

## 3-烷基-1(3H)-异苯并硒吩酮的合成及其 抗血小板聚集和抗氧化活性

方建根<sup>1</sup>, 王旭亮<sup>1</sup>, 凌菁菁<sup>2</sup>, 尹伟<sup>1</sup>, 徐进宜<sup>3\*</sup>, 季晖<sup>2\*\*</sup>, 张奕华<sup>1</sup>

(中国药科大学<sup>1</sup>新药研究中心;<sup>2</sup>药理学教研室;<sup>3</sup>药物化学教研室, 南京 210009)

**摘要** 邻苯二甲酰氯(**1**)与硒氢化铝锂反应制备1,3-异苯并硒吩二酮(**2**),然后与格式试剂加成、水解得3-烷基-3-羟基-1(3H)-异苯并硒吩酮(**3a~3h**),最后在氢碘酸作用下得到目标化合物**4a~4h**,结构经MS及<sup>1</sup>H NMR确证。采用Born氏比浊法检测目标物对二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集抑制活性;采用黄嘌呤氧化酶法和邻二氮菲法检测目标化合物的抗氧化活性。结果表明,化合物**4a~4h**对ADP诱导的血小板聚集显示了不同程度的抑制作用,其中化合物**4f**的血小板聚集抑制活性最强,优于丁苯酞。此外,化合物**4f**还显示了较强的体外清除羟基自由基的能力,活性与依达拉奉相当,值得进一步研究。

**关键词** 丁苯酞; 硒代; 合成; 抗血小板聚集活性; 自由基; 抗氧化活性

中图分类号 R914; R965 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2015)05-0552-04

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150506

## Synthesis and antiplatelet aggregation/antioxidant activity of 3-alkyl-benzo[*c*] selenophen-1(3H)-ones

FANG Jiange<sup>1</sup>, WANG Xuliang<sup>1</sup>, LING Jingjing<sup>2</sup>, YIN Wei<sup>1</sup>, XU Jinyi<sup>3\*</sup>, JI Hui<sup>2\*\*</sup>, ZHANG Yihua<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Center of Drug Discovery; <sup>2</sup> Department of Pharmacology; <sup>3</sup> Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** Phthaloyl dichloride (**1**) was reacted with LiAlSeH<sub>2</sub> to give benzo[*c*] selenophene-1,3-dione (**2**), which was treated with the Grignard reagents to generate hydroxyl compounds **3a-3h**. These compounds were finally converted to target products **4a-4h** by treatment with hydriodic acid. The structures of **4a-4h** were confirmed by MS and <sup>1</sup>H NMR. Their inhibitory activity against adenosine diphosphate (ADP)-induced platelet aggregation was evaluated by Born's turbidimetric assay; free radical scavenging activity was assayed by xanthine oxidase method and 1,10-phenanthroline spectrophotometric method. It was found that compound **4f** displayed more potent inhibitory effect on platelet aggregation than 3-*n*-butylphthalide and comparable hydroxyl free radical scavenging activity *in vitro* to that of edaravone. Therefore, compound **4f** might be the candidate for further investigation.

**Key words** 3-*n*-butylphthalide; selenium substitution; synthesis; antiplatelet aggregation activity; free radical; antioxidant activity

动脉粥样硬化、血栓形成等是导致缺血性脑卒中的重要病理基础<sup>[1]</sup>。目前治疗此类疾病的主要手段之一是使用抗血栓药物,其中抗血小板药物占有极其重要的地位<sup>[2]</sup>。但是现有的药物并不能取得令人满意的疗效,故寻找新型抗血小板聚集化合物已成为研发抗缺血性脑卒中药物

的热点之一<sup>[3]</sup>。3-正丁基-1(3H)-异苯并呋喃酮,简称丁苯酞(NBP),是我国研制并用于缺血性脑卒中治疗的一类新药。NBP具有抗血小板聚集、抗氧化等作用,可阻断缺血性脑卒中所致脑损伤的多个病理环节,具有较强的抗脑缺血、缩小脑梗死面积、减轻脑水肿、保护脑神经等功

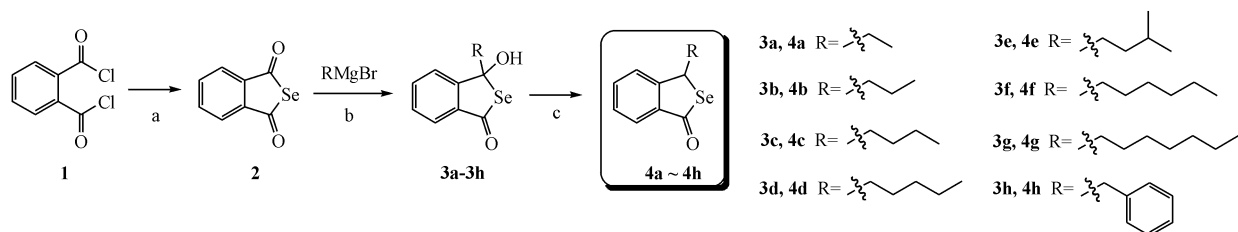
效<sup>[4]</sup>。NBP虽然用药安全,但需要与其他抗血小板聚集、抗氧化药物等联用才能发挥更好的疗效<sup>[5]</sup>。因此,寻找活性更强的抗血小板聚集和抗氧化活性的化合物具有重要意义。

生物电子等排取代是对先导化合物进行优化的有效策略之一。本课题组先前曾运用此原理,将NBP的2位氧用硫原子取代,同时在苯酐的3位引入不同的烃基,合成了一系列3-烃基-1(3H)-异苯并噻吩酮化合物<sup>[6]</sup>。药理研究结果显示,大多数化合物比NBP具有更强的抗血小板聚集、抗血栓和抗氧化活性。考虑到硒和氧、硫同属第VIA族元素,且硒类化合物已被发现具有抗氧化、抗炎和保护心脑血管活性<sup>[7]</sup>,本研究将硒原子取代1(3H)-

异苯并噻吩酮的2位氧原子,同时在3位引入不同的烃基侧链进行修饰,设计、合成了8个3-烃基-1(3H)-异苯并硒吩酮化合物,期望它们比NBP具有更强的抗血小板聚集和抗氧化活性。

## 1 目标化合物的合成路线

以邻苯二甲酰氯**1**为起始原料,与硒氢化铝锂(LiAlSeH<sub>2</sub>)反应,制得1,3-异苯并硒吩二酮**2**,再与不同的格氏试剂发生加成、水解反应,得到中间体3-羟基-3-烃基-1(3H)-异苯并硒吩酮**3a~3h**,最后与57%氢碘酸发生脱水、还原反应,得到目标化合物**4a~4h**(路线1)。所有目标物均未见文献报道,结构经MS及<sup>1</sup>H NMR确证。



**Scheme 1** Synthetic route of the target compounds

Reagents and conditions: (a) LiAlSeH<sub>2</sub>, THF, r. t., 5 h; (b) ether, reflux, 2 h, r. t., 6 h; (c) AcOH, aqueous HI (57%), 125 °C, 1 h

## 2 合成实验

熔点采用RY-1熔点仪测定(温度未校正);质谱采用Hewlett-Packard 1100 LC/MSD质谱仪测定;核磁共振氢谱采用Bruker-ACF 300Q型核磁共振仪测定(CDCl<sub>3</sub>为溶剂,TMS为内标)。实验所用试剂均为市售化学纯或分析纯,除特别说明外,不经处理直接使用。

### 2.1 1,3-异苯并硒吩二酮(2)的合成

在含无水四氢呋喃50 mL的250 mL圆底烧瓶中加入硒粉(10.4 g, 0.13 mol)和氢化铝锂(5.0 g, 0.13 mol), 0 °C下搅拌0.5 h,制得硒氢化铝锂(LiAlSeH<sub>2</sub>),然后向反应体系中加入邻苯二甲酰氯(**1**)26.4 g(0.13 mol),室温搅拌5 h。反应结束后,小心加入水150 mL,水层用乙酸乙酯(50 mL×3)萃取,合并有机相,Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,快速柱色谱(乙酸乙酯-石油醚,1:30),得到黄色粉针状固体(14.5 g, 53%)。mp: 125~126 °C; ESI-MS: *m/z* 235 [M + Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ: 7.75~7.79 (2H, m, ArH), 7.95~7.99 (2H, m, ArH)。

### 2.2 3-羟基-3-烃基-1(3H)-异苯并硒吩酮(3a~3h)的合成通法

向含中间体**2**(1.0 mol)的无水乙醚溶液250 mL中逐滴加入相应的格氏试剂(1.5 mol),滴毕,加热回流2 h,冷却至室温搅拌6 h。向反应液中小心加入饱和氯化铵溶液150 mL淬灭反应,然后加入2 mol/L HCl调pH 2~3,分出有机相,无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,快速柱色谱(乙酸乙酯-石油醚,1:20),分离得到黄色油状物**3a~3g**和黄色固体**3h**(mp: 64~66 °C)。化合物**3a~3h**的收率、质谱及核磁共振氢谱数据见表1。

### 2.3 3-烃基-1(3H)-异苯并硒吩酮(4a~4h)的合成通法

将中间体**3a~3h**(1.0 mol)溶于冰醋酸10 mL中,加入57%氢碘酸溶液5 mL,升温至125 °C回流1 h,冷却后向反应混合液中加入5% NaHSO<sub>3</sub>溶液50 mL,乙醚(50 mL×3)萃取,合并有机层,无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,快速柱色谱(乙酸乙酯-石油醚,1:50),分离得到黄色油状产物**4a~4h**,其收率、质谱及核磁共振氢谱数据见表2。

Table 1 Yield, MS and <sup>1</sup>H NMR data of the intermediate compounds 3a-3h

| Compd. | Yield/% | MS ( <i>m/z</i> )        | <sup>1</sup> H NMR (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ  |
|--------|---------|--------------------------|---|
| 3a     | 26      | 241 [M - H] <sup>-</sup> | 0. 99 (3H, t, <i>J</i> = 7. 5 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 2. 13-2. 22 (1H, m, CH) , 2. 39-2. 50 (1H, m, CH) , 7. 42-7. 48 (1H, m, Ar-H) , 7. 52-7. 65 (2H, m, Ar-H) , 7. 79 (1H, d, <i>J</i> = 7. 5 Hz, Ar-H)   |
| 3b     | 33      | 255 [M - H] <sup>-</sup> | 0. 99 (3H, t, <i>J</i> = 7. 5 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 43-1. 61 (1H, m, CH) , 2. 10-2. 19 (1H, m, CH) , 2. 39-2. 50 (1H, m, CH) , 7. 42-7. 48 (1H, m, Ar-H) , 7. 52-7. 65 (2H, m, Ar-H) , 7. 79 (1H, d, <i>J</i> = 7. 5 Hz, Ar-H)                                     |
| 3c     | 41      | 269 [M - H] <sup>-</sup> | 1. 06 (3H, t, <i>J</i> = 7. 1 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 41-1. 61 (4H, m, 2 × CH <sub>2</sub> ) , 2. 10-2. 18 (1H, m, CH) , 2. 39-2. 50 (1H, m, CH) , 7. 30-7. 38 (1H, m, Ar-H) , 7. 51-7. 65 (2H, m, Ar-H) , 7. 80 (1H, d, <i>J</i> = 7. 5 Hz, Ar-H)                   |
| 3d     | 34      | 283 [M - H] <sup>-</sup> | 0. 98 (3H, t, <i>J</i> = 7. 1 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 32-1. 67 (6H, m, 3 × CH <sub>2</sub> ) , 2. 16-2. 23 (1H, m, CH) , 2. 40-2. 52 (1H, m, CH) , 7. 42-7. 48 (1H, m, Ar-H) , 7. 52-7. 68 (2H, m, Ar-H) , 7. 80 (1H, d, <i>J</i> = 7. 8 Hz, Ar-H)                   |
| 3e     | 41      | 283 [M - H] <sup>-</sup> | 0. 89-1. 05 (6H, m, 2 × CH <sub>3</sub> ) , 1. 25-1. 70 (3H, m, CH <sub>2</sub> , CH) , 1. 84-1. 97 (1H, m, CH) , 2. 41-2. 53 (1H, m, CH) , 5. 08-5. 12 (1H, m, SeCH) , 7. 36-7. 41 (1H, m, Ar-H) , 7. 53-7. 63 (2H, m, Ar-H) , 7. 77 (1H, d, <i>J</i> = 7. 5 Hz, Ar-H) |
| 3f     | 35      | 297 [M - H] <sup>-</sup> | 0. 89 (3H, t, <i>J</i> = 7. 1 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 32-1. 57 (8H, m, 4 × CH <sub>2</sub> ) , 2. 19-2. 24 (1H, m, CH) , 2. 40-2. 52 (1H, m, CH) , 7. 42-7. 48 (1H, m, Ar-H) , 7. 52-7. 63 (2H, m, Ar-H) , 7. 80 (1H, d, <i>J</i> = 7. 8 Hz, Ar-H)                   |
| 3g     | 43      | 311 [M - H] <sup>-</sup> | 0. 88 (3H, t, <i>J</i> = 7. 1 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 32-1. 55 (10H, m, 5 × CH <sub>2</sub> ) , 2. 19-2. 24 (1H, m, CH) , 2. 40-2. 52 (1H, m, CH) , 7. 42-7. 48 (1H, m, Ar-H) , 7. 52-7. 63 (2H, m, Ar-H) , 7. 80 (1H, d, <i>J</i> = 7. 8 Hz, Ar-H)                  |
| 3h     | 53      | 303 [M - H] <sup>-</sup> | 3. 58-2. 83 (2H, m, CH <sub>2</sub> ) , 7. 26-7. 36 (5H, m, ArH) , 7. 44-7. 52 (1H, m, Ar-H) , 7. 58-7. 64 (2H, m, Ar-H) , 7. 68 (1H, d, <i>J</i> = 8. 1 Hz, Ar-H)  |

Table 2 Yield, MS and <sup>1</sup>H NMR data of the target compounds 4a-4h

| Compd. | Yield/% | MS ( <i>m/z</i> )         | <sup>1</sup> H NMR (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ  |
|--------|---------|---------------------------|---|
| 4a     | 76      | 249 [M + Na] <sup>+</sup> | 1. 23 (3H, t, <i>J</i> = 7. 5 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 86-1. 96 (1H, m, CH) , 2. 37-2. 49 (1H, m, CH) , 5. 08-5. 12 (1H, m, SeCH) , 7. 39 (1H, t, <i>J</i> = 7. 2 Hz, Ar-H) , 7. 52-7. 63 (2H, m, Ar-H) , 7. 76 (1H, d, <i>J</i> = 7. 8 Hz, Ar-H)   |
| 4b     | 86      | 263 [M + Na] <sup>+</sup> | 1. 01 (3H, t, <i>J</i> = 7. 5 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 40-1. 69 (2H, m, CH <sub>2</sub> ) , 1. 86-1. 96 (1H, m, CH) , 2. 37-2. 49 (1H, m, CH) , 5. 08-5. 12 (1H, m, SeCH) , 7. 39 (1H, t, <i>J</i> = 7. 2 Hz, Ar-H) , 7. 52-7. 63 (2H, m, Ar-H) , 7. 76 (1H, d, <i>J</i> = 7. 8 Hz, Ar-H)                                 |
| 4c     | 77      | 277 [M + Na] <sup>+</sup> | 0. 89 (3H, t, <i>J</i> = 7. 5 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 35-1. 56 (4H, m, 2 × CH <sub>2</sub> ) , 1. 74-1. 87 (1H, m, CH) , 2. 26-2. 35 (1H, m, CH) , 5. 07-5. 11 (1H, m, SeCH) , 7. 39-7. 45 (1H, m, Ar-H) , 7. 53 (1H, d, <i>J</i> = 7. 5 Hz, Ar-H) , 7. 63-7. 68 (1H, m, Ar-H) , 7. 79 (1H, d, <i>J</i> = 7. 5 Hz, Ar-H) |
| 4d     | 75      | 291 [M + Na] <sup>+</sup> | 0. 90 (3H, t, <i>J</i> = 6. 6 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 34-1. 60 (6H, m, 3 × CH <sub>2</sub> ) , 1. 84-1. 96 (1H, m, CH) , 2. 40-2. 48 (1H, m, CH) , 5. 08-5. 12 (1H, m, SeCH) , 7. 37-7. 42 (1H, m, Ar-H) , 7. 52-7. 63 (2H, m, Ar-H) , 7. 76 (1H, d, <i>J</i> = 7. 5 Hz, Ar-H)   |
| 4e     | 79      | 291 [M + Na] <sup>+</sup> | 0. 82-0. 98 (6H, m, 2 × CH <sub>3</sub> ) , 1. 25-1. 70 (3H, m, CH <sub>2</sub> , CH) , 1. 84-1. 97 (1H, m, CH) , 2. 41-2. 53 (1H, m, CH) , 5. 08-5. 12 (1H, m, SeCH) , 7. 37-7. 42 (1H, m, Ar-H) , 7. 53-7. 63 (2H, m, Ar-H) , 7. 77 (1H, d, <i>J</i> = 7. 5 Hz, Ar-H)   |
| 4f     | 69      | 305 [M + Na] <sup>+</sup> | 0. 87 (3H, t, <i>J</i> = 7. 2 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 25-1. 65 (8H, m, 4 × CH <sub>2</sub> ) , 1. 84-1. 96 (1H, m, CH) , 2. 44-2. 48 (1H, m, CH) , 5. 08-5. 12 (1H, m, SeCH) , 7. 36-7. 41 (1H, m, Ar-H) , 7. 52-7. 62 (2H, m, Ar-H) , 7. 76 (1H, d, <i>J</i> = 7. 5 Hz, Ar-H)   |
| 4g     | 35      | 297 [M + H] <sup>+</sup>  | 0. 89 (3H, t, <i>J</i> = 7. 2 Hz, CH <sub>3</sub> ) , 1. 25-1. 65 (10H, m, 5 × CH <sub>2</sub> ) , 1. 84-1. 96 (1H, m, CH) , 2. 44-2. 48 (1H, m, CH) , 5. 08-5. 12 (1H, m, SeCH) , 7. 36-7. 41 (1H, m, Ar-H) , 7. 52-7. 62 (2H, m, Ar-H) , 7. 76 (1H, d, <i>J</i> = 7. 8 Hz, Ar-H)  |
| 4h     | 72      | 289 [M + H] <sup>+</sup>  | 4. 52-4. 59 (1H, m, CH) , 4. 65-4. 69 (1H, m, CH) , 5. 05-5. 09 (1H, m, SeCH) , 7. 24-7. 36 (5H, m, Ar-H) , 7. 42-7. 50 (2H, m, Ar-H) , 7. 58-7. 66 (1H, m, Ar-H) , 7. 80 (1H, d, <i>J</i> = 8. 1 Hz, Ar-H)   |

3 活性评价

3. 1 抗血小板聚集活性

以阿司匹林 (Asp) 和 NBP 为阳性对照药,采用 Born 氏比浊法,测试目标化合物 4a~4h 对 ADP 诱

导的血小板聚集抑制活性。家兔用利多卡因局部麻醉后,手术分离颈总动脉取血,用 3. 8% 枸橼酸钠 1:9 抗凝,以 500 r/min 离心 10 min,制备富血小板血浆 (PRP),剩余部分再以 3 000 r/min 离心 10 min,制备贫血小板血浆 (PPP),按比浊法进行

血小板聚集实验。测定管中加入 PRP 240  $\mu$ L、受试药物 30  $\mu$ L(终浓度 0.1 mmol/L),温孵 5 min,以 ADP(终浓度 10  $\mu$ mol/L)30  $\mu$ L 为诱导剂,观察记录 5 min 内最大聚集率。用 1% DMSO 作对照,计算各药物对 ADP 诱导的血小板聚集的抑制率。结果如表 3 所示。

**Table 3** Effect of the target compounds (0.1 mmol/L) on the ADP (10  $\mu$ mol/L)-induced platelet aggregation *in vitro*

| Compd.    | Max aggregation<br>at 5 min/% | Inhibition/%       |
|-----------|-------------------------------|--------------------|
| Control   | 41.08 $\pm$ 2.85              | –                  |
| Aspirin   | 37.18 $\pm$ 1.89              | 9.5                |
| NBP       | 37.63 $\pm$ 2.97              | 8.4                |
| <b>4a</b> | 38.76 $\pm$ 2.23              | 5.6                |
| <b>4b</b> | 38.90 $\pm$ 3.01              | 5.3                |
| <b>4c</b> | 38.95 $\pm$ 2.87              | 5.2                |
| <b>4d</b> | 39.03 $\pm$ 3.05              | 5.0                |
| <b>4e</b> | 38.47 $\pm$ 3.08              | 6.4                |
| <b>4f</b> | 33.40 $\pm$ 3.61 *            | 18.8 <sup>##</sup> |
| <b>4g</b> | 35.21 $\pm$ 1.77 *            | 14.2 <sup>#</sup>  |
| <b>4g</b> | 39.75 $\pm$ 2.51              | 3.2                |

NBP; *n*-Butylphthalide; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group; <sup>#</sup>  $P < 0.01$ , <sup>##</sup>  $P < 0.001$  vs NBP group

由表 3 可见,化合物 **4a** ~ **4h** 不同程度地抑制了 ADP 诱导的血小板聚集,化合物 **4f** 和 **4g** 的抑制作用明显优于 NBP 和 Asp,其中化合物 **4f** 的抑制活性最强。当浓度为 0.1 mmol/L 时,化合物 **4f** (18.8%) 的抑制率约是 NBP(8.4%) 的两倍。

3.2 体外抗氧化活性

对血小板聚集抑制活性最好的化合物 **4f**,本研究采用黄嘌呤氧化酶法和邻二氮菲法,检测其对超氧阴离子自由基和羟基自由基的清除能力。阳性对照药为 NBP 和依达拉奉。结果如表 4 所示。

**Table 4** Hydroxyl and superoxide radical scavenging effects of **4f**

| Compd.    | IC <sub>50</sub> /(mmol/L)     |                                  |
|-----------|--------------------------------|----------------------------------|
|           | Hydroxyl radical<br>scavenging | Superoxide radical<br>scavenging |
| Edaravone | 2.12                           | 1.05                             |
| NBP       | 14.44                          | >100                             |
| <b>4f</b> | 2.18                           | >100                             |

表 4 表明,虽然化合物 **4f** 体外清除超氧阴离子自由基能力与 NBP 相当,但其清除羟基自由基的能力(IC<sub>50</sub> = 2.18 mmol/L)比 NBP(IC<sub>50</sub> = 14.44

mmol/L)强得多,与临床应用的依达拉奉(IC<sub>50</sub> = 2.12 mmol/L)相当。

4 结果与讨论

构效关系研究表明,随着 3 位烃基碳链的延长,目标物 **4a** ~ **4h** 抗血小板聚集活性基本呈上升趋势,当碳原子数为 6(**4f**)时,活性最强。当 3 位烃基位阻增大时(**4h**),化合物抗血小板聚集活性显著下降。结果提示,此类化合物的抗血小板聚集活性可能与 3 位烃基与体内受体结合时的空间要求相关。此外,与 NBP 相比,3-羟基-1(3*H*)-异苯并硒吩酮 **4a** ~ **4h** 总体上有较好的抗血小板聚集活性和抗氧化能力,推测是由于 1(3*H*)-异苯并硒吩酮母核结构中硒原子在体积大小及电子云密度与 1(3*H*)-异苯并呋喃酮上氧原子的差异所致。研究表明,化合物 **4f** 的抗血小板聚集活性优于 NBP,且清除羟基自由基的能力与依达拉奉相当,具有进一步研究的价值。

参考文献

[1] William AS, Wang X, Pancras CW. New advances in treating thrombotic diseases[J]. *Drug Discov Today*, 2014, **19**(9): 1433 – 1434.

[2] Leys D, Balucani C, Cordonnier C. Antiplatelet drugs for ischemic stroke prevention[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2009, **27**: 120 – 125.

[3] Yang CY, Huang ZJ, Ling JJ, *et al.* Synthesis and evaluation of carbamate-isosorbide-3-*n*-butylphthalide ring opening derivative trihybrids as novel platelet aggregation inhibitor[J]. *J China Pharm Univ*(中国药科大学学报), 2013, **44**(3): 202 – 206.

[4] Zhang Y, Wang L, Li J, *et al.* 2-(1-Hydroxypentyl)-benzoate increases cerebral blood flow and reduces infarct volume in rats model of transient focal cerebral ischemia[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, **317**(3): 973 – 979.

[5] Zhu Y, Tan S. Observation of dl-3-*n*-butylphthalide combined edaravone treating 36 patients with progressive cerebral infarction[J]. *Chin J Pract Nerv Dis*(中国实用神经疾病), 2010, **13**: 10 – 12.

[6] Wu J, Ling JJ, Wang XL, *et al.* Discovery of a potential anti-ischemic stroke agent: 3-pentylbenzo[*c*]thiophen-1(3*H*)one[J]. *J Med Chem*, 2012, **55**(16): 7173 – 7181.

[7] Thomson CD. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status; a review[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2004, **58**(3): 391 – 402.