

3',4'-亚乙二氧基查尔酮类 MAO-B 抑制剂的设计、合成及活性评价

孔卓, 孙德萌, 江艳梅, 胡云* (遵义医科大学生物工程学院, 广东 珠海 519041)

摘要:目的 设计合成一类 3',4'-亚乙二氧基查尔酮类衍生物作为单胺氧化酶 B (MAO-B) 抑制剂。方法 通过 Claisen-Schmidt 缩合反应, 合成目标化合物, 测定其对人的单胺氧化酶 (*h*MAO-B) 的抑制作用。分析活性化合物抑制 *h*MAO-B 的选择性、作用类型和可逆性。探讨活性化合物与 *h*MAO-B 的结合模式。评价活性化合物对小鼠 BV2 细胞的增殖抑制作用。结果 成功合成 16 个化合物。多数化合物对 *h*MAO-B 具有良好的抑制活性和选择性, 代表性化合物 **9** 和 **13** 的 IC_{50} 值分别为 0.021 和 0.042 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。二者均为 MAO-B 的竞争型可逆性抑制剂, 与 *h*MAO-B 的结合作用力主要为疏水作用力和氢键。活性最好的化合物 **9** 对小鼠 BV2 小胶质细胞株表现出较低水平的细胞毒性。结论 3',4'-亚乙二氧基查尔酮类化合物是一类高效的 *h*MAO-B 抑制剂, 具有进一步研究价值。

关键词:神经退行性疾病; 单胺氧化酶 B 抑制剂; 查尔酮; 构效关系

doi:10.11669/cpj.2024.22.003 中图分类号:R914 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)22-2116-10

Design, Synthesis and Evaluation of 3', 4'-Ethylendioxy Chalcone Derivatives as Potent Monoamine Oxidase B Inhibitors

KONG Zhuo, SUN Demeng, JIANG Yanmei, HU Yun* (School of Bioengineering, Zunyi Medical University, Zhuhai 519041, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To design, synthesize and evaluate a series of 3', 4'-ethylendioxy chalcone derivatives as monoamine oxidase B (MAO-B) inhibitors, and summarize the structure-activity relationship (SAR). **METHODS** The targeted compounds were synthesized via Claisen-Schmidt condensation reaction starting from 6-acetyl-1, 4-benzodioxan and corresponding benzaldehydes. The inhibition of these compounds on human MAO-B (*h*MAO-B) was determined, and the inhibiting selectivity, dynamics and reversibility were investigated as well. The binding mode between active compounds and *h*MAO-B was revealed by molecular docking study. Additionally, the inhibitory effect of active compounds on the proliferation of BV2 cell line was determined by MTT assay. **RESULTS** Sixteen targeted compounds were successfully prepared. Most compounds showed good inhibitory effects on *h*MAO-B. Representative compounds **9** and **13** exhibited IC_{50} values of 0.021 and 0.042 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively, which showed high inhibiting selectivity towards *h*MAO-B. Both compounds acted as competitive and reversible *h*MAO-B inhibitors. The main interactions between active compounds and *h*MAO-B were hydrophobic interaction and hydrogen bond. The most active compound **9** exhibited low cytotoxicity in BV2 cells. **CONCLUSION** This class of 3', 4'-ethylendioxy chalcone derivatives represent potential novel inhibitors of *h*MAO-B, and compound **9** could be further investigated as a potent lead for future studies.

KEY WORDS: neurodegenerative disease; monoamine oxidase B inhibitor; chalcone; structure-activity relationship

单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)是一种存在于细胞线粒体膜上的黄素蛋白酶,以二聚体的形式存在。在中枢和周围神经系统中,MAO 介导内源性和异源性单胺物质的催化氧化,在维持神经递质的代谢平衡中发挥重要的调节作用^[1]。Edmondson 等^[2]通过研究 MAO 晶体结构发现,MAO 分为 MAO-A 和 MAO-B 两种亚型。二者对底物识别的差异性主要取决于 MAO-A 中的 Phe208

和 MAO-B 中的 Ile199^[3]。与 MAO-A 底物空腔相比,MAO-B 底物空腔更大,能容纳体积更大的分子^[4]。尽管 MAO 两种亚型都有共同的底物,但相比较而言,MAO-A 优先催化 5-羟色胺的氧化脱氨反应,而 MAO-B 则更多催化苯胺和多巴胺的氧化^[5]。多巴胺是由多巴胺能神经元合成的重要神经递质,而各种病理变化引起脑部 MAO-B 的过量表达或活性的异常升高,将会加速多巴胺的氧化

基金项目:国家自然科学基金项目资助(81560562,21762055)

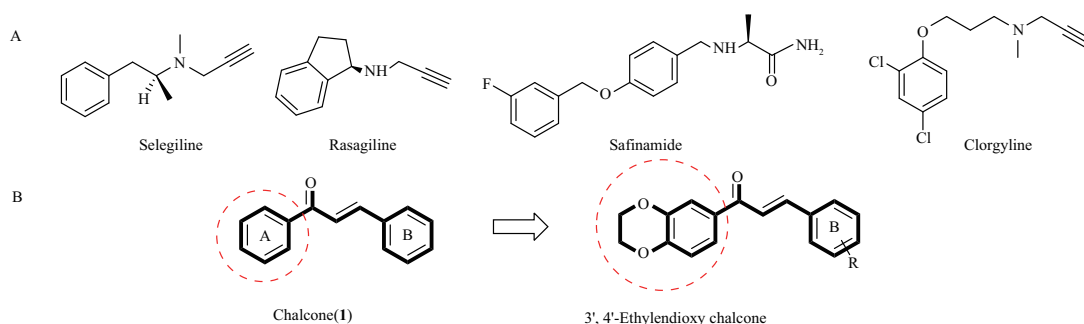
作者简介:孔卓,女,硕士研究生 研究方向:药物化学 * 通讯作者:胡云,男,博士,副教授 研究方向:药物化学 Tel: (0756)7623365

代谢,降低其在脑部的正常水平。同时在此过程中,还会伴随着过量 H_2O_2 的产生,导致氧化应激,引起神经元细胞的死亡等,这与多种神经退行性疾病如帕金森病(Parkinson's disease, PD)和阿尔茨海默病(Alzheimers' disease, AD)密切相关^[6]。因此,抑制 MAO-B 的活性,被认为是治疗 PD 及 AD 的有效策略^[7-8]。

目前,MAO-B 抑制剂在临床上主要用于 PD 的治疗,常见的药物包括司来吉兰(selegiline)、雷沙吉兰(rasagiline)和沙芬酰胺(safinamide)等(图 1A)。司来吉兰和雷沙吉兰属于不可逆抑制剂,而沙芬酰胺属于近期研发的可逆性抑制剂^[9]。由于 PD 患者多以耐受能力差的老年人为主,MAO-B 不可逆抑制剂生物利用度不高,长期疗效较差,且存在一定的不良反应如失眠、眩晕、头痛等^[10-11],而沙芬酰胺抑制活性较高,选择性好,毒性较小,但是依然表现出运动障碍等不良反应^[12]。因此研发新一代高活性、高选择性和安全性好的 MAO-B 可逆性抑制剂具有重

要研究价值和现实意义。

研究发现,天然查尔酮类化合物如异甘草素是一类良好的 MAO-B 抑制剂,其分子骨架查尔酮(1,3-二苯基-2-丙烯-1-酮,1,图 1B)可作为活性骨架进一步展开结构优化修饰,以期发现新的 MAO-B 抑制剂^[13]。本课题组前期的研究发现,用 3,4-亚乙二氧基取代异甘草素分子骨架的 B 环得到的衍生物对人的 MAO-B (*h*MAO-B) 具有高效的抑制活性^[14-15]。而对查尔酮的 A 环能否同样用 3,4-亚乙二氧基进行取代则有待阐明。有研究显示,用 3,4-亚乙二氧基取代查尔酮母核 A 环产生的 3',4'-亚乙二氧基查尔酮类衍生物具有抗炎及抗肿瘤等方面的活性^[16-17],但其对 *h*MAO-B 的抑制作用则罕有研究。因此,本研究设计、合成一系列 3',4'-亚乙二氧基查尔酮类衍生物,评价其对 *h*MAO-B 的抑制活性,并对构效关系进行总结。同时,对活性化合物抑制 *h*MAO-B 的选择性、作用类型和可逆性也作了探讨和验证。



A - MAO 抑制剂; B - 查尔酮及 3',4'-亚乙二氧基查尔酮类衍生物的设计。

A - MAO inhibitors; B - chalcone and the design of 3',4'-ethyldioxy chalcone derivatives.

图 1 常见的单胺氧化酶(MAO)抑制药物,查尔酮及其衍生物 3',4'-亚乙二氧基查尔酮的设计

Fig. 1 Common MAO inhibitors, chalcone and the design of 3',4'-ethyldioxy chalcone derivatives

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

精密密度分析天平(METTLER TOLEDO 仪器有限公司);ZF 暗箱式紫外分析仪(巩义市予华仪器有限责任公司);旋转蒸发器(德国 IKA 公司);DLSB-10L/20 低温冷却液循环泵(巩义市予华仪器有限责任公司);DF 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司);79-2 型双向磁力搅拌器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司);Spectra Max M5 多功能酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司];Agilent 1290 型高分辨串联飞行时间液质联用仪(美国安捷伦科技公司)。

实验所用主要药品:2-氯苯甲醛、3-氯苯甲醛、

3,4-二氯苯甲醛、2-溴苯甲醛、苯甲醛、4-溴苯甲醛、2-氟苯甲醛、3-氟苯甲醛、3-溴-4-氟苯甲醛、3,4-二氟苯甲醛、3-甲氧基苯甲醛、3-羟基-4-甲氧基苯甲醛、水杨醛、3-羟基苯甲醛、6-乙酰基-1,4-苯并二噁烷、氢氧化钠、硫酸氢钠、苄胺、噻唑蓝(MTT),以上试剂均为分析纯;人的 MAO-A (*h*MAO-A) 和 MAO-B (*h*MAO-B)、辣根过氧化物酶(SIGMA-ALDRICH 公司);DMEM basic(1X)[赛默飞世尔(苏州)仪器有限公司];其他化学试剂均为分析纯。

1.2 合成方法

称取 1 mmol 的 6-乙酰基-1,4-苯并二噁烷与 1 mmol 不同取代的苯甲醛放入圆底烧瓶中,滴入适量乙醇溶解后,室温下加入质量分数 60% NaOH 溶

液,搅拌,用薄层层析色谱法检测反应进程。待反应结束后取出反应液,缓慢加入冰水中,冷却后过滤,将滤渣放入水中调节 pH 值至 2~3,静置。析出沉淀后,过滤,收集滤渣,使用柱层析分离纯化,得到目标化合物。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-苯基丙-2-烯-1-酮(**2**):收率 38.97%;UPLC 纯度 95.32%, $t_R = 1.763$ min。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.95~7.89(m,3H),7.76~7.70(m,3H),7.46(dd, $J = 5.1, 2.0$ Hz,3H),7.03(d, $J = 8.4$ Hz,1H),4.34(dd, $J = 13.6, 4.9$ Hz,4H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.7, 148.5, 143.8, 143.8, 135.2, 131.6, 130.9, 129.3, 123.1, 122.3, 118.0, 117.7, 65.0, 64.4。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(2-羟基苯基)丙-2-烯-1-酮(**3**):收率 53.47%;UPLC 纯度 97.74%, $t_R = 6.472$ min。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.25(s,1H),8.03(d, $J = 15.7$ Hz,1H),7.89(d, $J = 7.8$ Hz,1H),7.83(d, $J = 15.8$ Hz,1H),7.68(dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz,1H),7.64(d, $J = 2.1$ Hz,1H),7.27(t, $J = 7.7$ Hz,1H),7.02(d, $J = 8.4$ Hz,1H),6.94(d, $J = 8.2$ Hz,1H),6.87(t, $J = 7.5$ Hz,1H),4.36~4.31(m,4H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.9, 157.6, 148.2, 143.8, 139.2, 132.3, 131.9, 129.1, 122.9, 122.0, 121.1, 119.83, 117.8, 117.6, 116.6, 65.0, 64.4。HRMS: m/z [M-H]⁺ 计算得出 C₁₇H₁₄O₄: 281.0819,理论值: 281.0786。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(3-羟基苯基)丙-2-烯-1-酮(**4**):收率 22.74%;UPLC 纯度 97.69%, $t_R = 5.965$ min。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.62(s,1H),7.82(d, $J = 15.6$ Hz,1H),7.75~7.66(m,2H),7.61(d, $J = 15.5$ Hz,1H),7.32(d, $J = 7.7$ Hz,1H),7.29~7.19(m,2H),7.02(d, $J = 8.4$ Hz,1H),6.88(d, $J = 7.9$ Hz,1H),4.39~4.29(m,4H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.7, 158.2, 148.4, 144.0, 143.8, 136.5, 131.6, 130.3, 123.1, 122.2, 120.3, 118.1, 118.0, 117.6, 115.8, 65.0, 64.4。HRMS: m/z [M+H]⁺ 计算得出 C₁₇H₁₄O₄: 283.0965,理论值: 283.0987。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(3-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**5**):收率 21.11%;UPLC 纯度 97.35%, $t_R = 7.637$ min。

¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.94(d, $J = 15.6$ Hz,1H),7.77~7.73(m,2H),7.68(d, $J = 15.5$ Hz,1H),7.50(s,1H),7.44(d, $J = 7.6$ Hz,1H),7.37(t, $J = 7.8$ Hz,1H),7.03(d, $J = 8.3$ Hz,2H),4.34(dd, $J = 13.8, 4.6$ Hz,4H),3.84(s,3H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.6, 160.1, 148.5, 143.8, 136.6, 131.6, 130.3, 123.2, 122.5, 122.2, 118.1, 117.6, 117.0, 113.7, 65.0, 64.4, 55.7。HRMS: m/z [M+H]⁺ 计算得出 C₁₈H₁₆O₄: 297.1121,理论值: 297.1148。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**6**):收率 45.31%;UPLC 纯度 99.19%, $t_R = 6.217$ min。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.17(s,1H),7.72~7.67(m,3H),7.59(d, $J = 15.4$ Hz,1H),7.34(s,1H),7.30(d, $J = 8.2$ Hz,1H),7.02~6.98(m,2H),4.36~4.31(m,4H),3.85(s,3H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.5, 150.6, 148.2, 147.1, 144.3, 143.8, 131.9, 128.20, 122.9, 122.4, 119.7, 117.9, 117.6, 115.4, 112.3, 65.0, 64.4, 56.1。HRMS: m/z [M+H]⁺ 计算得出 C₁₈H₁₆O₅: 313.1071,理论值: 313.1092。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(2-氟苯基)丙-2-烯-1-酮(**7**):收率 73.87%;UPLC 纯度 95.98%, $t_R = 8.351$ min。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.11(s,1H),8.03(d, $J = 15.6$ Hz,1H),7.83(d, $J = 6.4$ Hz,1H),7.77(d, $J = 7.7$ Hz,2H),7.68(d, $J = 15.6$ Hz,1H),7.51~7.45(m,2H),7.03(d, $J = 8.3$ Hz,1H),4.35(dd, $J = 13.9, 4.3$ Hz,4H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.5, 148.6, 143.8, 142.1, 137.5, 134.2, 131.4, 131.1, 130.4, 128.4, 128.4, 123.8, 123.3, 118.2, 117.7, 65.1, 64.4。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(2-氯苯基)丙-2-烯-1-酮(**8**):收率 30.14%;UPLC 纯度 97.07%, $t_R = 9.649$ min。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.01(d, $J = 15.6$ Hz,1H),7.88(d, $J = 10.0$ Hz,1H),7.81~7.64(m,4H),7.50(q, $J = 7.2, 6.6$ Hz,1H),7.28(t, $J = 8.1$ Hz,1H),7.03(d, $J = 8.3$ Hz,1H),4.35(d, $J = 10.5$ Hz,4H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.5, 164.2, 161.8, 148.6, 143.8, 142.3, 142.3, 137.9, 137.8, 131.4, 131.3, 131.2, 126.1, 123.8, 123.2, 118.2, 117.7, 117.4, 115.2, 114.9, 65.1, 64.4。

HRMS: m/z $[M + H]^+$ 计算得出 $C_{17}H_{13}ClO_3$: 301.063 1,理论值: 301.064 5。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(2-溴苯基)丙-2-烯-1-酮(**9**):收率 38.42%; UPLC 纯度 97.20%, $t_R = 8.281$ min。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.27 ~ 8.22 (m, 1H), 8.01 ~ 7.96 (m, 2H), 7.78 ~ 7.73 (m, 3H), 7.53 ~ 7.47 (m, 1H), 7.44 ~ 7.37 (m, 1H), 7.11 ~ 7.03 (m, 1H), 4.40 ~ 4.34 (m, 4H)。¹³C-NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.4, 148.7, 143.9, 141.1, 134.5, 133.7, 132.5, 131.3, 129.3, 128.6, 125.8, 125.2, 123.3, 118.2, 117.7, 65.1, 64.4。HRMS: m/z $[M + H]^+$ 计算得出 $C_{17}H_{13}BrO_3$: 345.012 6,理论值: 345.011 8。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(3-氟苯基)丙-2-烯-1-酮(**10**):收率 67.57%; UPLC 纯度 95.98%, $t_R = 7.531$ min。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.01 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 7.81 ~ 7.64 (m, 4H), 7.50 (q, $J = 7.2, 6.6$ Hz, 1H), 7.28 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.35 (d, $J = 10.5$ Hz, 4H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.5, 164.2, 161.8, 148.6, 143.8, 142.3, 142.3, 137.9, 137.8, 131.4, 131.3, 131.2, 126.1, 123.8, 123.2, 118.2, 117.7, 117.4, 115.2, 114.9, 65.1, 64.4。HRMS: m/z $[M + Na]^+$ 计算得出 $C_{17}H_{13}FO_3$: 307.074 1,理论值: 307.099 4。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(3-氯苯基)丙-2-烯-1-酮(**11**):收率 49.25%; UPLC 纯度 96.18%, $t_R = 8.808$ min。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.10 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.85 ~ 7.72 (m, 3H), 7.67 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.48 ~ 7.44 (m, 2H), 7.02 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.33 (d, $J = 10.1$ Hz, 4H)。¹³C-NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.5, 148.6, 143.8, 142.1, 137.5, 134.2, 131.4, 131.1, 130.4, 128.4, 128.4, 123.7, 123.3, 118.2, 117.7, 65.0, 64.4。HRMS: m/z $[M + H]^+$ 计算得出 $C_{17}H_{13}ClO_3$: 301.062 6,理论值: 301.062 7。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(4-溴苯基)丙-2-烯-1-酮(**12**):收率 53.03%; UPLC 纯度 96.59%, $t_R = 8.561$ min。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (dd, $J = 15.6, 2.4$ Hz, 1H), 7.88 (dd, $J = 8.5, 2.4$ Hz, 2H), 7.76 ~ 7.66 (m, 5H), 7.03 (dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, 1H), 4.35 (d,

$J = 11.1$ Hz, 4H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.5, 148.5, 143.8, 142.4, 134.5, 132.3, 131.5, 131.2, 124.3, 123.2, 123.0, 118.1, 117.7, 65.0, 64.4。HRMS: m/z $[M + H]^+$ 计算得出 $C_{17}H_{13}BrO_3$: 345.012 1,理论值: 345.012 9。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(3-溴-4-氟苯基)丙-2-烯-1-酮(**13**):收率 62.15%; UPLC 纯度 96.24%, $t_R = 8.488$ min。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.41 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 8.01 ~ 7.93 (m, 2H), 7.76 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.67 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.47 (t, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.35 (dd, $J = 14.0, 4.6$ Hz, 4H)。¹³C-NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.4, 160.8, 158.4, 148.6, 143.8, 141.2, 133.8, 133.7, 131.4, 131.3, 131.3, 123.4, 123.2, 118.2, 117.7, 117.4, 109.4, 109.2, 65.1, 64.4。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(3,4-二氟苯基)丙-2-烯-1-酮(**14**):收率 39.67%; UPLC 纯度 98.42%, $t_R = 7.908$ min。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.16 (t, $J = 10.1$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.75-7.65 (m, 4H), 7.52 (q, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.35 (dd, $J = 14.2, 4.7$ Hz, 4H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.4, 152.2 (d, $J = 11.1$ Hz), 151.4 (d, $J = 12.6$ Hz), 149.8 (d, $J = 12.7$ Hz), 149.0 (d, $J = 12.9$ Hz), 148.6, 143.8, 141.5, 133.2 (dd, $J = 6.6, 3.9$ Hz), 131.4, 127.3 (d, $J = 3.5$ Hz), 123.5, 123.2, 118.4, 118.2, 118.2, 117.7, 117.4, 117.3, 65.0, 64.4。HRMS: m/z $[M + H]^+$ 计算得出 $C_{17}H_{12}F_2O_3$: 303.082 7,理论值: 303.083 6。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(3,4-二氯苯基)丙-2-烯-1-酮(**15**):收率 54.45%; UPLC 纯度 95.44%, $t_R = 9.106$ min。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.28 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.73 ~ 7.62 (m, 4H), 7.00 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.32 (d, $J = 11.2$ Hz, 4H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.4, 148.6, 143.8, 141.0, 136.1, 133.0, 132.2, 131.4, 130.5, 129.6, 124.3, 123.3, 118.2, 117.7, 65.1, 64.4。HRMS: m/z $[M + H]^+$ 计算得出 $C_{17}H_{12}Cl_2O_3$: 335.023 6,理论值: 335.024 2。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)丙-2-烯-1-酮(**16**):收率 46.46%; UPLC 纯度

96.15%, $t_R = 6.732$ min。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.78 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.80 ~ 7.70 (m, 2H), 7.60 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.36 (dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.36 ~ 4.29 (m, 8H)。¹³C-NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.5, 148.3, 146.2, 144.0, 143.8, 143.7, 131.8, 128.8, 123.5, 123.0, 120.4, 118.0, 117.8, 117.6, 117.6, 65.0, 64.9, 64.4。HRMS: m/z [M + H]⁺ 计算得出 C₁₉H₁₆O₅: 325.1071, 理论值: 325.1154。

(*E*)-1-(2,3-二氢-苯并[1,4]二氧杂环己烯-6-基)-3-(6-甲氧基萘-2-基)丙-2-烯-1-酮 (**17**): 收率 61.47%; UPLC 纯度 95.64%, $t_R = 8.484$ min。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.26 (s, 1H), 8.09 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.90 ~ 7.74 (m, 5H), 7.38 (s, 1H), 7.23 (dd, $J = 9.0, 2.6$ Hz, 1H), 7.04 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.47 ~ 4.33 (m, 4H), 3.91 (s, 3H)。¹³C-NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.5, 158.9, 148.4, 144.1, 143.8, 136.0, 131.8, 130.9, 130.7, 130.6, 128.8, 127.8, 125.6, 123.1, 121.4, 119.6, 118.0, 117.6, 106.7, 65.0, 64.4, 55.8。HRMS: m/z [M + Na]⁺ 计算得出 C₂₂H₁₈O₄: 369.1097, 理论值: 369.1156。

1.3 hMAO 抑制活性测试

1.3.1 化合物抑制 hMAO 活性筛选实验 待测化合物对 MAO-A/B 的抑制活性筛选根据 Lu 等^[18] 报道的测试方法进行。实验分为空白组、阴性对照组、阳性对照组、待测化合物组。其中空白组和阴性对照组中,用 20 μ L 缓冲液和体积分数 0.1% 二甲基亚砜(DMSO)溶液代替待测化合物。将 hMAO-A/B 用缓冲溶液稀释至 12.5, 75 μ g \cdot mL⁻¹ 备用。将 1 μ mol \cdot L⁻¹ 的待测化合物(每孔 20 μ L)和 hMAO-A/B(每孔 80 μ L)先后加入 96 孔黑板中,在 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min 后,立即加入总体积为 100 μ L 底物工作液(工作浓度为 200 μ mol \cdot L⁻¹ 的 Ampliflu Red, 2 mmol \cdot L⁻¹ 的酪胺和苄胺, 2 U \cdot mL⁻¹ 的 HRP),再次放置于 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min 后,立即多功能酶标仪上($E_x = 545$ nm, $E_m = 590$ nm)检测,并记录荧光值。在该浓度下对 hMAO-B 的抑制率大于 70% 的化合物进一步测定其 IC₅₀ 值。

1.3.2 酶抑制动力学实验 在抑制动力学实验中,选择抑制活性较好的化合物作为代表,在 0、IC₅₀、3/2 IC₅₀、2 IC₅₀、5/2 IC₅₀ 5 个作用浓度下,加

入 4 个不同浓度的底物,测试化合物对 hMAO-B 的抑制活性随时间的变化,整理作 Lineweaver-Burk 图,即分别作出酶的反应速率倒数对底物浓度倒数的双倒数直线,测定活性化合物的对 hMAO-B 的抑制类型^[19]。

1.3.3 hMAO-B 可逆性实验 依据 Reis 等^[20] 报道的测试方法,将实验组设置阴性对照组(体积分数 0.1% DMSO)、阳性对照组(沙芬酰胺、雷沙吉兰、司来吉兰)及待测药物组(终浓度 IC₈₀ 值的药物)。用 50 mmol \cdot L⁻¹, pH = 7.4 磷酸二氢钾缓冲溶液将 hMAO-B, 稀释至 8 μ g \cdot mL⁻¹ 的工作浓度,备用;将 Ampliflu Red、苄胺、HRP、待测活性化合物分别稀释至终浓度为 200、1 mmol \cdot L⁻¹、1 U \cdot mL⁻¹、IC₈₀ 值的溶液,备用。测试方法与“1.3.1”项下方法相同,在 $E_x = 545$ nm, $E_m = 590$ nm 的波长下,持续检测 120 min,每 4 min 记录一次荧光值。

1.4 分子对接研究

选用抑制活性较好的化合物为代表作为对接底物,用 hMAO-B 晶体(PDB code: 2V61)和 hMAO-A (PDB code: 2Z5X)晶体作为对接受体,对接过程按照 Molecular Operating Environment 2022 的分子对接模块标准操作进行。除特别介绍外,所有参数均采用默认值。

1.5 MTT 实验

将体积分数 0.1% DMSO 作为对照,利用 MTT 法测出目标化合物的体外抑制活性。取用对数生长期的小胶质细胞 BV2,以每孔 5×10^3 个细胞接种于 96 孔板,培养过夜后,设置 1, 5, 25, 50 μ mol \cdot L⁻¹ 4 个不同浓度梯度,每个浓度设 3 个复孔。作用 24 h 后,每孔加 20 μ L 5.0 g \cdot L⁻¹ 的 MTT 后,再孵育 4 h,吸去细胞培养液,每孔加入 150 μ L DMSO。用多功能酶标仪在 570 nm 下测定吸光度,计算细胞存活率。

2 结果与讨论

2.1 化合物合成

本系列化合物通过无机碱催化 Claisen-Schmidt 缩合反应进行制备,其合成路线见图 2。所合成化合物的纯度和结构,均已通过超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC),核磁共振氢谱(¹H nuclear magnetic resonance, ¹H-NMR),核磁共振碳谱(¹³C nuclear magnetic resonance, ¹³C-NMR)及高分辨质谱(high resolution mass spectrum, HR-MS)等方法得到确证。

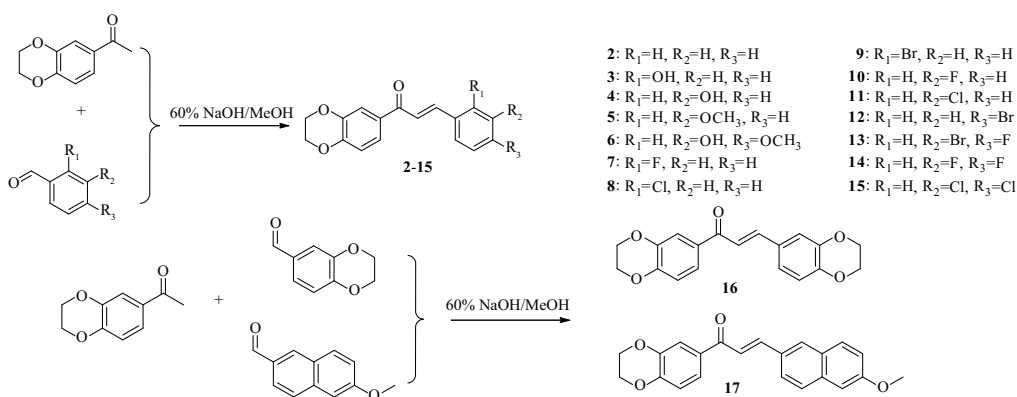


图2 3',4'-亚乙二氧基查尔酮类衍生物的合成路线

Fig. 2 The synthetic routes of 3', 4'-ethylenedioxy chalcone derivatives

2.2 化合物对 *h*MAO-A/B 的抑制活性及构效关系讨论

对于所合成的目标化合物,大部分都对 *h*MAO-B 表现出了较强的抑制活性,其中有 13 个化合物在 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作用浓度下对 *h*MAO-B 的抑制率超过 50% (以下所讨论化合物对 *h*MAO-B 的抑制率,无特殊说明,均为在 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作用浓度下测得)。

由表 1 可知,阳性对照药物司来吉兰、雷沙吉兰和沙芬酰胺在测试浓度下能明显抑制 *h*MAO-B 的活性,对 *h*MAO-B 的抑制率分别为 92%、90.1% 和 84%。雷沙吉兰和沙芬酰胺对 *h*MAO-B 的抑制 IC_{50} 值分别为 0.096 和 $0.06 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。查尔酮 (化合物 1) 对 *h*MAO-B 表现出一定的抑制活性,在 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下对 *h*MAO-B 的抑制率为 41%,其 IC_{50} 为 $13.04 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用 3,4-亚乙二氧基对查尔酮 A 环的间位和对位进行取代得到 3',4'-亚乙二氧基查尔酮 (化合物 2),其对 *h*MAO-B 的抑制率达到 86.2%, IC_{50} 值为 $0.13 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,只有化合物 1 IC_{50} 值的百分之一。这表明了,用 3,4-亚乙二氧基对查尔酮骨架 A 环的间位和对位进行取代能显著提高其对 *h*MAO-B 的抑制活性。化合物 2 可作为新的活性分子骨架进行更进一步的构效关系探究。

在化合物 2 的 B 环引入给电子基 -OH 或 -OCH₃ 后,无论是 2-OH (化合物 3)、3-OH (化合物 4)、3-OCH₃ (化合物 5) 或同时引入 3-OH,4-OCH₃ (化合物 6),所得化合物的活性均比化合物 2 有明显下降,只有化合物 4 表现出相对较好的抑制活性, IC_{50} 值为 $0.25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这表明在 3',4'-亚乙二氧基查尔酮活性骨架的 B 环苯环上引入给电子取

代基将使化合物的抑制活性下降。

在其 B 环苯环上的不同位置引入 2-F (化合物 7)、2-Cl (化合物 8)、2-Br (化合物 9)、3-F (化合物 10)、3-Cl (化合物 11) 或 4-Br (化合物 12) 等吸电子取代基,所得的化合物 7~8,10~11 表现出与化合物 2 相当或相对较弱的抑制活性, IC_{50} 值分别为 0.13 , 0.16 和 $0.15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。而化合物 9 则表现出了在该系列化合物中最高的抑制活性, IC_{50} 值为 $0.021 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,比化合物 2 的活性高出约 6 倍,明显优于阳性对照药物雷沙吉兰和沙芬酰胺。故此,在 B 环邻位引入 Br 原子可显著提高化合物对 *h*MAO-B 的抑制活性。另外,在化合物 2 的 B 环同时引入了 3-Br,4-F (化合物 13) 或 3,4-二氟 (化合物 14) 同样有利于提高化合物的抑制活性,所得化合物 12 和 13 的 IC_{50} 值为 0.042 和 $0.062 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。然而,同时引入 3,4-二氯后所得的化合物 15 的活性却出现明显下降,其抑制率只有 58.4%。

此外,用 1,4-苯并二氧六环基或萘环基替换 B 环后得到的化合物 16 和 17,其抑制率均比化合物 2 显著降低,分别为 48% 和 16.8%,这说明了对于该系列化合物,增大 B 端芳环的体积和疏水性将导致化合物的抑制活性下降。

由表 1 还可得知,该系列化合物对 *h*MAO-B 具有较好的抑制专一性。所合成的目标化合物除化合物 7 和 11 对 *h*MAO-A 的抑制 IC_{50} 值大于 $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 外,其余化合物均大于 $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。活性化合物 9 对 *h*MAO-B 的选择性指数 SI (selective index, 等于化合物对 *h*MAO-A 的 IC_{50} 与对 *h*MAO-B 的 IC_{50} 的比值) 大于 1904,优于阳性对照药物雷沙吉兰^[20]。这些结果表明了本研究所合成的化合物,尤其是活性化合物,对 *h*MAO-B 的抑制作用具有高度的选择专一性。

表 1 3',4'-亚乙二氧基查尔酮化合物对人的单胺氧化酶 A(hMAO-A)和人的单胺氧化酶 B(hMAO-B)的抑制活性。n=3, $\bar{x} \pm s$

Tab. 1 The inhibitory activities on hMAO-A and hMAO-B of 3',4'-ethylendioxy chalcone derivatives. n=3, $\bar{x} \pm s$

Compound	IC ₅₀ hMAO-A/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Inhibition/% (IC ₅₀ hMAO-B/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Selectivity Index(SI) ²⁾
1	>40	41.6 ± 0.003 ¹⁾ (13.04 ± 0.06)	>3.07
2	>40	86.2 ± 2.83 (0.13 ± 0.02)	>307.7
3	>40	37.9 ± 0.07 (-)	-
4	>40	79.2 ± 0.01 (0.25 ± 0.02)	>160
5	>40	63.5 ± 0.017 (-)	-
6	>40	2.6 ± 0.02 (-)	-
7	>30	85.4 ± 0.02 (0.13 ± 0.008)	>230
8	>40	84.3 ± 0.02 (0.16 ± 0.04)	>250
9	>40	91.8 ± 0.001 (0.021 ± 0.005)	>1904
10	>40	84.3 ± 1.3 (0.15 ± 0.003)	>266
11	>30	83.7 ± 0.02 (0.15 ± 0.009)	>20
12	>40	51.6 ± 0.04 (-)	-
13	>40	88.5 ± 0.02 (0.042 ± 0.001)	>952
14	>40	86 ± 0.02 (0.062 ± 0.007)	>645
15	>40	58.4 ± 0.03 (-)	-
16	>40	48 ± 0.01 (-)	-
17	>40	16.8 ± 0.02 (-)	-
Selegiline ³⁾	-	92 ± 0.7 (-) ³⁾	-
Rasagiline	-	90.1 ± 0.9 (0.096 ± 0.01)	-
Safinamide	-	84 ± 3.8 (0.060 ± 0.001)	-
Clorgyline	79.9 ± 0.5	-	-

注: ¹⁾化合物 1 抑制率测试浓度为 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; ²⁾SI = IC₅₀(hMAO-A)/IC₅₀(hMAO-B); ³⁾Selegiline 抑制率的测试浓度为 0.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; - - 未测试。

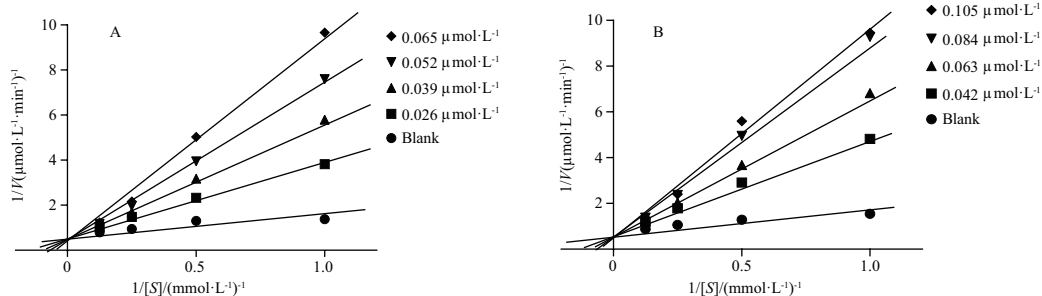
Note: ¹⁾The tested concentration of compound 1 was 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; ²⁾SI = IC₅₀(hMAO-A) / IC₅₀(hMAO-B); ³⁾The tested concentration of Selegiline was 0.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; - - no determined.

综上所述,以上实验结果基本阐明了 3',4'-亚乙二氧基查尔酮化合物抑制 hMAO-B 的构效关系,为下一步开发活性更优、选择性更高的 MAO-抑制剂提供了重要参考。

2.3 活性化合物 hMAO-B 抑制动力学研究

为探讨活性化合物对 hMAO-B 的抑制作用类型,本实验选用抑制活性较好的化合物 9 和 13 为代表性化合物进行抑制动力学研究。在化合

物不同的作用浓度下,作出 Linearweaver-Burk 图,即以酶浓度倒数(1/[S])为横坐标,酶反应速率倒数(1/V)为纵坐标作图进行分析。所测试的两个化合物 Linearweaver-Burk 图中几组直线均相交于 Y 轴,而且这些直线的斜率随着抑制剂浓度的增大而变大。由此可知,活性化合物 9 和 13 对 hMAO-B 的抑制类型为均为竞争型抑制(图 3)。



A - 化合物 9 对 hMAO-B 抑制的动力学结果; B - 化合物 13 对 hMAO-B 抑制的动力学结果; 1/V - 酶反应速率的倒数; 1/[S] - 底物浓度的倒数。

A - the kinetic result of enzymatic inhibition of compound 9 on hMAO-B; B - the kinetic result of enzymatic inhibition of compound 13 on hMAO-B; 1/V - the reciprocal of initial reaction velocity; 1/[S] - the reciprocal of concentrations of the substrate.

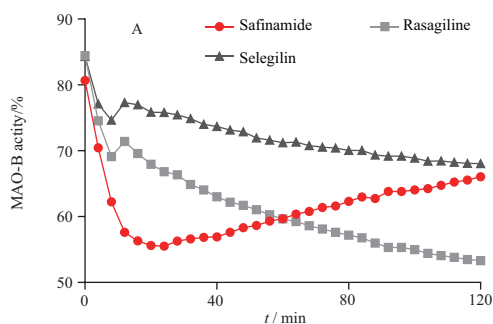
图 3 化合物 9 和 13 对 hMAO-B 抑制的动力学研究

Fig. 3 Kinetic studies of enzymatic inhibition of compound 9 and 13 on hMAO-B

2.4 活性化合物抑制 *h*MAO-B 的可逆性分析

本研究采用时间依赖抑制的测试方法,分析活性化合物 **9** 和 **13** 对 *h*MAO-B 的抑制可逆性。实验选用不可逆抑制剂司来吉兰和雷沙吉兰,可逆性抑制剂沙芬酰胺作为阳性对照,在相同的时间范围内考察化合物在与底物共存的情况下对 *h*MAO-B 抑制作用的变化情况。

由图 4A 可见,司来吉兰和雷沙吉兰与 *h*MAO-B 孵育 12 min 后,*h*MAO-B 的活性随着孵育时间的延长而持续下降,这表明了二者对酶的抑制作用是不可逆的。



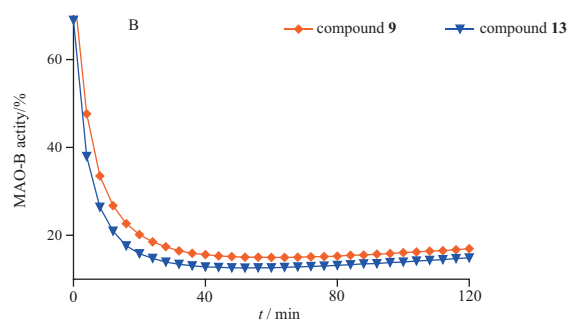
A - 司来吉兰、雷沙吉兰和沙芬酰胺; B - 化合物 **9** 和 **13**。

A - selegiline, rasagiline and safinamide; B - compound **9** and **13**.

图 4 化合物对 *h*MAO-B 的时间依赖性抑制研究

Fig. 4 Studies of time-dependent inhibition of tested compounds on *h*MAO-B

可逆的。而沙芬酰胺与 *h*MAO-B 开始孵育后,酶活性呈持续下降,24 min 后,酶活性开始恢复,并持续增强,这表明该抑制剂对酶的抑制作用是可逆的。对于活性化合物 **9** 和 **13**,与 *h*MAO-B 开始孵育后,酶活性在开始阶段迅速下降,之后下降趋势逐渐减缓,在 40 min 后酶活性持续恢复和增强(图 4B)。由上可知,活性化合物 **9** 和 **13** 对 *h*MAO-B 活性的抑制作用随时间变化曲线与沙芬酰胺相似,而不同于司来吉兰和雷沙吉兰。由上可知,活性化合物 **9** 和 **13** 为 *h*MAO-B 的可逆性抑制剂。



2.5 分子对接研究

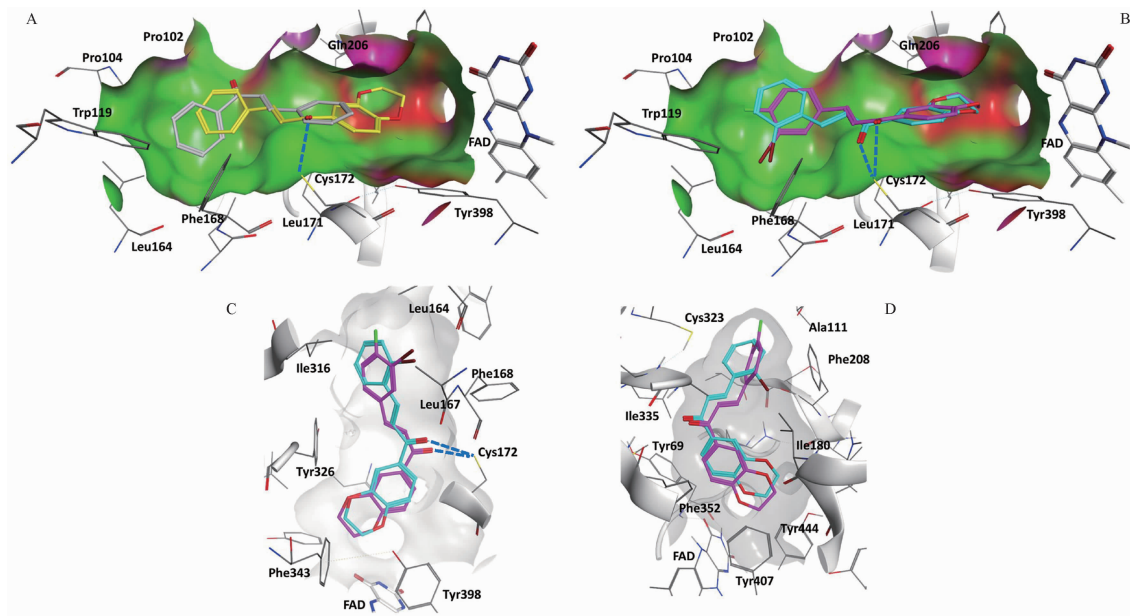
为从分子水平上探讨活性化合物抑制 *h*MAO-B 的作用方式,本部分研究利用分子对接的方法研究二者的结合模式。首先,分析查尔酮与 *h*MAO-B 的结合情况(图 5A),可知查尔酮的 A 环占据着由 Trp119、Phe168、Pro102 及 Leu164 等氨基酸残基组成的疏水腔,B 环则伸向 FAD 一端区域,其结合力主要是疏水作用力。而对于化合物 **2**,其以伸展的构象占据活性口袋,苯环占据的区域与查尔酮的 A 环相近,1,4-苯并二氧六环伸向 FAD 一侧,更加靠近相对亲水的催化中心区,其结构上的 α,β -不饱和酮羰基与活性口袋的 Cys172 残基巯基形成了氢键(相距约 3.11 Å,图 5A)。对于活性化合物 **13**,骨架结构上的苯环和 1,4-苯并二氧六环在活性口袋的空间取向与化合物 **2** 相似, α,β -不饱和酮的羰基与残基 Cys172 的巯基形成了氢键(相距约 3.13 Å)。另外,其苯环上的 3-Br 和 4-F 分别嵌入了由 Trp119、Leu164 和 Phe168 及 Phe103、Phe104 和 Trp119 等氨基酸残基组成的局部空腔,进一步增强了与酶的结合力(图 5B)。对于活性最好的化合物 **9**,其在活性口袋的伸展取向与化合物 **13** 相似,苯环

上的 2-Br 嵌入了由 Trp119、Leu164 和 Phe168 等残基形成的局部空腔,而 α,β -不饱和酮的羰基则更靠近 Cys172,与其巯基形成了较强的氢键(3.05 Å)。因为与 Cys172 以氢键结合是很多抑制剂与 MAO-B 作用的重要模式^[19,21],由此推测,这种作用模式能明显增强活性化合物与 *h*MAO-B 的结合,从而使其表现出高效的抑制活性。

由抑制活性筛选结果可知,活性化合物对 *h*MAO-B 的抑制还具有良好的选择专一性,对 *h*MAO-A 表现出很弱的抑制作用。为阐明活性化合物对 *h*MAO-A/B 抑制产生活性差异的原因,本部分研究以活性化合物 **9** 和 **13** 为研究对象,同样利用分子对接的方法,对化合物与酶的结合模式进行分析。结果显示,与活性化合物占据 *h*MAO-B 活性口袋时充分伸展的分子构象(图 5C)不同,活性化合物 **9** 和 **13** 以相对折叠的分子构象占据 *h*MAO-A 大半个活性口袋,存在的相互作用力为疏水作用力(图 5D)。采用这种折叠的分子结合构象主要因为 *h*MAO-A 的活性口袋是单腔结构,总体积要小于 *h*MAO-B 的活性口袋^[21],这样可以避免化合物分子本身与周围氨基酸残基相冲突。然

而,这种作用模式存在较大位阻斥力,并不利于稳定结合^[22]。由此可推测,空间位阻效应是活性化

合物无法对 *hMAO-A* 产生较好抑制活性的主要原因。



A - 查尔酮、活性化合物 2 与 *hMAO-B* 的分子对接结果; B - 活性化合物 9、13 与 *hMAO-B* 的分子对接结果; C - 活性化合物 9、13 与 *hMAO-B* 对接的侧面示意图; D - 活性化合物 9、13 与 *hMAO-A* 的分子对接结果; 灰色分子 - 查尔酮; 黄色分子 - 化合物 2; 青色分子 - 化合物 9; 紫色分子 - 化合物 13; 蓝色虚线 - 氢键。
A - chalcone and compound 2 docking with *hMAO-B*; B - Compound 9 and 13 docking with *hMAO-B*; C - the side view of molecular docking result of compound 9 and 13 with *hMAO-B*; D - compound 9 and 13 docking with *hMAO-A*; Gray - chalcone; Yellow - compound 2; Cyan - compound 9; Purple - compound 13; Blue line - hydrogen bond.

图 5 查尔酮及活性化合物 2、9、13 与 *hMAO-A/B* 的分子对接示意图

Fig. 5 Diagrams of molecular docking results of chalcone, compounds 2, 9, 13 with *hMAO-A/B*

2.6 细胞增殖抑制实验

本实验采用 MTT 法评价活性化合物对神经细胞的毒性。选用抑制 *hMAO-B* 活性最好的化合物 9 作为研究对象,小鼠小胶质细胞 BV2 细胞作为测试细胞株,以体积分数 0.1% DMSO 作为阴性对照,分别在化合物 1、5 和 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的作用浓度下,考察其对细胞的增殖抑制影响。由图 6 可知,在所测试的浓度范围内,化合物 9 对于 BV2 细胞未表现明显的增殖抑制作用。这说明了化合物 9 具有较低水平的神经毒性。

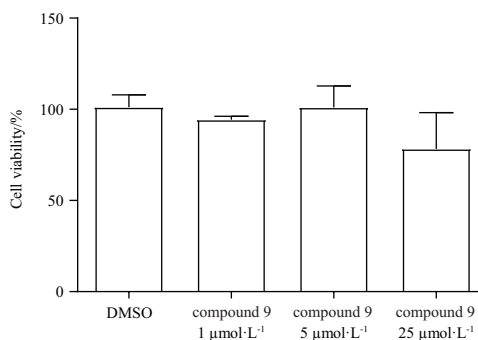


图 6 化合物 9 对 BV2 细胞增殖抑制的影响。 $n = 3, \bar{x} \pm s$

Fig. 6 The inhibitory effects of compound 9 on the proliferation of BV2 cell line. $n = 3, \bar{x} \pm s$

3 结论

本实验从查尔酮母核结构出发,设计和合成了一系列 3',4'-亚乙二氧基查尔酮衍生物,评价其抑制 *hMAO-B* 的活性,从中筛选得到了抑制活性高效的化合物 9 和 13,并总结了该类化合物的构效关系。结果显示,化合物 9 和 13 对 *hMAO-B* 的抑制 IC_{50} 值分别为 0.021 和 0.042 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 优于阳性药物雷沙吉兰和沙芬酰胺,二者对 *hMAO-B* 的抑制作用表现出高度的选择专一性。酶抑制动力学研究

表明,化合物 9 和 13 是 *hMAO-B* 的可逆性竞争型抑制剂。分子对接研究表明,活性化合物主要是通过疏水作用力和氢键增强了与 *hMAO-B* 的结合。另外,体外细胞增殖抑制实验显示,活性化合物 9 对小鼠 BV2 小胶质细胞未表现出明显的神经毒性,具备一定的安全性。综上所述,本实验发现的 3',4'-亚乙二氧基查尔酮类 MAO-B 抑制剂具备较好的研究和开发潜力,可为发展新型抑制 MAO-B 的先导化合

物提供借鉴和参考。

REFERENCES

- [1] MATHEW B, HARIDAS A, U AR G, *et al.* Exploration of chlorinated thienyl chalcones; a new class of monoamine oxidase-B inhibitors[J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 91: 680-695. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2016. 05. 110.
- [2] EDMONDSON D E, BINDA C, MATTEVI A. Structural insights into the mechanism of amine oxidation by monoamine oxidases A and B[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 464(2): 269-276.
- [3] TSUGENO Y, ITO A. A key amino acid responsible for substrate selectivity of monoamine oxidase A and B[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(22): 14033-14036.
- [4] SCIENCE ADVANCES DE COLIBUS L, LI M, BINDA C, *et al.* Three-dimensional structure of human monoamine oxidase A (MAO A): relation to the structures of rat MAO A and human MAO B[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(36): 12684-12689.
- [5] CARRADORI S, SILVESTRI R. New frontiers in selective human MAO-B inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2015, 58(17): 6717-6732.
- [6] TRIPATHI A C, UPADHYAY S, PALIWAL S, *et al.* Privileged scaffolds as MAO inhibitors; retrospect and prospects[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 145: 445-497.
- [7] FINBERG J P M. Inhibitors of MAO-B and COMT; their effects on brain dopamine levels and uses in Parkinson's disease[J]. *J Neural Transm*, 2019, 126(4): 433-448.
- [8] MANZOOR S, HODA N. A comprehensive review of monoamine oxidase inhibitors as Anti-Alzheimer's disease agents; a review [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 206: 112787. DOI: 10.1016/j.ejmech. 2020. 112787.
- [9] LONG Q, YUAN Y H, ZHANG X, *et al.* Research progress of safinamide in treatment of Parkinson's diseases[J]. *Chin Pharmacol Bull*(中国药理学通报), 2019, 35(1): 8-11.
- [10] FABBRINI G, ABBRUZZESE G, MARCONI S, *et al.* Selegiline: a reappraisal of its role in Parkinson disease[J]. *Clin Neuropharmacol*, 2012, 35(3): 134-140.
- [11] PARK J H, JU Y H, CHOI J W, *et al.* Newly developed reversible MAO-B inhibitor circumvents the shortcomings of irreversible inhibitors in Alzheimer's disease[J]. *Sci Adv*, 2019, 5(3): eaav0316. DOI: 10.1126/sciadv. aav0316.
- [12] BORGHAIN R, SZASZ J, STANZIONE P, *et al.* Randomized trial of safinamide add-on to levodopa in Parkinson's disease with motor fluctuations[J]. *Mov Disord*, 2014, 29(2): 229-237.
- [13] CHIMENTI F, FIORAVANTI R, BOLASCO A, *et al.* Chalcones: a valid scaffold for monoamine oxidases inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2009, 52(9): 2818-2824.
- [14] KONG Z, SUN D M, CHEN A Q, *et al.* Synthesis and monoamine oxidase B inhibitory activities of isochlorogenicin derivatives [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2019, 44(21): 4653-4660.
- [15] KONG Z, SUN D, JIANG Y, *et al.* Design, synthesis, and evaluation of 1, 4-benzodioxan-substituted chalcones as selective and reversible inhibitors of human monoamine oxidase B[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2020, 35(1): 1513-1523.
- [16] DAUKSHAS V K, GAIDYALIS P G, PYATRAUSKAS O Y, *et al.* Synthesis and antiinflammatory activity of acylated benzoxa- and benzodioxaheterocycles and their acyclic analogs[J]. *Pharm Chem J*, 1987, 21(5): 341-345.
- [17] YANG Y S, YANG B, ZOU Y, *et al.* Design, biological evaluation and 3D QSAR studies of novel dioxin-containing triaryl pyrazoline derivatives as potential B-Raf inhibitors [J]. *Biorg Med Chem*, 2016, 24(13): 3052-3061.
- [18] LU C, GUO Y, YAN J, *et al.* Design, synthesis, and evaluation of multitarget-directed resveratrol derivatives for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *J Med Chem*, 2013, 56(14): 5843-5859.
- [19] REIS J, MANZELLA N, CAGIDE F, *et al.* Tight-binding inhibition of human monoamine oxidase B by chromone analogs; a kinetic, crystallographic, and biological analysis [J]. *J Med Chem*, 2018, 61(9): 4203-4212.
- [20] REIS J, CAGIDE F, CHAVARRIA D, *et al.* Discovery of new chemical entities for old targets; insights on the lead optimization of chromone-based monoamine oxidase B (MAO-B) inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2016, 59(12): 5879-5893.
- [21] BINDA C, WANG J, PISANI L, *et al.* Structures of human monoamine oxidase B complexes with selective noncovalent inhibitors; safinamide and coumarin analogs[J]. *J Med Chem*, 2007, 50(23): 5848-5852.
- [22] LEGOABE L J, PETZER A, PETZER J P. Selected C7-substituted chromone derivatives as monoamine oxidase inhibitors [J]. *Bioorg Chem*, 2012, 45: 1-11. DOI: 10.1016/j. bioorg. 2012. 08. 003.

(收稿日期:2023-10-20)