吡啶、或四甲基乙二胺 ; 本发明化合物
具抑制单胺氧化酶活性, 是一种具有显著抑制
单胺氧化酶活性的抑制剂药物, 为抗抑郁、抗
帕金森等新药筛选提供了研究基础 ; 合成工艺
简单, 易于产业



1. 一种式 (I) 所示 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物：

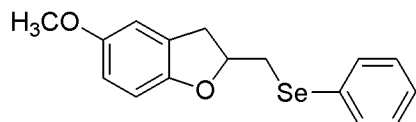


(I)

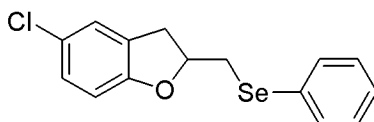
式 (I) 中： R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 各自独立为 H、羟基、卤素、硝基、C1 ~ C3 的烷基、苯甲酰基或取代苯甲酰基、C1 ~ C2 的烷氧基，所述取代苯甲酰基的取代基为：卤素、硝基、C1 ~ C3 的烷基、C1 ~ C2 的烷氧基，所述 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 不同时为 H，并且 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 其中一个为烷基时，其它三个不同时为 H；或者所述的 R^3 、 R^4 连接成苯环。

2. 如权利要求 1 所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物，其特征在于所述的 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 各自独立为 H、羟基、F、Cl、Br、I、硝基、甲基、甲氧基或苯甲酰基。

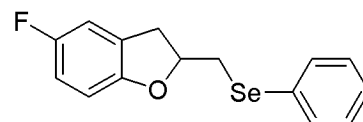
3. 如权利要求 1 所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物，其特征在于所述的化合物为下列之一：



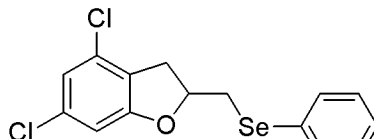
(I -1)



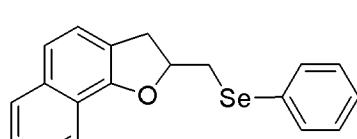
(I -2)



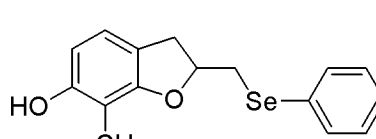
(I -3)



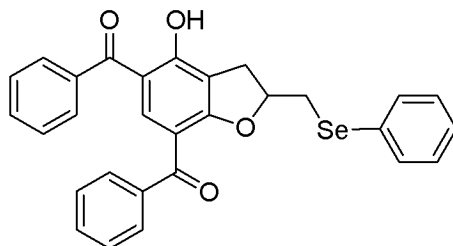
(I -4)



(I -5)



(I -6)

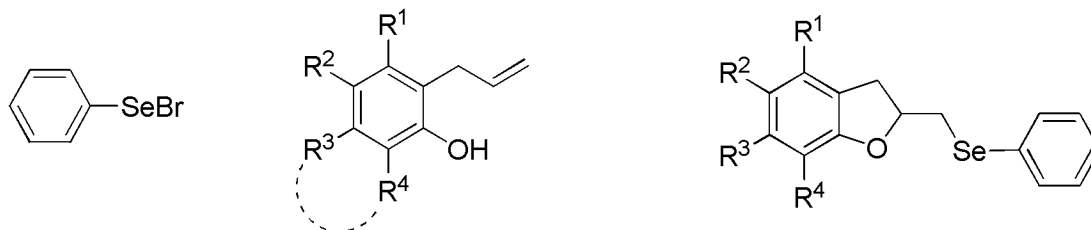


(I -7)

4. 一种制备如权利要求 1 所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物的方法，其特征在于所述的方法为：以式 (II) 所示的苯基硒溴和式 (III) 所示的取代邻烯丙基苯酚为原料，在催化剂的作用下，于有机溶剂中、在氮气气氛下，0 ~ 62℃ 条件下反应 0.5 ~ 5h，反应结束后反应液后处理制得所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物；所述有机溶剂为下列之一：C3 ~ C6 酮、四氢呋喃、二氧六环、C2 ~ C4 腈或 C1 ~ C2 卤代烃；所述的催化剂为三乙胺、吡啶、或四甲基乙二胺。

5. 如权利要求 4 所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物的制备方法，其特征在于所述的有机溶剂为下列之一：丙酮、乙醚、四氢呋喃、二氯甲烷、三氯甲烷、氯仿、1,

4- 二氧六环或乙腈。



(II)

(III)

(I)

式 (I)、(III) 中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 各自独立为 H、羟基、卤素、硝基、C1 ~ C3 的烷基、苯甲酰基或取代苯甲酰基、C1 ~ C2 的烷氧基, 所述取代苯甲酰基的取代基为: 卤素、硝基、C1 ~ C3 的烷基、C1 ~ C2 的烷氧基, 所述 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 不同时为 H, 并且 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 其中一个为烷基时, 其它三个不同时为 H; 或者所述的 R^3 、 R^4 连接成苯环。

6. 如权利要求 4 所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物的制备方法, 其特征在于所述的式 (II) 所示的苯基硒溴与式 (III) 所示的取代邻烯丙基苯酚投料物质的量之比为 0.80 ~ 1.20 : 1, 式 (II) 所示的苯基硒溴与催化剂投料物质的量之比为 1 : 1 ~ 2。

7. 如权利要求 4 所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物的制备方法, 其特征在于所述有机溶剂的体积用量以式 (II) 所示的化合物质量计为 1.5 ~ 200mL/g。

8. 如权利要求 4 所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物的制备方法, 其特征在于所述的后处理方法为: 反应结束后, 反应液用二氯甲烷或饱和食盐水萃取, 有机相水洗, 再用无水硫酸镁干燥, 浓缩, 得粗品, 再以体积比 30 : 1 的石油醚与乙酸乙酯混合液为洗脱剂对粗品进行柱层析或用体积比 100 : 1 的石油醚与二氯甲烷混合液重结晶来提纯精制, 制得所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物。

9. 一种如权利要求 1 所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物在单胺氧化酶活性抑制中的应用。

10. 如权利要求 1 所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物在单胺氧化酶活性抑制中的应用, 所述的化合物为 (I-1)、(I-2)、(I-3)、(I-6)、(I-7)。

2- 苯硒基甲基 -2, 3- 二氢苯并呋喃及其制备与应用

(一) 技术领域

[0001] 本发明涉及一种 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物及其制备与应用。

(二) 背景技术

[0002] 单胺氧化酶 (monoamine oxidase) 为催化单胺氧化脱氨反应的酶。缩写 MAO, 也有称为含黄素胺氧化酶的, 可使儿茶胺类神经递质失活的酶, 可用作抗抑郁征药物。

[0003] 现有单胺氧化酶抑制剂主要是某些胍类和非胍类化合物, 它们抑制单胺氧化酶, 表现出抗抑郁作用, 包括胍类的苯乙胍、异羧胍、尼拉米, 非胍类的反苯环丙胺等。该类药物通过抑制单胺氧化酶, 减少儿茶酚胺的代谢失活, 促使突触部位的儿茶酚胺含量增多, 产生抗抑郁作用, 并有降压作用。但是这类药物除抑制单胺氧化酶, 对肝脏的药物代谢酶也有抑制作用, 副作用较多, 可产生中枢兴奋, 诱使精神病发作, 有肝脏毒性, 引起体位性低血压。因此有必要筛选新的单胺氧化酶抑制剂, 以替代现有的抗抑郁药物。

[0004] 苯并呋喃类化合物是天然产物中常见的结构成分之一, 具有多种重要的生理活性, 例如, 激动雌激素受体亚型, 拮抗甲状腺素受体和 H3 受体, 抑制组蛋白去乙酰化酶等等, 他们在防治帕金森病, 骨质疏松症, 阿尔茨海默病, 心律失常以及肿瘤等方面起到显著的作用。一直以来人们都在寻找建立该类化合物的分子库, 从而系统地进行生物活性的筛选。合成 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物的方法有很多, 例如, Chemistry of Heterocyclic Compounds, 2010, 46 (2), 158-169. 、 Org. Lett. , 2010, 12 (15), 3498-3501. 、 Journal of Organic Chemistry, 2009, 74 (7), 2850-2853.

[0005] 但这些方法大多反应步骤多, 产率低, 虽然有些方法条件简单但是产率较低。本发明通过苯基硒溴与邻烯丙基苯类化合物发生分子内硒亲电加成关环反应, 一步反应高收率地制备了一类新的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物, 该类化合物是一种具有显著抑制单胺氧化酶活性的抑制剂药物, 为抗抑郁、抗帕金森等新药筛选提供了研究基础。

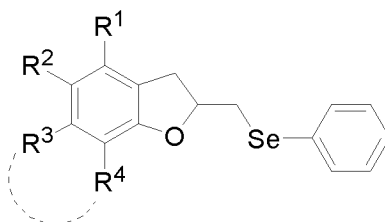
(三) 发明内容

[0006] 本发明目的是提供一种 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物及其制备方法, 以及该类化合物在单胺氧化酶 (MAO) 抑制剂药物中的应用, 该类化合物对单胺氧化酶具有显著的抑制作用, 该类化合物合成工艺简单, 易于产业化。

[0007] 本发明采用的技术方案是:

[0008] 一种式 (I) 所示 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物:

[0009]



(I)

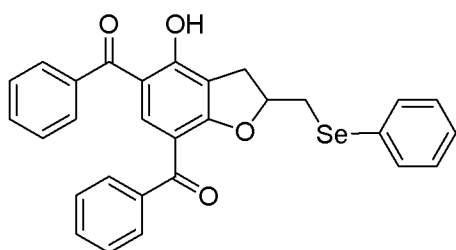
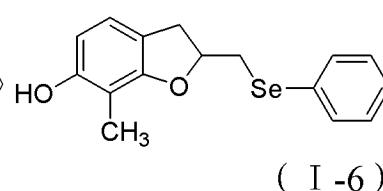
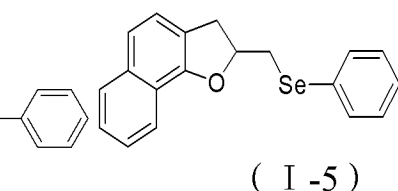
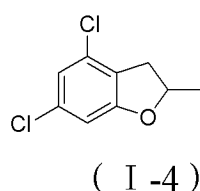
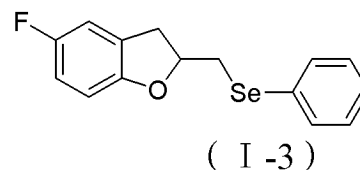
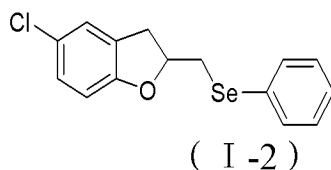
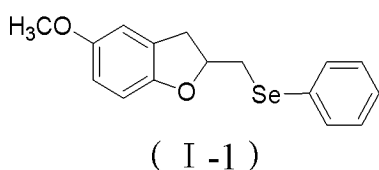
[0010] 式 (I) 中：

[0011] R^1, R^2, R^3, R^4 各自独立为 H、羟基、卤素、硝基、C1 ~ C3 的烷基、苯甲酰基或取代苯甲酰基、C1 ~ C2 的烷氧基，所述取代苯甲酰基的取代基为：卤素、硝基、C1 ~ C3 的烷基、C1 ~ C2 的烷氧基；所述 R^1, R^2, R^3, R^4 不同时为 H，并且 R^1, R^2, R^3, R^4 其中一个为烷基时，其它三个不同时为 H；或者所述的 R^3, R^4 连接成苯环。

[0012] 优选的，所述的 R^1, R^2, R^3, R^4 各自独立为 H、羟基、F、Cl、Br、I、硝基、甲基、甲氧基或苯甲酰基。

[0013] 所述的 2-苯硒基甲基 2,3-二氢苯并呋喃类化合物优选为下列之一：

[0014]

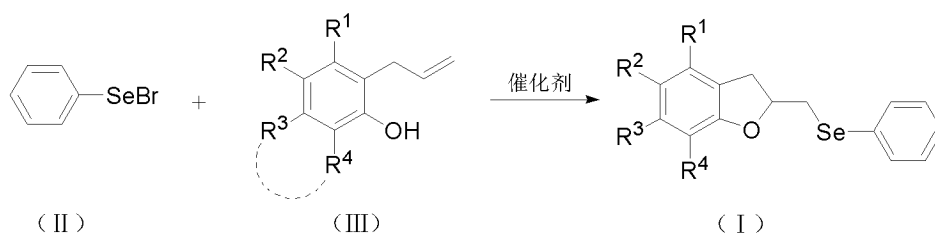


[0015] (I-7)。

[0016] 一种制备本发明所述的 2-苯硒基甲基 2,3-二氢苯并呋喃类化合物的方法，所述的方法为：以式 (II) 所示的苯基硒溴和式 (III) 所示的取代邻烯丙基苯酚为原料，在催化剂的作用下，于有机溶剂中、在氮气气氛下，0 ~ 62°C 条件下反应 0.5 ~ 5h，TLC 跟踪反应，反应结束后反应液后处理制得所述的 2-苯硒基甲基 2,3-二氢苯并呋喃类化合物；所述有机溶剂为下列之一：C3 ~ C6 酮、四氢呋喃、二氧六环、C2 ~ C4 腈或 C1 ~ C2 卤代烃；所述的催化剂为下列之一：三乙胺、吡啶、或四甲基乙二胺。

[0017] 所述的有机溶剂优选为下列之一：丙酮、乙醚、四氢呋喃、二氯甲烷、三氯甲烷、氯仿、1,4-二氧六环或乙腈。

[0018]



[0019] 式 (I)、(III) 中 R^1, R^2, R^3, R^4 各自独立为 H、羟基、卤素、硝基、C1 ~ C3 的烷基、苯

甲酰基或取代苯甲酰基、C1 ~ C2 的烷氧基,所述 取代苯甲酰基的取代基为:卤素、硝基、C1 ~ C3 的烷基、C1 ~ C2 的烷氧基,并且 R¹、R²、R³、R⁴ 其中一个为烷基时,其它三个不同时为 H;或者所述的 R³、R⁴ 连接成苯环。

[0020] 进一步,2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物的制备方法中,所述的式 (II) 所示的苯基硒溴与式 (III) 所示的取代邻烯丙基苯酚投料物质的量之比为 0.80 ~ 1.20 : 1,式 (II) 所示的苯基硒溴与催化剂投料物质的量之比为 1 : 1 ~ 2。

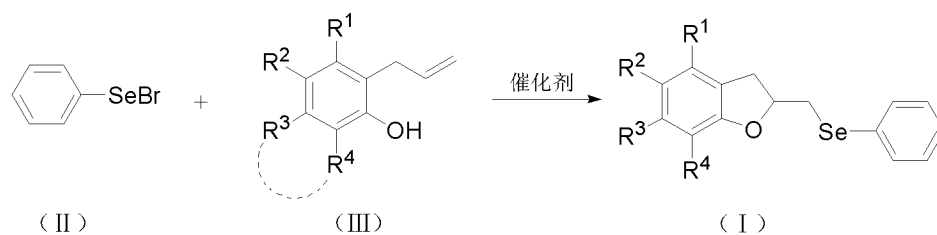
[0021] 进一步,2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物的制备方法中,所述有机溶剂的体积用量以式 (II) 所示的化合物质量计为 1.5 ~ 200mL/g。

[0022] 所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物的制备方法中,所述的后处理方法为:反应结束后,反应液用二氯甲烷或饱和食盐水萃取,有机相水洗,再用无水硫酸镁干燥,浓缩,得粗品,再以体积比 30 : 1 的石油醚与乙酸乙酯混合液为洗脱剂进行柱层析或用体积比 100 : 1 的石油醚与二氯甲烷混合液重结晶来提纯精制,得所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物。

[0023] 所述的反应温度优选为 25 ~ 62°C,优选反应 0.5 ~ 5h。

[0024] 本发明所述的制备 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物的反应式为:

[0025]



[0026] 一种本发明所述的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物在单胺氧化酶活性抑制中的应用。

[0027] 与现有技术相比,本发明的有益效果主要体现在:(1) 本发明通过苯基硒溴与邻烯丙基苯类化合物发生分子内硒亲电加成关环反应,一步高收率地制备了一类新的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物;(2) 本发明提供了一种新的 2- 苯硒基甲基 2,3- 二氢苯并呋喃类化合物;(3) 该类化合物是一种具有显著抑制单胺氧化酶活性的抑制剂药物,为抗抑郁、抗帕金森等新药筛选提供了研究基础;(4) 本发明所述的化合物,合成工艺简单,收率高,易于产业化。

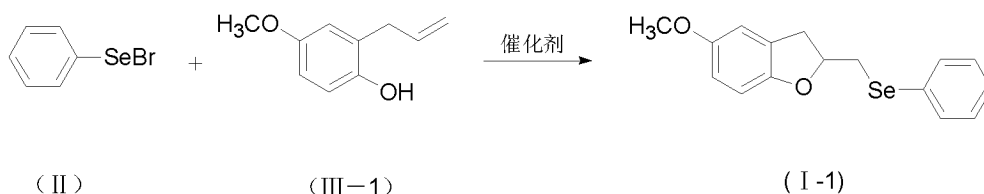
(四) 具体实施方式

[0028] 下面结合具体实施例对本发明进行进一步描述,但本发明的保护范围并不仅限于此:

[0029] 实施例 1 :5- 甲氧基 -2- 苯硒基甲基 -2,3- 二氢苯并呋喃 (I-1) 的制备

[0030] 反应式如下:

[0031]



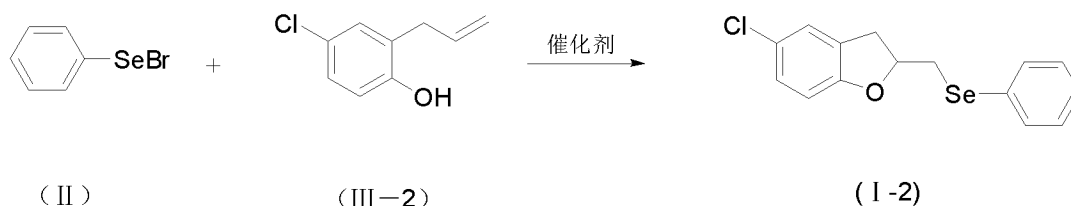
[0032] 在氮气气氛下,将 0.328g(2.0mmol) 2-烯丙基-4-甲氧基苯酚(III-1)溶于 20mL 二氯甲烷中,加入 0.472g(2.0mmol) 苯基硒溴(II),最后加入 0.237g(3.0mmol) 吡啶,25℃ 反应 2.0 小时,TLC 跟踪反应,2-烯丙基-4-甲氧基苯酚(III-1)点消失,反应完全,用 20mL 二氯甲烷萃取,有机相水洗 20mL×3,再用无水硫酸镁干燥,浓缩,得粗品(I-1),过层析柱(以体积比 30 : 1 的石油醚与乙酸乙酯混合液为洗脱液)纯化,得精品 5-甲氧基-2-苯硒基甲基-2,3-二氢苯并呋喃(I-1)0.606g,产率为 95.0%。

[0033] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 7.17-7.10(m, 5H), 6.95-6.94(d, 1H), 6.07-6.06(d, 1H), 5.93-5.89(m, 1H), 5.03-5.00(m, 2H), 3.65(s, OCH_3), 3.35-3.33(d, 2H); $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 153.1, 148.7, 136.1, 130.8, 129.8, 129.4, 127.3, 126.8, 119.2, 119.0, 116.1, 114.5, 55.8, 35.2.

[0034] 实施例 2 :5-氯-2-苯硒基甲基-2,3-二氢苯并呋喃(I-2)的制备

[0035] 反应式如下:

[0036]



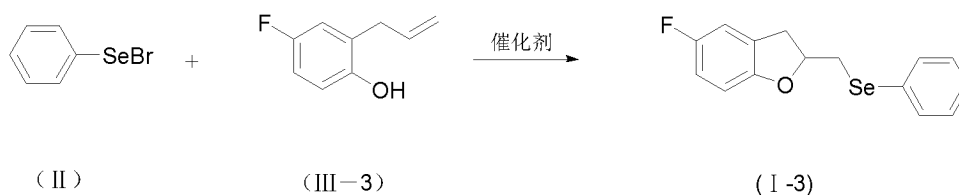
[0037] 在氮气气氛下,将 0.337g(2.0mmol) 2-烯丙基-4-氯苯酚(III-2)溶于 25mL 丙酮中,加入 0.481g(2.04mmol) 苯基硒溴(II),最后加入 0.42mL(3.0mmol) 三乙胺。30℃ 反应 1.0 小时,TLC 跟踪反应,原料点(III-2)消失,反应完全,用 40mL 二氯甲烷萃取,有机相水洗 20mL×3,再用无水硫酸镁干燥,浓缩,过柱(以体积比 30 : 1 的石油醚与乙酸乙酯混合液为洗脱液)纯化,得浅黄色固体 5-氯-2-苯硒基甲基-2,3-二氢苯并呋喃(I-2)0.602g,熔点 47.7 ~ 50.3℃,产率为 93%。

[0038] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 6.66-7.59(m, 8H), 4.92-4.96(m, 1H), 3.31-3.33(m, 2H), 2.98-3.14(m, 2H), 2.29(s, CH_3); $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 157.0, 133.0, 129.9, 129.4, 129.2, 128.4, 127.2, 126.1, 125.6, 109.0, 81.9, 35.5, 32.7, 20.7; $\text{IR}_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$: 2931, 861, 604, 1491, 1475, 1347, 1199, 944, 805, 736, 688.

[0039] 实施例 3 :5-氟-2-苯硒基甲基-2,3-二氢苯并呋喃(I-3)的制备

[0040] 反应式如下:

[0041]



[0042] 在氮气气氛下,将 0.304g(2.0mmol) 2-烯丙基-4-氟苯酚(III-3)溶于 25mL 1,

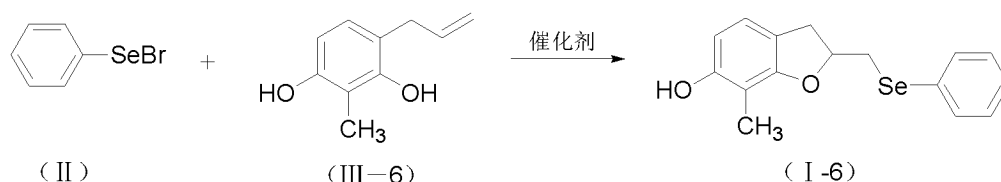
2] 并) 呋喃 (I-5), 产率为 86.5%。

[0053] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ 7.91-7.79 (m, 2H), 7.61-7.59 (m, 2H), 7.44-7.38 (m, 3H), 7.31-7.26 (m, 4H), 5.23-5.16 (m, 1H), 3.586-3.43 (m, 2H), 3.25-3.16 (m, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ 154.5, 133.9, 133.3, 129.4, 129.1, 127.8, 127.3, 125.6, 125.3, 122.8, 121.4, 120.5, 120.3, 119.1, 82.8, 36.3, 32.9.

[0054] 实施例 6 : 2- 苯硒基甲基 -6- 羟基 -7- 甲基 -2,3- 二氢苯并呋喃 (I-6) 的制备

[0055] 反应式如下 :

[0056]



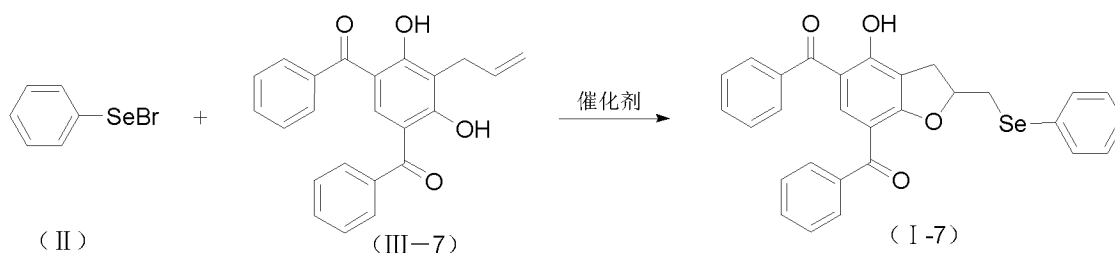
[0057] 在氮气气氛下, 将 0.328g (2.0mmol) 4- 烯丙基 -2- 甲基 -1,3- 苯二酚 (III-6) 溶于 25mL 1,4- 二氧六环中, 加入 0.481g (2.04mmol) 苯基硒溴 (II), 最后加入 0.232g (2.0mmol) 四甲基乙二胺, 25°C 反应 0.5 小时, TLC 检测反应完全, 用二氯甲烷萃取, 有机相用水洗 30mL \times 3, 有机相用无水硫酸镁干燥, 浓缩, 过柱 (洗脱剂 : 石油醚与乙酸乙酯体积比为 1 : 30.) 得 2- 苯硒基甲基 -6- 羟基 -7- 甲基 -2,3- 二氢苯并呋喃 (I-6) 0.563 克产率为 88.2%。

[0058] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ 7.57-7.55 (m, 2H), 7.27-7.26 (m, 3H), 6.81-6.79 (d, 1H), 6.30-6.28 (d, 1H), 5.33 (s, 1H), 4.98-4.95 (m, 1H), 3.36-3.27 (m, 2H), 3.12-3.07 (m, 1H), 2.99-2.94 (m, 1H), 2.05 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ 158.81, 154.14, 133.00, 129.48, 129.11, 127.19, 121.65, 117.34, 106.97, 106.61, 82.62, 35.43, 32.84, 8.33.

[0059] 实施例 7 : 2- 苯硒基甲基 -4- 羟基 -5,7- 二苯甲酰基 -2,3- 二氢苯并呋喃 (I-7) 的制备

[0060] 反应式如下 :

[0061]



[0062] 在氮气气氛下, 将 7.16g (20mmol) 化合物 (III-5) 溶于 100mL 三氯甲烷中, 加入 4.96g (21mmol) 苯基硒溴 (II), 2.80mL (20mmol) 三乙胺回流反应 5 小时, TLC 检测反应完全, 加入 100mL 饱和食盐水分层, 有机相用水洗 80mL \times 3, 加入无水硫酸镁干燥, 浓缩, 用石油醚和二氯甲烷 (100 : 1) 重结晶, 得白色固体 2- 苯硒基甲基 -4- 羟基 -5,7- 二苯甲酰基 -2,3- 二氢苯并呋喃 (I-10) 9.234g, 产率为 90%。

[0063] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ 12.70 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.66-7.64 (m, 2H), 7.54-7.534 (m, 2H), 7.44-7.414 (m, 4H), 7.36-7.30 (m, 4H), 7.15-7.14 (m, 3H), 5.06-5.03 (m, 1H), 3.34-3.33 (m, 1H), 3.21-3.17 (m, 1H), 3.05-2.96 (m, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ 200.3,

192.5, 165.1, 163.0, 139.1, 138.0, 137.7, 133.4, 132.6, 132.0, 129.6, 129.3, 129.0, 128.7, 128.5, 128.1, 127.6, 114.3, 114.1, 114.2, 114.0, 85.4, 32.3, 31.3; IR_{v_{max}} (cm⁻¹): 3062, 2977, 1623, 1446, 1261, 1135, 1035, 778, 743, 700, 618.

[0064] 实施例 8 单胺氧化酶抑制活性测试

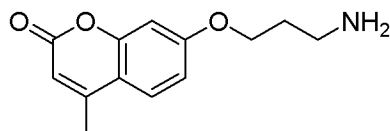
[0065] (1) 样品配制

[0066] 将实施例 1 ~ 7 制备的化合物 (I-1) ~ (I-7) 溶于二甲基亚砜 (DMSO) 中, 分别配成 5、15、25、35、45、60、75、90、105、120mmol/L 浓度梯度的样品液, 记为样品 1 ~ 样品 7。

[0067] (2) 2-苯硒基甲基 2,3-二氢苯并咪唑类化合物对单胺氧化酶 -A 抑制活性测试检测方法

[0068] 分别向装有 386 μL 硼酸缓冲液 (pH = 8.4) 的 7 支 EP 管 (微量离心管) 中加入 4 μL 单胺氧化酶 -A (MAO-A) 和 4 μL 步骤 (1) 配制的样品 1 ~ 样品 7, 混合, 再将混合物在 38°C 水浴中反应 2h. 然后分别再次加入 2 μL 式 (IV) 所示的探针 7-(3-氨基丙氧基)-4-甲基香豆素 (10mmol/ml) 和 4 μL 的牛血清蛋白 (BSA) 于上述 7 支 EP 管中, 并将其放在 38°C 水浴中继续反应 2h. 以未加抑制剂的酶的酶活为对照, 即向装有 390 μL 硼酸缓冲液 (pH = 8.4) 的 EP 管中加入 4 μL 单胺氧化酶 -A (MAO-A), 38°C 水浴中反应 2h, 再加入 2 μL 探针 (10mmol/ml) 和 4 μL 的 BSA 同样也在 38°C 水浴中反应 2h。

[0069]



[0070] (IV)

[0071] 最后在上述每个 EP 管 (微量离心管) 中取出 100 μL 加入 96 孔板中并用全功能荧光分光光度计 ($\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 365/460\text{nm}$) (spectraMax M, 美国分子仪器公司) 检测样品 1 ~ 样品 7 和对照样品。根据所测的荧光值计算样品 1 ~ 7 的 IC₅₀, 化合物 (I-1) ~ (I-7) 对单胺氧化酶 -A 活性抑制测试结果见表 1。

[0072] 化合物的抑制效果用半数抑制浓度 (IC₅₀) 来表示。IC₅₀ 是指“反应”被抑制一半时抑制剂的浓度, 化合物抑制能力越强, 该数值越低。

[0073] IC₅₀ 可以用以下方法计算:

[0074] 1) 检测并计算只加酶与探针缓冲液的平均荧光强度 (F_M);

[0075] 2) 计算含有不同浓度梯度抑制剂的各组酶的平均荧光强度 (要扣除背景值);

[0076] 3) 根据不同浓度梯度抑制剂的各组酶的平均荧光强度做抑制剂的浓度 (C) 与荧光强度 (F) 之间关系的直线回归, 建立得到方程: $F = aC + b$ (通过回归直线确定方程系数 a 和截距 b);

[0077] 4) 根据方程, 求 $F = 1/2F_M$ 下的对应的抑制剂浓度, 即可求出抑制率为 50% 时的抑制剂浓度, 即为 IC₅₀

[0078] (3) 2-苯硒基甲基 2,3-二氢苯并咪唑类化合物对单胺氧化酶 -B 抑制活性测试

[0079] 将 MAO-A 换成 MAO-B, 其他操作同步骤 (2), 结果见表 1。

[0080] 表 1 2-苯硒基甲基-2,3-二氢苯并咪唑类化合物的对单胺氧化酶抑制活性

[0081]

| Compound | MAO-A IC ₅₀ (μ M) | MAO-B IC ₅₀ (μ M) |
|----------|------------------------------|------------------------------|
| I-1 | 683.80 | 83.56 |
| I-2 | 262.46 | 492.53 |
| I-3 | 241.02 | 567.07 |
| I-4 | 438.45 | * |
| I-5 | 485.34 | 906.75 |
| I-6 | 68.50 | 476.35 |
| I-7 | * | 200.10 |

[0082]

[0083] * 表示没有抑制活性或者抑制活性远远大于 1500 μ M。

[0084] 从表 1 可以看出,化合物 (I-1)、(I-2)、(I-3)、(I-4)、(I-5)、(I-6) 对单胺氧化酶 A 有抑制活性,其中化合物 (I-2)、(I-3)、(I-6) 有较强的抑制活性;化合物 (I-1)、(I-2)、(I-3)、(I-5)、(I-6)、(I-7)、对单胺氧化酶 B 有抑制活性,其中化合物 (I-1)、(I-7) 有较强的抑制活性。