



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103113202 A

(43) 申请公布日 2013.05.22

(21) 申请号 201310032629.X

A61K 31/122(2006.01)

(22) 申请日 2013.01.29

A61P 3/10(2006.01)

(71) 申请人 牡丹江医学院

地址 157011 黑龙江省牡丹江市爱民区通乡街3号

(72) 发明人 葛仁山 郭艳芹 李洪志 袁晓环

张羽飞 张春雷 王超男 武艳

付小兵 吴丹

(74) 专利代理机构 北京鼎佳达知识产权代理事

务所(普通合伙) 11348

代理人 侯蔚寰

(51) Int. Cl.

C07C 49/697(2006.01)

C07C 45/74(2006.01)

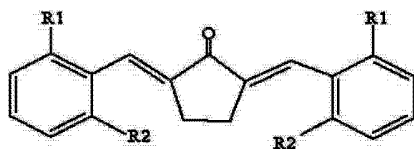
权利要求书2页 说明书10页

(54) 发明名称

一种(2E,5E)-2,5-双亚苺基环戊酮类似物及其制备方法与应用

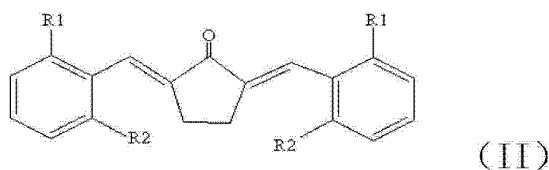
(57) 摘要

本发明提供了一种(2E,5E)-2,5-双亚苺基环戊酮类似物,包括具有通式 II 所示结构的化合物及其药学上可接受的盐,该类化合物具有显著的药理活性。此外,本发明进一步提供了该类化合物的制备方法及其作为 1 型 11 β -羟基类固醇脱氢酶(11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type I, 11 β -HSD1)抑制剂在预防和治疗人类糖尿病中的应用。



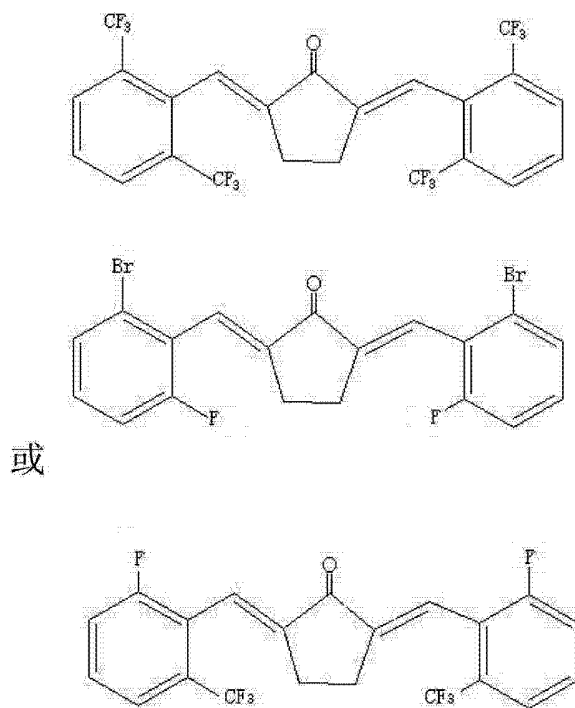
(II)

1. 一种 (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物,包括具有通式 II 所示结构的化合物及其药学上可接受的盐:



其中: R_1 和 R_2 各自独立选自 H、Br、 CF_3 或者 F; 优选所述的 R_1 和 R_2 各自独立选自 Br、 CF_3 或 F。

2. 根据权利要求 1 所述的 (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物,其特征在于,所述的 R_1 为 Br、 CF_3 或 F, R_2 为 CF_3 或 F; 即



3. 根据权利要求 1 所述的药学上可接受的盐,其特征在于,所述的药学上可接受的盐包括与无机酸形成的盐、与有机酸形成的盐以及由元素阴离子或阳离子形成的盐;

优选所述的无机酸为盐酸、硫酸或磷酸;所述的有机酸为乙酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸或草酸;所述的元素阴离子为氯、溴或碘;所述的元素阳离子包括钾、钠、钙或镁。

4. 权利要求 1-3 任一项所述 (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物的制备方法,其特征在于,环戊酮和卤代苯甲醛在溶剂中,以氢氧化钾或甲醇钠为催化剂,加热回流 0.3-3h 进行反应,反应温度为 $20^{\circ}C$ - $80^{\circ}C$, 分离及纯化产物得到目标化合物;优选反应时间为 1h-1.5h, 反应温度为 $45^{\circ}C$ - $55^{\circ}C$ 。

5. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征在于,所述的卤代苯甲醛为 2,6-三氟甲基苯甲醛、2-溴-6-氟苯甲醛、2-氟-6-三氟甲基苯甲醛、邻氯苯甲醛、2,6-二氯苯甲醛或 2-三氟甲基苯甲醛。

6. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征在于,所述的溶剂为乙醇或甲醇,所述溶剂的体积用量为反应物总质量的 3-5 倍。

7. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征在于,所述环戊酮与卤代苯甲醛的摩尔用量比为 3:1-2:1,所述催化剂的质量用量为环戊酮与卤代苯甲醛总质量的 10%-30%。

8. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征在于,所述的氢氧化钾为质量浓度为 5% 的氢氧化钾水溶液。所述的甲醇钠为质量浓度为 0.5% 的甲醇钠甲醇溶液。

9. 权利要求 1-3 任一项所述 (2E,5E)-2,5- 双亚苄基环戊酮类似物在制备预防及治疗人类糖尿病药物中的应用。

10. 含有权利要求 1-3 任一项所述 (2E,5E)-2,5- 双亚苄基环戊酮类似物的药物组合物。

一种(2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种新化合物,具体地说,涉及一种(2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 糖尿病(Diabetes mellitus,DM)是一种世界性疾病,根据WHO报道,2012年12月统计,目前全世界有3.46亿人患有糖尿病。如果没有任何干预这个数据预计到2030年将翻一番,其中80%发生在低中收入国家。DM已成为世界第三大疾病,其发病率和对人类健康的危险性,仅次于癌症和心脑血管病。在我国,目前大约有4000万名糖尿病患者,居全球第二,其中2型DM(T2DM)患者占全部DM的90%~95%。目前,1型糖尿病治疗研究的方向是开发给药方便的胰岛素制剂及胰岛素代用品;而2型糖尿病可用化学药物促使 β 细胞分泌更多胰岛素,或改善靶组织对胰岛素的敏感性进行治疗,研发新作用机制或新结构类型的高效低毒的抗糖尿病药物已成为国际上新药研发的热点。

[0003] 糖皮质激素是胰岛素作用的拮抗剂,它削弱依赖胰岛素的葡萄糖摄取和增加脂类分解,提高肝脏糖异生和通过蛋白水解作用增加基质(Andrew McMaster等,Nature Reviews Endocrinology,2008,4,91),并且直接抑制胰岛 β 细胞分泌胰岛素(PospíšilováY等,Vnitr Lek,2007,53,1,18)。胰岛素抑制肝糖异生,而糖皮质激素增加糖异生,直接或间接激活参与此过程的主要基因或激素,如:胰高血糖素、肝内磷酸烯醇丙酮羧化酶的基因表达(PEPCK),PEPCK是糖异生的限速酶,它被糖皮质激素反应元件调控,它还会对cAMP r调控元件绑定蛋白(CREB)作用(Gavin P.,Molecular and Cellular Endocrinology,2009,300,2)。糖皮质激素和CREB协同作用诱导过氧化酶体增值激活受体- γ 共活化剂1(PGC-1),它是肝糖异生主要的激活剂(Yoon JC等,Nature,2001,413,131)。另外,糖皮质激素通过抑制转运蛋白4的翻译,对抗胰岛素反应包括抑制胰岛素信号传递和抑制胰岛素刺激葡萄糖摄取(NicholasMichael Morton,Molecular and cellular endocrinology,2010,316,154)。所以糖皮质激素水平的高低直接影响胰岛素的作用。

[0004] 糖皮质激素是在下丘脑-垂体-肾上腺-轴线(HPA)控制下,由肾上腺分泌到血液中。然而在HPA决定血液糖皮质激素水平的同时,最近突出的研究表明细胞内11 β 羟基类固醇脱氢酶(11 β -HSDs)调节糖皮质激素水平。因此尽管在一些细胞中有正常的糖皮质激素水平,但是有时会使它处于非活性状态,有时由非活性的转化为活性状态,这些都是由11 β -HSD来催化,11 β -HSD有两种异构体,11 β -HSD1能活化惰性的前体(强的松或11-脱氢皮质酮)变为活化的糖皮质激素(皮质醇或皮质酮),它主要在肝脏、脂肪组织、脑、骨骼肌、平滑肌细胞中具有还原性(T.M.Stulnig1,Diabetologia,2004,47,1)。

[0005] 在日常变化过程中血浆活性皮质醇浓度变化较大(1-100nmol/L)。与此相反,非活性可的松没有大的日常变化,在50-100nmol/L波动,与皮质醇比较高的自由的血浆

浓度(Stewart PM 等, Vitam Horm, 1999, 57, 249)。因此, 血浆可的松可以当成是非活性的糖皮质激素的贮存池能够不断的提供 11b-HSD1 还原性以维持局部活性糖皮质激素浓度, 在新陈代谢活跃组织中糖皮质激素与胰岛素功能对抗。

[0006] 国外学者用转基因小鼠研究得出数据显示 11b-HSD1^{-/-} 小鼠细胞内糖皮质激素被损伤, 它不再与胰岛素抵抗 (Erika Harno 等, Trends in Endocrinology&Metabolism, 2010, 21, 619)

[0007] 因此 11b-HSD1 抑制剂的研究备受国内外学者的重视, 11b-HSD1 抑制作用对糖尿病者的胰岛素敏感性具有积极影响。因为大多数 2 型糖尿病患者都是肥胖者, 其内脏脂肪肥大并且 11b-HSD1 高表达, 抑制剂或者 11b-HSD1 能够改善糖血症。与非特异性抑制剂 11 β -HSD 对比, 肾 11b-HSD2 抑制剂能够引起高血压和低血钾症, 鼠类选择性抑制剂 11b-HSD1 (BVT. 2733) 显示在自发性地高血糖症 KKAy 小鼠中能够降低肝磷酸烯酮式丙酮酸羧激酶 PEPCK 和葡萄糖-6-磷酸酶 mRNA 表达, 同时降低血糖和血清胰岛素浓度 (Malgorzata Wamil 等, Drug Discovery Today, 2007, 12, 504)。11b-HSD1 人选择性抑制剂已经合成 (Barf T 等, J Med Chem, 2002, 45, 3813), 11b-HSD1 选择性抑制剂能够对胰岛素抵抗或者 2 型糖尿病肥胖患者有益处。因为在这些失调状态, 11b-HSD1 表达以组织特异性方式反常调控, 在脂肪组织高表达, 但在肝脏中低活性, 11b-HSD1 选择性抑制剂的临床作用能随着它们在脂肪组织和肝脏组织中局部浓度变化而改变。除了在新陈代谢活跃的组织有影响, 我们期盼 HPA axis 中 11b-HSD1 诱导改变, 因为中枢神经系统 11b-HSD1 的抑制作用破坏下丘脑垂体肾上腺负反馈。11b-HSD1 对于大脑中糖皮质激素活性很重要, 并且调控 HPA 轴。因此下丘脑 11 β -HSD1 的抑制剂能够通过降低局部的皮质醇浓度麻痹负反馈调控, 并且导致肾上腺分泌糖皮质激素增多。为了避免 11b-HSD1 特殊抑制剂对下丘脑的干预, 这些药物应该不能穿过血脑屏障。另一方面, 中枢神经系统中的 11b-HSD1 的抑制作用能够保护大脑避免收到老化时糖皮质激素的负面影响 (Adam J. Rose 等, The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2010, 122, 10)。因此 11b-HSD1 抑制剂, 将会有望成为未来有趣的新型的药物, 甚至不仅仅局限于治疗肥胖和 2 型糖尿病。

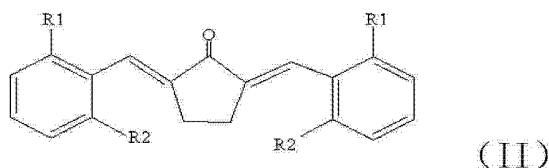
[0008] (2E, 5E)-2, 5-双亚苺基环戊酮是主链为不饱和脂族及侧链芳香族基团。需要开发具有更好的抑制 11b-HSD1 酶活性的 (2E, 5E)-2, 5-双亚苺基环戊酮衍生物类, 为日后开发预防和治疗结糖尿病的药物提供实验和临床基础。

发明内容

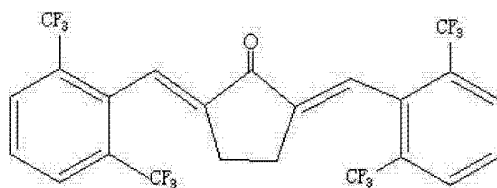
[0009] 本发明的目的是提供一种具有抑制 1 型 11 β -羟基类固醇脱氢酶的活性的 (2E, 5E)-2, 5-双亚苺基环戊酮类似物。为实现上述目的, 本发明采用如下技术方案:

[0010] 一种 (2E, 5E)-2, 5-双亚苺基环戊酮类似物, 包括具有通式 II 所示结构的化合物及其药学上可接受的盐:

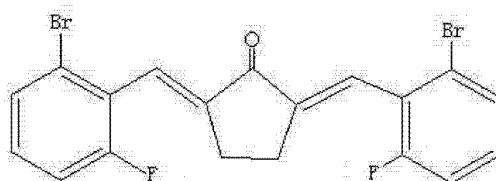
[0011]



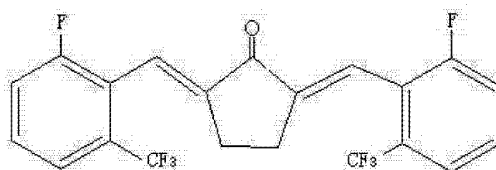
- [0012] 其中： R_1 和 R_2 各自独立选自 H、Br、 CF_3 或者 F；
- [0013] 优选，所述的 R_1 和 R_2 各自独立选自 Br、 CF_3 或 F。
- [0014] 更优选所述的 R_1 为 Br、 CF_3 或 F， R_2 为 CF_3 或 F，具体结构式为：
- [0015]



CYH02



CYH04



[0016]

CYH08

[0017] 本发明所述的药学上可接受的盐包括与无机酸形成的盐、与有机酸形成的盐以及由元素阴离子或阳离子形成的盐；优选所述的无机酸为盐酸、硫酸或磷酸；所述的有机酸为乙酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸或草酸；所述的元素阴离子为氯、溴或碘；所述的元素阳离子包括钾、钠、钙或镁。

[0018] 本发明的另一目的在于提供上述 (2E, 5E)-2, 5-双亚苄基环戊酮类似物的制备方法，为实现上述目的，本发明采用如下技术方案：

[0019] 上述 (2E, 5E)-2, 5-双亚苄基环戊酮类衍生化合物的制备方法，具体为：环戊酮和卤代苯甲醛在溶剂中，以氢氧化钾或甲醇钠为催化剂，加热回流 0.3-3h 进行反应，反应温度为 20℃-80℃，分离及纯化产物得到目标化合物；优选反应时间为 1h-1.5h，反应温度为 45℃-55℃。

[0020] 本发明所述的制备方法中，所述的卤代苯甲醛为 2, 6-三氟甲基苯甲醛、2-溴-6-氟苯甲醛、2-氟-6-三氟甲基苯甲醛、邻氯苯甲醛、2, 6-二氯苯甲醛或 2-三氟甲基苯甲醛，优选所述的卤代苯甲醛为 2, 6-三氟甲基苯甲醛或 2-溴-6-氟苯甲醛。

[0021] 本发明所述的制备方法中，所述的溶剂为乙醇或甲醇；优选所述的溶剂为乙醇。所

述溶剂的体积用量为反应物总质量的 3-5 倍,其中体积单位为 ml,质量单位为 g,如当丙酮与卤代苯甲醛的总质量为 0.5g,溶剂的用量应当为 1.5-2.5ml。

[0022] 本发明所述的制备方法中,所述环戊酮与卤代苯甲醛的摩尔用量比为 3:1-2:1,所述催化剂的质量用量为环戊酮与卤代苯甲醛总质量的 10%-30%,优选环戊酮与卤代苯甲醛的摩尔用量比为 2.2:1,所述催化剂的质量用量为环戊酮与卤代苯甲醛总质量的 20%。

[0023] 本发明所述的制备方法中,所述的氢氧化钾为质量浓度为 5% 的氢氧化钾水溶液,所述的甲醇钠为质量浓度为 0.5% 的甲醇钠甲醇溶液。

[0024] 上述反应结束后,体系中有大量沉淀产生,将其冷至室温,减压抽滤,滤物用少量乙醇冲洗多次,干燥后经硅胶柱层析进行分离纯化,所得产品真空干燥,得到目标产物。本发明对反应结束后产物的分离及纯化不作特定限定,现有技术公开的多种分离和纯化方法都可以用于实现本发明,本领域技术人员可以对此进行选择合理。

[0025] 此外,本发明进一步要求保护上述 (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物在制备预防及治疗人类糖尿病药物中的应用。

[0026] 以及,本发明要求保护含有上述 (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物的药物组合物。

[0027] 本发明所述的组合物可含有 0.1%-99% 本发明 (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物,其余为药物学上可接受的,对人和动物无毒和惰性的可药用载体或者赋形剂。可药用载体或赋形剂是一种或者多种固体、半固体、液体稀释剂、填料以及药物制品。具体药用载体或赋形剂的选择及制剂的制备为本领域技术人员所掌握,本发明对此不作特别限定。本发明的所述的药物组合物以单位体重服务量的形式使用,可以经多种形式,例如口服、直肠舌下、静脉或者透皮给药,但优选口服给药。

[0028] 本发明所述的药物组合物,优选为片剂,所述片剂中,主药与辅料的质量比为 4:1-6:5,优选 5:1。具体处方可为:(2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物 70-85 份,填充剂 10-18 份,润滑剂 0.5-1 份,崩解剂 0.5-2 份。

[0029] 作为本发明片剂的最佳实施方式,具体处方采用:(2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物 83.4%,微晶纤维素(填充剂) 15%,硬脂酸镁(润滑剂) 0.6%,羧甲基淀粉钠(崩解剂) 1%。具体的制备方法可参见现有技术。由于该处方科学合理,辅料之间具有理想的协同作用,所得片剂的稳定性高,药效尤为显著。

[0030] 采用上述技术方案,本发明具有如下有益效果:

[0031] 临床使用方便,易于接受,不仅药物用量准确,同时增加了药物的稳定性,还可减少毒副作用,也便于药物的贮存、运输和携带。

具体实施方式

[0032] 以下实施例用于说明本发明,但不用来限制本发明的范围。若未特别指明,实施例中所用的技术手段为本领域技术人员所熟知的常规手段,所用原料均为市售商品。

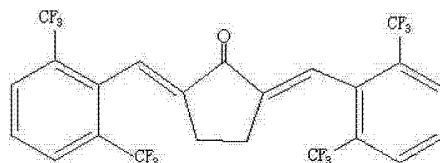
[0033] 实施例 1 (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物的制备及其鉴定

[0034] 化合物:

[0035] (2E,5E)-2,5-Bis[2,6-(trifluoromethyl)benzylidene]cyclopentanone (CYH02)

[0036] 结构式：

[0037]



[0038] 制备方法：

[0039] 将 0.5g 2,6-三氟甲基苯甲醛和环戊酮(醛和酮的摩尔比 2.2:1)溶于 2ml 乙醇中, 常温搅拌, 注射器滴加 2.5ml, 5% 的氢氧化钾水溶液, 50℃ 下反应 0.5h 至 1h, 体系中有大量沉淀产生, 冷至室温, 减压抽滤, 滤物用少量乙醇冲洗多次, 干燥后经硅胶柱层析进行分离纯化, 所得产品真空干燥, 得到目标产物 CYH02。

[0040] (2E, 5E)-2,5-Bis[2,6-(trifluoromethyl)benzylidene]cyclopentanone (CYH02): 黄色化合物, 收率为 68.5%, 纯度为 99.5%。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.51(s, 2H), 7.39-7.29(m, 2H), 6.95(t, J=8.1Hz, 4H), 2.79-2.71(m, 2H)。¹³C NMR(101MHz, CDCl₃) δ 194.41, 162.00(d, J=7.3Hz), 159.49(d, J=7.4Hz), 143.29, 130.69(t, J=10.5Hz), 120.91, 113.34(t, J=18.8Hz), 111.65(d, J=6.0Hz), 111.45(d, J=6.0Hz), 26.36(t, J=5.5Hz). Purity: 98.9% by HPLC. HRMS(ESI): calcd for (M+Na)⁺ (C₁₉H₁₂F₄O) 355.0716, found 355.0718.

[0041] 实施例 2

[0042] 与实施例 1 相比, 区别点仅在于: 将 0.5g 2,6-三氟甲基苯甲醛和环戊酮(醛和酮的摩尔比 2:1)溶于 1.5ml 乙醇中, 常温搅拌, 注射器滴加 3ml 的含有 0.5% 甲醇钠的甲醇溶液, 40℃ 下反应 0.3h 至 0.5h, 体系中有大量沉淀产生, 冷至室温, 减压抽滤, 滤物用少量乙醇冲洗多次, 干燥后经硅胶柱层析进行分离纯化, 所得产品真空干燥, 得到目标产物 CYH02。

[0043] (2E, 5E)-2,5-Bis[2,6-(trifluoromethyl)benzylidene]cyclopentanone (CYH02): 黄色化合物, 收率为 55.8%, 纯度为 97.6%。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.51(s, 2H), 7.39-7.29(m, 2H), 6.95(t, J=8.1Hz, 4H), 2.79-2.71(m, 2H)。¹³C NMR(101MHz, CDCl₃) δ 194.41, 162.00(d, J=7.3Hz), 159.49(d, J=7.4Hz), 143.29, 130.69(t, J=10.5Hz), 120.91, 113.34(t, J=18.8Hz), 111.65(d, J=6.0Hz), 111.45(d, J=6.0Hz), 26.36(t, J=5.5Hz). Purity: 98.9% by HPLC. HRMS(ESI): calcd for (M+Na)⁺ (C₁₉H₁₂F₄O) 355.0716, found 355.0718.

[0044] 实施例 3

[0045] 与实施例 1 相比, 区别点仅在于: 将 0.5g 2,6-三氟甲基苯甲醛和环戊酮(醛和酮的摩尔比 3:1)溶于 2.5ml 乙醇中, 常温搅拌, 注射器滴加 3ml 的含有 0.5% 甲醇钠的甲醇溶液, 80℃ 下反应 1.5h 至 2h, 体系中有大量沉淀产生, 冷至室温, 减压抽滤, 滤物用少量乙醇冲洗多次, 干燥后经硅胶柱层析进行分离纯化, 所得产品真空干燥, 得到目标产物 CYH02。

[0046] (2E, 5E)-2,5-Bis[2,6-(trifluoromethyl)benzylidene]cyclopentanone (CYH02): 黄色化合物, 收率为 53.5%, 纯度为 95.9%。¹H NMR(400MHz, CDCl₃)

δ 7.51 (s, 2H), 7.39 – 7.29 (m, 2H), 6.95 (t, J=8.1Hz, 4H), 2.79 – 2.71 (m, 2H). ^{13}C NMR (101MHz, CDCl_3) δ 194.41, 162.00 (d, J=7.3Hz), 159.49 (d, J=7.4Hz), 143.29, 130.69 (t, J=10.5Hz), 120.91, 113.34 (t, J=18.8Hz), 111.65 (d, J=6.0Hz), 111.45 (d, J=6.0Hz), 26.36 (t, J=5.5Hz). Purity: 98.9% by HPLC. HRMS (ESI): calcd for (M+Na)⁺ (C₁₉H₁₂F₄O) 355.0716, found 355.0718.

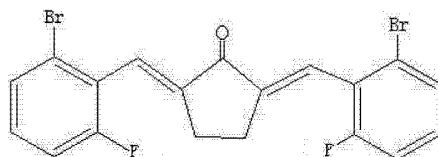
[0047] 实施例 4 (2E, 5E)-2, 5-双亚苄基环戊酮类似物的制备及其鉴定

[0048] 化合物:

[0049] (2E, 5E)-2, 5-bis(2-bromo-6-fluorobenzylidene)cyclopentanone (CYH04)

[0050] 结构式:

[0051]



[0052] 制备方法:

[0053] 将 0.5g 2-溴-6-氟苯甲醛和环戊酮(醛和酮的摩尔比 2.2:1)溶于 2ml 乙醇中, 常温搅拌, 注射器滴加 2.5ml, 5% 的氢氧化钾水溶液, 50℃ 下反应 0.5h 至 1h, 体系中有大量沉淀产生, 冷至室温, 减压抽滤, 滤物用少量乙醇冲洗多次, 干燥后经硅胶柱层析进行分离纯化, 所得产品真空干燥, 得到目标产物 CYH04。

[0054] (2E, 5E)-2, 5-bis(2-bromo-6-fluorobenzylidene)cyclopentanone (CYH04): 黄色化合物, 收率为 64.9%, 纯度为 99.7%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.50 – 7.39 (m, 4H), 7.24 – 7.18 (m, 2H), 7.09 (t, J=8.8Hz, 2H), 2.76 – 2.58 (m, 4H). ^{13}C NMR (101MHz, CDCl_3) δ 194.29, 159.87 (d, J=253.7Hz), 143.11, 130.75 (d, J=9.4Hz), 128.63 (d, J=3.3Hz), 126.93, 125.38 (d, J=4.2Hz), 124.79 (d, J=18.3Hz), 115.10 (d, J=23.1Hz), 25.98 (d, J=8.1Hz). Purity: 98.8% by HPLC. HRMS (ESI): calcd for (M+Na)⁺ (C₁₉H₁₂Br₂F₂O) 474.9115, found 474.9089.

[0055] 实施例 5

[0056] 与实施例 4 相比, 区别点仅在于: 将 0.5g 2-溴-6-氟苯甲醛和环戊酮(醛和酮的摩尔比 2.5:1)溶于 2ml 甲醇中, 常温搅拌, 注射器滴加 2ml, 5% 的氢氧化钾水溶液, 55℃ 下反应 2.5h 至 3h, 体系中有大量沉淀产生, 冷至室温, 减压抽滤, 滤物用少量乙醇冲洗多次, 干燥后经硅胶柱层析进行分离纯化, 所得产品真空干燥, 得到目标产物 CYH04。

[0057] (2E, 5E)-2, 5-bis(2-bromo-6-fluorobenzylidene)cyclopentanone (CYH04): 黄色化合物, 收率为 69.8%, 纯度为 99.7%。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.50 – 7.39 (m, 4H), 7.24 – 7.18 (m, 2H), 7.09 (t, J=8.8Hz, 2H), 2.76 – 2.58 (m, 4H). ^{13}C NMR (101MHz, CDCl_3) δ 194.29, 159.87 (d, J=253.7Hz), 143.11, 130.75 (d, J=9.4Hz), 128.63 (d, J=3.3Hz), 126.93, 125.38 (d, J=4.2Hz), 124.79 (d, J=18.3Hz), 115.10 (d, J=23.1Hz), 25.98 (d, J=8.1Hz). Purity: 98.8% by HPLC. HRMS (ESI): calcd for (M+Na)⁺ (C₁₉H₁₂Br₂F₂O) 474.9115, found 474.9089.

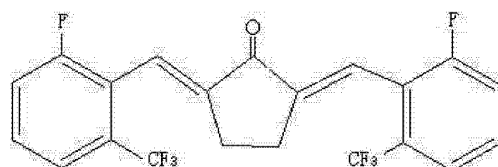
[0058] 实施例 6 (2E, 5E)-2, 5-双亚苄基环戊酮类似物的制备及其鉴定

[0059] 化合物:

[0060] (2E, 5E)-2, 5-bis[2-fluoro-6-(trifluoromethyl)benzylidene]cyclopentanone (CYH08)

[0061] 结构式：

[0062]



[0063] 制备方法：

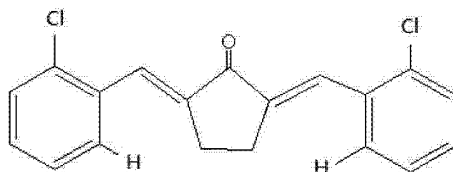
[0064] 将 0.5g 2-氟-6-三氟甲基苯甲醛和环戊酮(醛和酮的摩尔比 2.2:1)溶于 2ml 乙醇中, 常温搅拌, 注射器滴加 2.5ml, 5% 的氢氧化钾水溶液, 50℃ 下反应 0.5h 至 1h, 体系中有大量沉淀产生, 冷至室温, 减压抽滤, 滤物用少量乙醇冲洗多次, 干燥后经硅胶柱层析进行分离纯化, 所得产品真空干燥, 得到目标产物 CYH08。

[0065] (2E, 5E)-2, 5-bis[2-fluoro-6-(trifluoromethyl)benzylidene]cyclopentanone (CYH08): 黄色化合物, 收率为 66.3%, 纯度为 99.1%。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.61 – 7.50 (m, 1H), 7.50 – 7.42 (m, 1H), 7.33 (t, J=8.8Hz, 1H), 2.66 – 2.55 (m, 4H)。¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ 193.46, 160.92, 158.43, 144.14, 131.06 (m,), 130.00 (d, J=9.1Hz), 123.38, 122.61 (m), 122.19 (m), 119.77 (d, J=23.9Hz,), 25.51 (d, J=7.0 Hz)。Purity: 99.6% by HPLC. HRMS (ESI): calcd for (M+Na)⁺ (C₂₂H₁₁F₈O) 455.0653, found 455.0664

[0066] 实施例 7

[0067] 与实施例 1 相比, 区别点仅在于, 本实施例以邻氯苯甲醛替换实施例 1 中的 2, 6-三氟甲基苯甲醛, 得到以下结构的 (2E, 5E)-2, 5-双亚苄基环戊酮类似物, 其中, 产物的收率为 69.2%, 纯度为 98.9%。

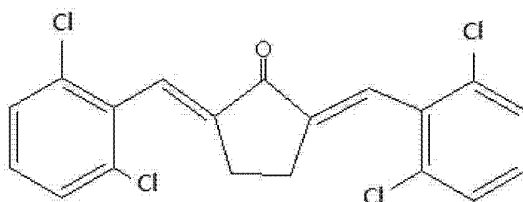
[0068]



[0069] 实施例 8

[0070] 与实施例 1 相比, 区别点仅在于, 本实施例以 2, 6-二氯苯甲醛替换实施例 1 中的 2, 6-三氟甲基苯甲醛, 分别得到以下结构的 (2E, 5E)-2, 5-双亚苄基环戊酮类似物, 其中, 产物的收率为 70.0%, 纯度为 99.2%。

[0071]



[0072] 实施例 9

如盐酸、硫酸、磷酸等；有机酸、草酸等处理，以及由元素阴离子形成的盐，如氯、溴、碘。形成盐的阳离子包括钾、钠、钙、镁等。具体的制备处理方法为本领域技术人员所理解和掌握，本发明对此不作特别限定。

[0073] 实施例 10 药物组合物

[0074] 取实施例 1 得到的化合物 CYH02，按照其与赋形剂重量比为 5:1 的比例加入赋形剂（请补充赋形剂的可用形式及其具体种类、用量，如润滑剂、填充剂等），主药 83.4%，微晶纤维素（填充剂）15%，硬脂酸镁（润滑剂）0.6%，羧甲基淀粉钠（崩解剂）1%，制粒压片。

[0075] 实施例 11 药物组合物

[0076] 取实施例 4 的方法制的化合物 CYH04，然后分别按常规注射液制法加入注射用水、精滤灌装灭菌后制成注射液。主药浓度为 1%。

[0077] 实施例 12 药物组合物

[0078] 取实施例 6 得到的化合物 CYH08，按照其与赋形剂重量比为 5:1 的比例加入赋形剂，主药 83.4%，微晶纤维素（填充剂）15%，硬脂酸镁（润滑剂）0.6%，羧甲基淀粉钠（崩解剂）1%，制粒压片。

[0079] 实施例 13 药物组合物

[0080] 与实施例 12 相比，区别点仅在于本实施例具体处方为：实施例 4 的方法制的化合物 CYH04 为 70g，填充剂微晶纤维素 10g，润滑剂硬脂酸镁 0.5g，崩解剂羧甲基淀粉钠 0.5g。

[0081] 实施例 14 药物组合物

[0082] 与实施例 12 相比，区别点仅在于本实施例具体处方为：实施例 1 得到的化合物 CYH02 为 85g，填充剂微晶纤维素 10g，润滑剂硬脂酸镁 0.5g，崩解剂羧甲基淀粉钠 0.5g。

[0083] 为了进一步验证本发明所述化合物的性能，发明人进一步以上述实施例制备的化合物展开了大量专项研究试验，篇幅所限，此处仅例举最具说服力的部分。

[0084] 试验例 1

[0085] (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物抑制大鼠睾丸和人肝微粒体 1 型 11 β -羟基甾体脱氢酶活性的检测

[0086] 1 型 11 β -羟基类固醇脱氢酶(11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type I, 11 β -HSD1) 是一种以烟酰胺腺嘌呤二核苷酸为辅酶的酶类，主要在肝脏、脂肪、脑以及睾丸等组织的微粒体中表达。含有 11 β -HSD1 微粒体可以按常规的方法制备(Brennan, J. 等, GenesDev, 2003. 17, 800)，也可以从试剂公司购买。按照已有的研究方法进行 11 β -HSD1 酶活性的检测(Haider, S. G. Int. Rev. Cytol., 2004, 233, 181)。简言之，首先标记反应管，每管加 40 μ g 大鼠睾丸和人肝微粒体蛋白和 10nM-0.1mM (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物（溶于二甲基苯砜，DMSO），然后加入 PBS 至 100 μ l。然后制备类固醇检测混合物：2 μ l [1, 2-³H] 可的松 (40,000cpm)，2 μ l 未标记的可的松 25 μ mol/L，1 μ l NADPH (50mmol/L) 以及 45 μ l PBS，振荡混合。取 50 μ l 类固醇检测混合物加入到反应管中，34℃ 培育 45min。用 1ml 预冷乙醚终止反应后，涡旋振荡 1min。然后将上清转移到 5ml 玻璃管内，氮气干燥并析出固体。加入 70 μ l 乙醚重溶固体，振荡 1min 后，在薄层层析板上点样，并将薄层层析板放入含有氯仿：甲醇（体积比 90:10）层析缸内 20min。最后，将薄层层析板放在扫描辐射仪检测 (System AR2000, Bioscan Inc., Washington, DC, USA) 上读取放射峰值，并计算类固醇的转化率，从而得到 11 β -HSD1 酶的转化活性。本实验以 DMSO 作为对照。

[0087] 实验结果表明,本发明实施例所制备的(2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物对大鼠睾丸微粒体 11β-HSD1 活性有抑制作用,其 IC₅₀ 为 673nM-1638nM;对人 11β-HSD1 活性,其 IC₅₀ 为 1064nM-152 μ M。更优选的是选用 CYH08。值得注意的是这些(2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物对大鼠和人 11b-HSD2 酶的活性基本没有抑制作用(详见试验例 2)。

[0088] 表 1 (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物对大鼠睾丸和人肝微粒体 11b-HSD1 酶活性的抑制作用

[0089]

化合物	大鼠睾丸微粒体	人肝微粒体
	(IC ₅₀ nM)	
CYH02	(1638) ^b	(11560) ^b
CYH04	(531) ^b	33% ^a
CYH08	(673) ^b	(1064) ^b
DMSO	2.3% ^a	0.9% ^a

[0090] ^a%inhibition at the100 μ M inhibitor.

[0091] ^b(IC50, nM).

[0092] 试验例 2

[0093] (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物抑制大鼠和人微粒体 II 型 11b-羟基甾体脱氢酶活性的检测

[0094] II 型 11b-羟基类固醇脱氢酶(11β-hydroxysteroid dehydrogenase type II, 11b-HSD2)是一种以烟酰胺腺嘌呤核苷酸为辅酶的酶类,主要在肾脏、胎盘等组织的微粒体中表达。含有 11b-HSD2 微粒体可以按常规的方法制备(Brennan, J. 等, Genes Dev, 2003. 17,800),也可以从试剂公司购买。按照已有的研究方法进行 11b-HSD2 酶活性的检测(Haider, S. G. Int. Rev. Cytol., 2004, 233,181)。简言之,首先标记反应管,每管加 40 μ g 大鼠和人微粒体蛋白和 10nM-0.1mM (2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物(溶于二甲基苯砜, DMSO),然后加入 PBS 至 100 μ l。然后制备类固醇检测混合物:2 μ l [1, 2-³H] 皮质醇(40, 000cpm), 2 μ l 未标记的皮质醇(25 μ mol/L), 1 μ l NAD⁺ (50mmol/L)以及 45 μ l PBS,振荡混合。取 50 μ l 类固醇检测混合物加入到反应管中, 37C 培育 45min。用 1ml 预冷乙醚终止反应后,涡旋振荡 1min。然后将上清转移到 5ml 玻璃管内,氮气干燥并析出固体。加入 70 μ l 乙醚重溶固体,振荡 1min 后,在薄层层析板上点样,并将薄层层析板放入含有氯仿:甲醇(体积比 90:10)层析缸内 20min。最后,将薄层层析板放在扫描辐射仪检测(System AR2000, Bioscan Inc., Washington, DC, USA)上读取放射峰值,并计算类固醇的转化率,从而得到 11b-HSD2 酶的转化活性。本实验以 DMSO 作为对照。

[0095] 实验结果表明,本发明所述(2E,5E)-2,5-双亚苄基环戊酮类似物对 11b-HSD2,其 IC50 为 >100 μ M。

[0096] 虽然,上文中已经用一般性说明及具体实施方案对本发明作了详尽的描述,但在本发明基础上,可以对之作一些修改或改进,这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此,在不偏离本发明精神的基础上所做的这些修改或改进,均属于本发明要求保护的范围。