[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02807367.3

[51] Int. Cl.
C07J 43/00 (2006.01)
C07J 41/00 (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01)
A61K 31/57 (2006.01)
A61P 15/08 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 8 月 22 日

[11] 授权公告号 CN 1332975C

[22] 申请日 2002.3.20 [21] 申请号 02807367.3
[30] 优先权
[32] 2001. 3.26 [33] EP [31] 01250108.6
[86] 国际申请 PCT/EP2002/003148 2002.3.20
[87] 国际公布 WO2002/079220 英 2002.10.10
[85] 进入国家阶段日期 2003.9.26
[73] 专利权人 舍林股份公司
地址 德国柏林
共同专利权人 诺沃挪第克公司
[72] 发明人 托尔斯滕·布卢默 彼得·埃斯珀林
克里斯塔·黑格勒 - 哈通
[56] 参考文献
WO9958549A 1999.11.18
DE1930473A 1970.12.17
审查员 王 颖

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
代理人 过晓东

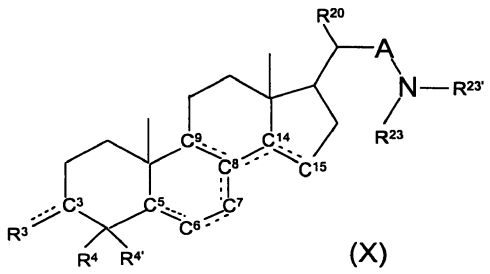
权利要求书 4 页 说明书 44 页 附图 12 页

[54] 发明名称

甾族化合物、该化合物在制备减数分裂调节药物中的应用以及制备这些化合物的方法

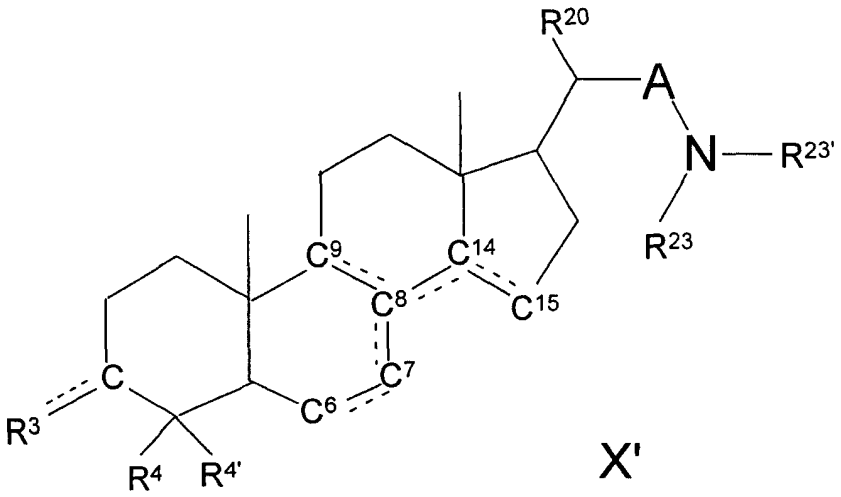
[57] 摘要

本发明涉及通式 X 的甾族化合物，其可有利地用于刺激人卵母细胞中的减数分裂。 该甾族化合物的特征是通过间隔基 A 键合在甾体骨架之 C^{17} 上的氨基氮。



(X)

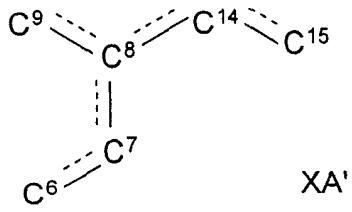
1、通式 X'的甾族化合物：



X'

式中：

在以下部分式 XA'中



XA'

双键存在于 8 和/或 14 位，

CR^3 是 CHOH；

R^4、$R^{4'}$和 R^{20} 相互独立地选自于以下组中：氢以及直链或支链 C_{1-4} 烷基；

R^{23} 和 $R^{23'}$一起形成未取代的或任选地被 C_{1-10} 烷基、C_{6-10} 芳基、C_{1-10} 烷氧基、C_{1-10} 酰基、或 C_{6-10} 杂芳基取代的

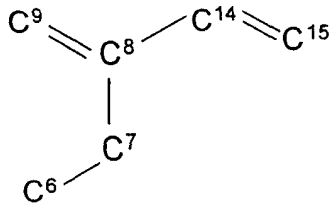
a) 直链或支链 C_{1-7} 亚烷基间隔基，或者

b) 直链或支链 C_{1-7} 亚烷基间隔基，该亚烷基碳原子中至少有一个被

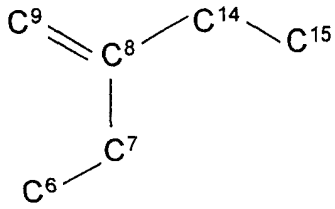
O 和 N 中的任一个取代，

A 是亚甲基或亚乙基间隔基。

2、如权利要求 1 所述的甾族化合物，其中部分式 XA'是以下通式之一：



XA1'



XA2'

。

3、如权利要求 1 或 2 所述的甾族化合物，其中 R^4 和 $R^{4'}$ 相互独立地是氢或甲基。

4、如权利要求 1 或 2 所述的甾族化合物，其中 R^{20} 是甲基。

5、如权利要求 1 或 2 所述的甾族化合物，其中 R^{23} 和 $R^{23'}$ 与氨基氮原子一起形成含氮的杂环结构，该杂环结构选自以下组中：哌啶-1-基、吗啉-4-基、哌嗪-1-基、吡咯烷-1-基、吡啶-1-基、以及嘧啶-1-基。

6、如权利要求 1 或 2 所述的甾族化合物，其中 A 是亚甲基。

7、如权利要求 1 所述的甾族化合物，其选自于以下组中：

(20S)-20-[(3,3-二甲基哌啶-1-基)甲基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(哌啶-1-基)甲基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(4-苯基哌嗪-1-基)甲基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(吗啉-4-基)甲基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(4-(嘧啶-2-基)哌嗪-1-基)甲基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(吡咯烷-1-基)甲基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(4-(吡啶-2-基)哌嗪-1-基)乙基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(4-苯基哌嗪-1-基)乙基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(吗啉-4-基)乙基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(吡咯烷-1-基)乙基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇

(20S)-20-[(哌啶-1-基)乙基]-4,4-二甲基-5α-孕-8,14-二烯-3β-醇。

8、一种药物组合物，其包含至少一种如权利要求 1-7 之一所述的通式 X 的甾族化合物以及至少一种药物学上可接受的赋形剂。

9、如权利要求 8 所述的药物组合物，其中该组合物包含有效量的通式 X 的甾族化合物。

10、如权利要求 1-7 之一所述的通式 X 的甾族化合物在制备用于调节生殖的药物组合物中的应用。

11、如权利要求 10 所述的应用，其中所述组合物用于调节减数分裂。

12、如权利要求 10 所述的应用，其是用于非活体内使用。

13、如权利要求 1-7 之一所述的通式 X 的甾族化合物在制备避孕药或者促生育药中的应用。

14、提高卵母细胞能够发育成哺乳动物的可能性的方法，其包括使由哺乳动物中取出的卵母细胞与如权利要求 1-7 之一所述的通式 X 的甾族化合物相接触。

15、制备如权利要求 1-7 之一所述的通式 X 的甾族化合物的方法，其中 R^4 和 $R^{4'}$ 是直链或支链 C_{1-4} 烷基，该方法包括：

a. 由(20S)-20-甲基-孕-8,14-二烯-3β，21-二醇起始，

b. 在 C^{21} 位进行亲核取代，

c. 用氰化物取代 C^{21} 位处的亲核基团，在 C^{21} 处形成新的碳-碳键，

d. 还原所形成的腈，得到醛，

e. 还原性胺化腈，形成各种胺。

16、制备如权利要求 1-7 之一所述的通式 X 的甾族化合物的方法，其中 R^4 和 $R^{4'}$ 是直链或支链 C_{1-4} 烷基，该方法包括：

a. 由(20S)-20-羟甲基-孕-4-烯-3-酮起始，

b. 通过烷基化作用在 4 位引入两个烷基，

c. 将酮基还原为羟基，

d. 通过溴化/脱溴化氢作用引入 $\triangle^7$ 双键，

e. 在有酸存在下进行加热，由此将二烯 $\triangle^{5,7}$ 异构化为二烯 $\triangle^{8,14}$，

f. 将 17-羟基氧化为醛基，然后

g. 还原性胺化醛基。

甾族化合物、该化合物在制备减数分裂调节药物中的应用以及制备这些化合物的方法

技术领域

本发明涉及药物学活性的甾族化合物、包含这些化合物的药物组合物，这些化合物在制备适用于调节生殖（特别是减数分裂）的药物组合物、避孕药或者促生育药物（profertility drug）中的应用，调节生殖（如减数分裂）的方法，提高卵母细胞发育成哺乳动物的可能性的方法，以及制备这些新甾族化合物的方法。

背景技术

减数分裂是生殖细胞的独特而且是最终的过程，而有性繁殖是以这些生殖细胞为基础的。减数分裂包括两个减数分裂过程。在第一个分裂过程中，先进行母体基因与父体基因之间的交换，然后染色体对分裂成两个子细胞。它们仅包含染色体和 2c DNA 数量（1n）的一半。第二个减数分裂过程不涉及 DNA 合成。因此，该分裂过程导致仅有 1c DNA 的单倍生殖细胞形成。

减数分裂过程在雄和雌生殖细胞中是类似的，但是时间程序以及导致卵子及精子形成的分化过程有非常大的差异。在生命的早期，通常在出生之前，所有的雌生殖细胞都进入第一个减数分裂过程的前期，但所有的细胞随后在该前期中都以卵母细胞的形式停止（dictyate 状态），直至青春期后排卵。这样，从生命的早期，雌性就已具有卵母细胞储备，并用至该储备耗尽。雌性中的减数分裂在受精后才完成，而且每个生殖细胞仅产生一个卵子和两个流产极体。相反地，雄性生殖细胞中的一些

仅从青春期开始进入减数分裂，并在整个生命过程中形成生殖细胞群。一旦开始，雄性细胞中的减数分裂将没有任何延迟地进行，并产生 4 个精子。

对于控制雄性和雌性中减数分裂启动的机理仅知道很少。新的研究表明卵泡嘌呤、次黄嘌呤或腺嘌呤有可能是卵母细胞中减数分裂停止的原因（Downs, S. M.等人，*Dev Biol* 82 (1985) 454-458；Epplg. J. J.等人，*Dev Biol* 119 (1986) 313-321；以及 Downs, S. M.，*Mol Reprod Dev* 35 (1993) 82-94）。Byskov 等人首次描述了在胚胎鼠性腺的培养体系中存在扩散性减数分裂调节物质（Byskov, A. G.等人，*Dev Biol* 52 (1976) 193-200）。减数分裂活化物质（MAS）是由其中进行减数分裂的胚胎鼠卵巢分泌的，而防止减数分裂的物质（MPS）是由具有休止且非减数分裂的生殖细胞的、已发生形态分化的睾丸释放的。这表明 MAS 和 MPS 的相对浓度调节雄性和雌性生殖细胞中减数分裂的开始、停止和重新开始（Byskov, A. G.等人，在 The Physiology of Reproduction [Knobil, E.和 Neil, J. D.编辑] 中，Raven Press, New York (1994)）。已清楚地知道，如果可以调节减数分裂，则可控制繁殖。最近的一篇文章（Byskov, A. G.等人，Nature 374 (1995), 559-562）描述到可从牛睾丸和人卵母细胞液中分裂出某些活化卵母细胞减数分裂的甾醇[T－MAS（睾丸减数分裂活化甾醇）和 FF－MAS（卵泡液减数分裂活化甾醇）：4，4－二甲基－5α－胆甾－8，14，24－三烯－3β－醇]。

还表明微摩尔浓度的合成 FF-MAS 能够以剂量依赖型的方式在大鼠卵母细胞中诱使减数分裂重新开始，而该大鼠卵母细胞已用磷酸二酯酶抑制剂 IBMX（3－异丁基－1－甲基黄嘌呤）使减数分裂停止（C. Hegele-Hartung 等人，*Biol. Reprod.*, 64, 418-424 (2001)）。这说明当 CEO（卵丘包封的卵母细胞，cumulus-enclosed oocytes）和 DO（裸露的卵母细胞，denuded oocytes）与 FF-MAS 一起进行体外培养时可观察到该作

用。

在 WO 96/00235 A1、WO 96/27658 A1、WO 97/00884 A1、WO 98/28323 A1、WO 98/52965 A1、WO 99/58549 A1 和 WO 00/68245 A1 中描述了可调节减数分裂的其他物质。

在 WO 98/52965A1 中描述了活化减数分裂的 20－芳烷基－5α－孕烷衍生物。

在 WO 00/68245 A1 中披露了能够抑制减数分裂的甾族化合物，因此这些化合物可在男性和女性中用作避孕药。这些化合物主要是不饱和的胆甾烷衍生物，其特征是 3β－氢原子键合在胆甾烷骨架的 C^{14} 碳原子上。

在 WO 96/00235 A1 中描述了诱发减数分裂的甾醇，其已知是生物合成胆甾醇中的中间体，以及某些结构相关的合成甾醇。已发现这些物质可调节减数分裂。与胆甾醇类似，这些甾醇在甾醇骨架的 C^{17} 上有一侧链，而且具有至少一个$\triangle^{7}$、$\triangle^{8}$、或$\triangle^{8(14)}$双键。

在 WO 96/27658 A1 中公开了刺激生殖细胞之减数分裂的方法，其包括体内（*in vivo*）、体外（*ex vivo*）或者试管内（*in vitro*）向细胞给药有效量的化合物，该化合物导致内原性减数分裂活化物质累积至可诱发减数分裂的水平。据公开，此等可导致减数分裂活化物质累积的化合物是两性霉素 B、氨基胍、3β，5α，6β－三羟基胆甾烷、褪黑激素、6－氯褪黑激素和 5－甲氧基色胺以及它们其他的衍生物和激动剂。据报道，减数分裂活化物质还可以是 5α－胆甾烷－3β－醇、D－高－胆甾－8，14－二烯－3β－醇和 22，25－二氮杂胆甾醇、25－氮杂－24，25－二氢羊毛固醇、24，25－亚氨基羊毛固醇、23－和 24－氮杂胆甾醇以及 25－氮杂胆甾烷醇衍生物。

在 WO 97/00884 A1 和 WO 98/28323 A1 中描述了可用于试管内、体内或者体外刺激减数分裂的物质。所公开的化合物因此是天然减数分裂

活化物质的激动剂，而且由此可用于治疗由于雌性和雄性中减数分裂刺激不足而导致的不育症。在该文献中，还公开了一些可以是天然减数分裂活化物质的拮抗剂的化合物，因此这些化合物可用作避孕药。所公开的化合物包括 5α－胆甾－8－烯－3β－醇和 5α－胆甾－8，14－二烯－3β－醇，它们在键合于胆甾醇骨架的 C^{17} 上的侧链中可存在氨基，而且该氨基通过 C_4 间隔基键合在甾醇骨架上。在该氨基上键合有 C_{1-4} 烷基或者 C_{3-6} 环烷基。

另外，在 WO 99/58549 A1 中公开了可有效调节减数分裂的甾醇衍生物。这些化合物具有缓解雌性和雄性动物、特别是人的不育症的能力。可作为有效调节物质的甾醇衍生物特别是（20R）－20－甲基－23－二甲基氨基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇、（20R）－20－甲基－23－二甲基氨基－5α－孕－5，7－二烯－3β－醇、4，4－二甲基－24－苯基氨基－5α－胆甾－8，14－二烯－3β－醇、4，4－二甲基－24－（N，N－二甲基氨基）－24－氰基－5α－胆甾－8，14－二烯－3β－醇、以及在甾醇骨架中具有一个或者多个双键的甾醇的各种 24－酸酰胺。

在 C^{17} 处的侧链中具有氨基的不饱和甾醇衍生物已描述在 J. J. Sheets 和 L. E. Vickery 的以下文献中：Active Site-directed Inhibitors of Cytochrome P-45scc, J. Biol. Chem., 第 258（19）卷，1983，第 11446－11452 页，公开了这些甾醇对牛腺皮质胆甾醇侧链裂解细胞色素 P-450（P-450scc）的作用。在该文献中，特别是公开了 22－氨基－23，24－双降－胆－5－烯－3β－醇和 23－氨基－24－去甲胆－5－烯－3β－醇。

还有人报道了在 C^{17} 处的侧链中具有氨基的其他不饱和衍生物：A. T. Mangla 和 W. D. Nes, Sterol C-methyl Transferase from *Prototheca wickerhamii*, Mechanism, Sterol Specificity and Inhibition, *Bioorg. And Med. Chem.* (2000), 8 (5), 925-96。在该文献中，具体公开了 23－氮杂－酵母甾

醇。

在使用上述的减数分裂调节化合物时发现，在裸露的卵母细胞中于试管内使减数分裂重新开始。但是，当刺激被粒细胞包围的卵母细胞（CEO＝卵丘包封的卵母细胞）时，这些化合物的有效性非常小。上述文献的公开内容在此并入作为参考。

发明内容

本发明的一个目的是发现可用于在雌性和雄性动物、特别是哺乳动物、尤其是人中调节生殖、特别是减数分裂的物质。

本发明的另一个目的是提供包括所述新物质的新药物组合物。

本发明的再一个优选目的是提供所述新物质在制备用于调节生殖、特别是减数分裂的药物组合物中的应用。

本发明的又一个优选目的是提供调节生殖如减数分裂的新方法。

本发明的另一个目的是提供治疗人生育力的方法。

本发明的再一个目的是提高人卵母细胞的成熟。

本发明的另一个目的是提高核、胞浆和/或膜卵母细胞的同步成熟。

本发明的又一个目的是提高卵母细胞的生育力。

本发明的又一个目的是提高试管内成熟和受精的人卵母细胞的植入率。

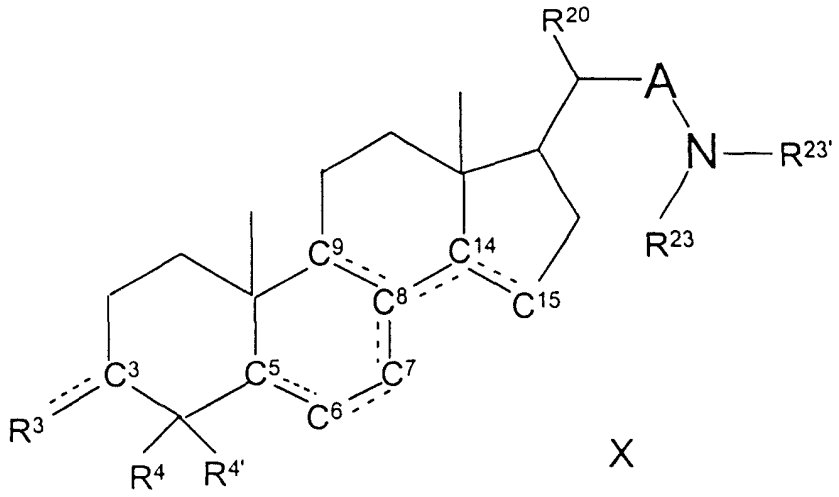
本发明的又一个目的是消除具有染色体异常（非整倍性）的人胚前期的发生率。

本发明的再一个目的是提高人胚前期的分裂率。

本发明的另一个目的是提高人胚前期的质量。

本发明的又一个目的是提供制备所述新化合物的方法。

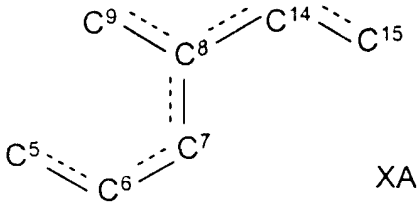
根据本发明，通式 X 的甾族化合物可有利地用于调节哺乳动物（如雌性和雄性）、特别是人的生殖（例如减数分裂）：



X

式中：

在以下部分式中



XA

在 C^5 和 C^6 之间、C^6 和 C^7 之间、C^7 和 C^8 之间、C^8 和 C^9 之间、C^8 和 C^{14} 之间、以及 C^{14} 和 C^{15} 之间的每个键可相互独立地是单键或双键，这些键中至少有一个是双键，而且每个碳原子 C^5、C^6、C^7、C^8、C^9、C^{14} 和 C^{15} 通过单键或者最多通过一个双键键合在相邻的 C 原子上，甾体骨架的所有其他碳原子之间是单键；

C^3R^3 是

a) C^3=O，或者

b) $C^3H-OR^{3'}$，其中 $R^{3'}$ 选自于以下组中：氢，未取代或者取代的、线性或者支链的 C_{1-10} 烷基以及通过 C(O)基团与 CH-O 连接的 $C^3(O)-R^{3''}$，其中 $R^{3''}$ 选自于以下组中：

i) 取代或未取代的、直链或支链 C_{1-10} 烷基；

ii) 取代或未取代的、直链或支链 C_{1-10} 氟烷基；

iii) 取代或未取代的 C_{6-10} 芳基；

iv) 取代或未取代的 C_{5-10} 杂芳基；

v) 取代或未取代的、直链或支链 C_{1-10} 烷氧基；以及

vi) 取代或未取代的、直链或支链 C_{1-10} 烷基氨基；或者

c) $C^3H-SO_2-R^{3''}$ 或 $C^3=NOR^{3''}$，其中 $R^{3''}$ 与上述定义相同，或者

d) $C^3H-O-R^{3'''}$，其中 $R^{3'''}$ 是未取代或取代的、直链或支链 C_{2-10} 亚烷基，并与甾体骨架的碳原子和氧原子形成环醚；或者

e) 带有 C^3 原子的环状结构，其中 R^3 是未取代或取代的、直链或支链 C_{2-10} 亚烷基；或者

f) C^3H－卤素，其中卤素是 F、Cl、Br 或 I，

R^4、$R^{4'}$ 和 R^{20} 相互独立地选自于以下组中：氢以及取代或未取代的、直链或支链 C_{1-4} 烷基；

R^{23} 和 $R^{23'}$ 相互独立地选自于以下组中：

a) 氢，

b) 取代或未取代的、直链或支链 C_{1-8} 烷基，

c) 取代或未取代的、直链或支链 C_{2-8} 烯基，

d) 取代或未取代的、直链或支链 C_{1-8} 烷基，该烷基碳原子中至少有一个被 O、N 和 S 中的任一个取代，

e) 取代或未取代的、直链或支链 C_{2-8} 烯基，该烯基碳原子中至少有一个被 O、N 和 S 中的任一个取代，以及

f) 取代或未取代的、直链或支链 C_{6-10} 芳基，

或者 R^{23} 和 $R^{23'}$ 一起形成

a) 取代或未取代的、直链或支链 C_{2-7} 亚烷基，特别是 C_{5-7} 亚烷基，

或者

b) 取代或未取代的、直链或支链 C_{2-7} 亚烷基，特别是 C_{5-7} 亚烷基，该亚烷基碳原子中至少有一个被 O、N 和 S 中的任一个取代，

A 是亚甲基或亚乙基，该基团可以是取代或未取代的亚甲基或亚乙基，在本发明的优选实施方案中，A 是亚甲基或亚乙基，

其条件是不包括以下化合物：(20R)－20－甲基－23－二甲基氨基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇和(20R)－20－甲基－23－二甲基氨基－5α－孕－5，7－二烯－3β－醇、23－氮杂－酵母甾醇、22－氨基－23，24－双降胆－5－烯－3β－醇、23－氨基－24－去甲胆－5－烯－3β－醇。

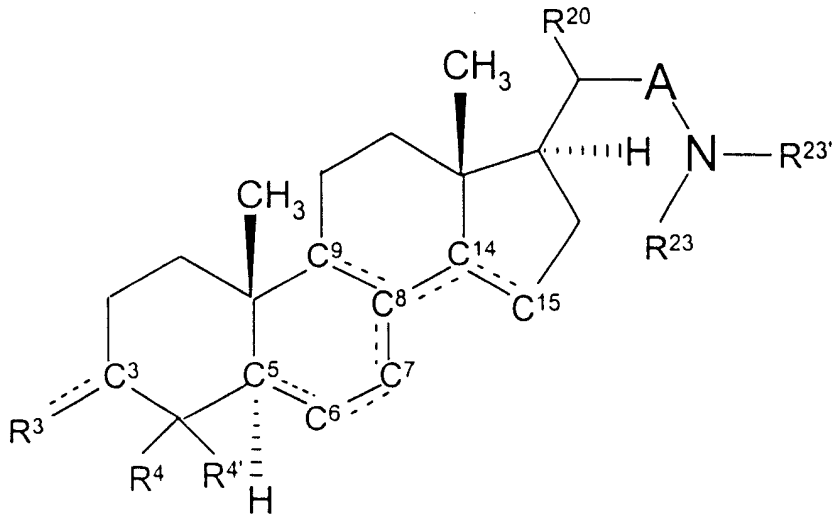
本发明优选涉及以下的甾族化合物，其中至少一个双键是分别在碳原子 C^6、C^7、C^8、C^9、C^{14} 和 C^{15} 之间存在于甾体骨架中。在本发明进一步优选的实施方案中，除了所述至少一个在碳原子 C^6、C^7、C^8、C^9、C^{14} 和 C^{15} 之间的双键外， 在 C^5 和 C^6 之间可存在一个双键。特别优选的甾体是，如果在甾体骨架中存在 1 个以上的双键，则这些双键是相互共扼的。

Cn 烷基、Cn 氟烷基、Cn 烷氧基、Cn 烷基氨基、Cn 环烷基、Cn 亚烷基、Cn 烯基、Cn 芳基、Cn 杂芳基等都涉及有 n 个碳原子的基团，n 个碳原子的数量包括例如支链基团的侧链中的所有碳原子。除非另有说明，烷基、烷氧基、烯基或酰基具有 1－10 个碳原子，如果这些基团是支链的，则包括侧链碳原子；烯基或炔基具有 2－10 个碳原子，如果这些基团是支链的，则包括侧链碳原子；环烷基具有 4－7 个碳原子；芳基具有 6－10 个碳原子；而杂环或者杂芳基具有 6－10 个环原子。另外，芳基也代表烷基芳基；杂芳基也代表烷基杂芳基；而且环烷基也代表烷

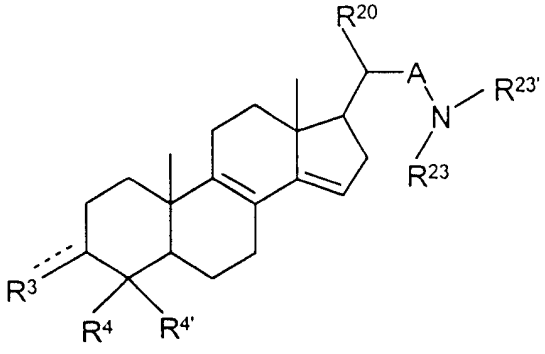
基环烷基。

本发明的新型甾族化合物具有多个手性中心，使得这些化合物可以多种立体异构体的形式存在。所有这些异构体形式也在本发明的范围之内，除非另有说明。

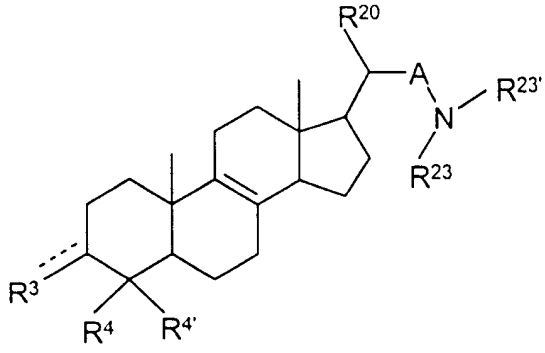
具有以下通式的甾族化合物是优选的：



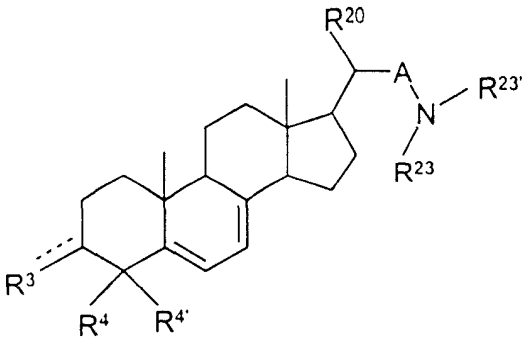
特别地，$\triangle^{5}$－孕烯衍生物、$\triangle^{8,14}$－孕二烯衍生物、$\triangle^{8}$－孕烯衍生物以及$\triangle^{5,7}$－孕二烯衍生物可用作用于调节生殖、如减数分裂的药物活性甾族化合物，即、具有以下通式的化合物：



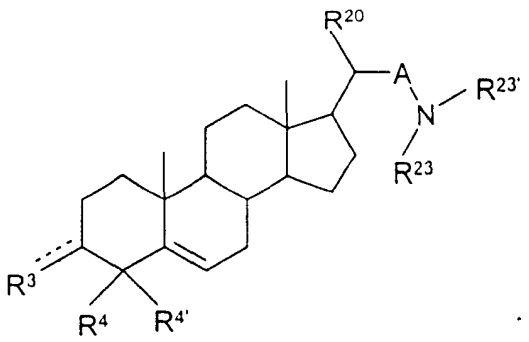
XB'



XB''



XB''''



XB''''

令人惊奇地发现，根据本发明的化合物在卵母细胞、特别是 CEO 中具有强的减数分裂刺激作用，虽然这些化合物在结构上与甾醇 FF-MAS 有很大的不同。在此方面，本发明的化合物优于已描述的减数分裂调节物质（例如：A. G. Byskov 等人，Nature, 374, 559-562 (1965)）。通式 X 优选的化合物是那些如实施例 23 所述在卵母细胞试验中进行测试时，诱发胚泡破碎至少 40%、优选至少 60%、特别优选至少 80%的化合物。

根据本发明的化合物在以下第二个方面优于上述描述的化合物：FF-MAS 不能在卵泡培养体系中诱发成熟，而本发明的化合物能够在条件下活化减数分裂。

为此原因，本发明的新型甾族化合物可例如在体内使用以及非体内使用，后者特别包括试管内使用。该甾族化合物特别适合于在试管内和体内使哺乳动物、特别是人受精。

该新化合物的优异性质有可能是由于通过 C_{2-3} 亚烷基间隔基（包括 $C^{20}-R^{20}$ 基团）连接至甾体骨架的 C^{17} 碳原子上的侧链中的氨基。

特别优选的化合物是，其中基团 C^3R^3 是 CH－OH，特别是连接在甾体骨架的 C^3 原子上的 3β－羟基。该基团还可以是 CH－O－C(O)－$R^{3'}$（＝CH－O－$R^{3'}$，其中 $R^{3'}$ 是 C(O)－$R^{3''}$），其中 $R^{3''}$ 如以上所定义。具体而言，R^3 可以是连接在甾体骨架的 C^3 原子上的单羧酸的酯基、二羧酸的酯基、无机酸的酯基或者任何其他酸的酯基。特别是在 R^3 为二羧酸的酯基时，$R^{3'}$ 可以是 $(CH_2)_n$－COOH，其中 n＝1、2、3、4、5 或 6。该酯基

也可由无机酸形成，例如磷酸、硫酸和氨基磺酸，或者由单羧酸形成，例如乙酸、丙酸、正丁酸、新戊酸、苯甲酸、烟酸和异烟酸。具体而言，该酯基可由二羧酸如琥珀酸或戊二酸形成。

根据本发明的其他甾族化合物也可包括其中 C－O－R^3 代表包括甾体骨架的 C^3 原子的环醚。

R^3 也可与 C^3 原子一起形成环结构，其中 R^3 是未取代或取代的、直链或支链 C_{2-10} 亚烷基。例如，C^3R^3 可以是环亚丙基、环亚丁基、环亚戊基、或者环亚己基。其也可代表不饱和的环结构，例如环亚丙烯基、环亚丁烯基、环亚戊烯基、和环亚己烯基。该环结构还可被卤素、羟基、烷氧基、芳氧基等取代。

根据本发明的物质还可有利地是以下化合物，其中 $R^{3''}$ 选自于以下组中：氟甲基、芳基、杂芳基和$(CH_2)_n$－COOH，其中 n＝1、2、3、4、5或 6，尤其是其中 $R^{3'}$（＝C(O)-$R^{3''}$）为乙酰基、丙酰基、戊酰基、丁酰基、苯甲酰基、烟酰基、异烟酰基、半戊二酰基、丁基氨甲酰基、苯基氨甲酰基、乙氧基羰基和叔丁氧基羰基的化合物。在一个特别优选的甾族化合物中，$R^{3'}$ 是半琥珀酰基。

另外，在本发明的新甾族化合物中，R^4 和 $R^{4'}$ 相互独立地优选是氢或者直链或支链 C_{1-4} 烷基，如甲基、乙基、丙基和丁基，尤其是甲基。

R^4 和 $R^{4'}$ 也可相互独立地是被卤素、羟基、烷氧基或芳氧基取代的 C_{1-4} 烷基。

R^{20} 优选是氢或者直链或支链 C_{1-4} 烷基，如甲基、乙基、丙基和丁基。R^{20} 尤其是甲基。

R^{23} 和 $R^{23'}$ 相互独立地是氢或者 C_{1-8} 烷基，如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、叔戊基、新戊基、己基和环己基等。另外，R^{23} 和 $R^{23'}$ 还可相互独立地是 C_{2-8} 烯基，即、不饱和烷基，如乙烯基、烯丙基、异丙烯基、和异戊二烯基，C_{6-10} 芳基，

如苯基和 1－萘基，该基团也可包括烷基芳基，通过芳基或者通过烷基部分连接在氮原子上，例如苄基和甲苯基。R^{23} 和 $R^{23'}$ 可优选地是烷基和烯基，被至少一个以下基团取代：直链或支链 C_{1-4} 烷基、和 C_{1-4} 烷氧基。苯基和 1－萘基也可被卤素、C_{1-4} 烷氧基、羟基或 C_{1-4} 烷基取代，包括氟烷氧基和氟烷基衍生物。R^{23} 和 $R^{23'}$ 还可独立地是例如 4－羟基苯基、4－甲氧基苯基、2，4，6－三甲基苯基、2，4－二氯苯基、4－氟苯基、4－三氟甲基苯基和 2－五氟乙基苯基。

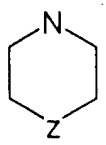
R^{23} 和 $R^{23'}$ 还可相互独立地代表烷基和烯基，该烷基和烯基的碳原子中至少一个被 O、N 和 S 中的任意一个置换，例如是甲氧基亚甲基、甲氧基乙烯、甲氧基丙烯、乙氧基丙烯等。

R^{23} 和 $R^{23'}$ 也可一起形成通过侧链中的氮原子连接在侧链上的杂环结构，而所述氮原子通过间隔基 A 连接在甾体骨架的 C^{20} 碳原子上。该通过 $N(R^{23})(R^{23'})$ 形成的杂环结构可特别地是选自于以下组中的基团：哌啶－1－基、吗啉－4－基、哌嗪－1－基、吡咯烷－1－基、吡咯－1－基、吲哚－1－基、吡唑－1－基、咪唑－1－基、噻唑烷－1－基和噁唑烷－3－基环结构以及它们的取代衍生物。特别优选的杂环结构是饱和基团，即、哌啶－1－基、吗啉－4－基、哌嗪－1－基和吡咯烷－1－基。这些杂环结构可被以下基团取代：羟基、羧基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、烷基环烷基、芳基、烷基芳基、羟基、烷氧基、烷基环烷基氧基、烷基氧基环烷基、烷基芳基氧基、烷基氧基芳基、卤素和酰基，其中烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、烷氧基和酰基具有如上所定义的碳原子数。该杂环结构还可被杂环基团取代，例如它们键合于其上的杂环结构，而且除此之外还包括其他基团，如吡啶基、喹啉基、异喹啉基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、喹喔啉基、噻唑基和噁唑基，另外还包括这些基团的所有其他异构体，如吡啶－2－基、吡啶－3－基和吡啶－4－基。另外，如果 $N(R^{23})(R^{23'})$ 是杂环结构，

则该环结构也可在环中包含氧代基团。

如果 $N(R^{23})(R^{23'})$是哌嗪－1－基，该基团可特别地被吡啶－2－基、吡啶－3－基和吡啶－4－基取代，优选地形成其中哌嗪－1－基在对位被取代的相应 $N(R^{23})(R^{23'})$基团，如 4－（吡啶－3－基）哌嗪－1－基。

$N(R^{23})(R^{23'})$也可以是以下式的基团：



其通过氮原子键合在甾体骨架侧链的 C^{20} 上，其中 Z＝O、S、N－R^{24}、N－C(O)－R^{24}，而 R^{24} 是烷基、烯基、炔基、芳基，它们的碳原子数如上所定义。另外，R^{24} 可以是杂环结构，该环原子的数量如上所定义。

$N(R^{23})(R^{23'})$的氮原子不是直接而是通过 A 键合在 C^{20} 原子上，其中 A 是未取代或者取代的亚甲基或亚乙基间隔基，如（未取代的）亚甲基和（未取代的）亚乙基，以及亚异丙基、亚叔丁基等。A 优选是亚甲基和亚乙基。

特别优选的化合物是其中 R^3 为羟基或半琥珀酸酯的化合物，其中 R^4、$R^{4'}$和 R^{20} 分别是甲基的化合物，其中包括氨基氮原子的 $N(R^{23})(R^{23'})$杂环结构是未取代或者取代的吗啉－4－基、哌啶－1－基、哌嗪－1－基和吡咯烷－1－基的化合物。$N(R^{23})(R^{23'})$特别优选是 3－羟基哌啶－1－基、4－羟基哌啶－1－基、3－酮基哌啶－1－基、4－酮基哌啶－1－基、4－二甲基氨基哌啶－1－基、3，3－二甲基哌啶－1－基、4，4－二甲基哌啶－1－基、3－羧基哌啶－1－基、4－羧基哌啶、4－苯基哌啶－1－基、4－苯甲酰基哌啶－1－基、4－（哌啶－1－基）哌啶－1－基、4－甲基哌嗪－1－基、4－乙酰基哌嗪－1－基、4－苯基哌嗪－1－基、4－苄基哌嗪－1－基、4－苯甲酰基哌嗪－1－基、4－（哌啶－2－基）哌嗪－1－基、4－（吡啶－4－基）哌嗪－1－基、4－（嘧啶－2－基）哌嗪－1－基。

氢原子可键合在甾族化合物的所有其他骨架碳原子上，例如 C^1、C^2、C^6、C^7、C^8、C^9、C^{11}、C^{12}、C^{14}、C^{15}和 C^{16}。

本发明优选的药物学上可接受的化合物是通式 X 甾族化合物的盐。这些盐的例子列于 Journal of Pharmaceutical Science, 66, 第 2 以及其他页（1997）中，该文献在此并入作为参考。此等盐的例子包括有机酸的盐，例如甲酸、富马酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、乳酸、丙酮酸、草酸、琥珀酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、水杨酸、甲磺酸等。可形成药物学上可接受的盐的合适无机酸包括盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸等。

根据本发明的以下化合物是特别优选的：

1) （20S）－20－[（3，3－二甲基哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

2) （20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

3) （20S）－20－[（4，4－二甲基哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

4) （20S）－20－[（4－甲基哌嗪－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

5) （20S）－20－[（4－苯基哌嗪－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

6) （20S）－20－[（吗啉－4－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

7) （20S）－20－[（4－（嘧啶－2－基）哌嗪－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

8) （20S）－20－[（吡咯烷－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

9) （20S）－20－[（3，3－二甲基哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基

－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇半琥珀酸酯

10)（20S）－20－[N－（3－甲氧基丙基）氨基甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

11)（20S）－20－氨基甲基－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

12)（20S）－20－[N，N－二（2－甲氧基乙基）氨基甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

13)（20S）－20－[N－（2，2－二甲基亚乙基）氨基甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

14)（20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－5，7－二烯－3β－醇

15)（20S）－20－[（4－（吡啶－2－基）哌嗪－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

16)（20S）－20－[（4－苯基哌嗪－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

17)（20S）－20－[（4－甲基哌嗪－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

18)（20S）－20－[（N，N－二甲基氨基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

19)（20S）－20－[（吗啉－4－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

20)（20S）－20－[（吡咯烷－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

21)（20S）－20－[（哌啶－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

22)（20S）－20－[（4－苯基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3

β－醇

23)（20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

24)（20S）－20－[（吗啉－4－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

25)（20S）－20－[（吡咯烷－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

26)（20S）－20－[（4－羧乙基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

27)（20S）－20－[（3－羟基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

28)（20S）－20－[（4－苯甲酰基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

29)（20S）－20－[（4－（哌啶－1－基）哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

30)（20S）－20－[（4－硫代吗啉基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

31)（20S）－20－[（4－二甲基氨基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

32)（20S）－20－[（4－酮基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

33)（20S）－20－[（3－酮基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

34)（20S）－20－[（4－羧基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

35)（20S）－20－[（3－羧基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

36)（20S）－20－[（4－羟基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3

β－醇

37)（20S）－20－[（3，3－二甲基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

38)（20S）－20－[（4，4－二甲基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

39)（20S）－20－[（4－哌嗪－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

40)（20S）－20－[（4－苯基哌嗪－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

41)（20S）－20－[（4－甲基哌嗪－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

42)（20S）－20－[（4－苄基哌嗪－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

43)（20S）－20－[（4－乙酰基哌嗪－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

44)（20S）－20－[（4－苯甲酰基哌嗪－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

45)（20S）－20－[{4－（2－吡啶基）哌嗪－1－基}甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

46)（20S）－20－[{4－（3－吡啶基）哌嗪－1－基}甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

47)（20S）－20－[{4－（4－吡啶基）哌嗪－1－基}甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

48)（20S）－20－[{4－（2－嘧啶基）哌嗪－1－基}甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

49)（20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－

$\triangle^{8(14)}$—烯—3β—醇

这些甾族化合物的结构式示于图 1A—图 1K 中。

本发明的另一个目的是提供包含至少一种通式 X 的甾族化合物以及至少一种药物学上可接受的已知赋形剂的药物组合物，所述赋形剂例如是至少一种载体、稀释剂、吸收促进剂、防腐剂、缓冲剂、药物是液体时用于调节渗透压和流变学性质的试剂、表面活性剂、溶剂、片剂崩解剂、微胶囊、填料、滑性添加剂、着色剂、调味剂以及其他成分。这些物质都是本领域常规使用的。根据本发明的甾族化合物优选以有效量包含在药物组合物中。

固体载体的例子是碳酸镁、硬脂酸镁、糊精、乳糖、蔗糖、滑石、明胶、果胶、淀粉、硅胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、低熔点蜡以及可可脂。

液体组合物包括无菌溶液、混悬液和乳液，它们可例如通过口服、鼻腔给药，或者以软膏的形式给药。此等液体组合物还适合注射或者用于体外或体内应用。在口服给药时，该液体组合物可包括药物学上可接受的油和/或亲脂性表面活性剂和/或与水混溶的溶剂。在此方面可参考 WO 97/21440 A1，其在此并入作为参考。

液体组合物还可包含本领域通常使用的其他成分，这些成分中的一些已在上面有所描述。另外，用于透皮给药本发明化合物的组合物可为药贴的形式。用于鼻腔给药的组合物可为液体或者粉末状的鼻腔喷雾剂。

为增强甾族化合物的生物利用度，这些化合物还可配制成环糊精包合物。为此目的，本发明的化合物与α—、β—或γ—环糊精或它们的衍生物复合。

外用的药膏、软膏、洗液或者其他液体制剂必须能够使本发明的甾族化合物以足够的量被转运至需要调节减数分裂的患者中。为此目的，

该药物包含用于调节药物的流变学性质的赋形剂、表面活性剂、防腐剂、溶剂、稀释剂、用于增强皮肤渗透能力的物质、调味剂和保护皮肤的物质如调理剂和湿度调节剂。

该药物还可包含用于增强或者调节本发明之甾族化合物的作用或者产生其他所希望的作用的活性剂。

在非胃肠道给药时，甾族化合物可溶解或者悬浮在药物学上可接受的稀释剂中。油通常与溶剂、表面活性剂、悬浮剂或乳化剂组合使用，所述油例如是橄榄油、花生油、豆油、蓖麻油等。对于可注射给药的药物制剂，可使用任何液体载体。这些液体通常还包含用于调节其粘度的试剂以及用于调节液体的等渗性的试剂。

根据本发明的甾族化合物可进一步以可注射的长效制剂或者植入剂给药，它们可例如通过皮下途径给药，使得延迟释放甾族化合物成为可能。为此目的，可使用各种技术，例如给药长效制剂，该制剂包括含有活性化合物的膜，或者给药缓慢溶解的长效制剂。植入剂可例如包含可生物降解的聚合物或者合成硅氧烷作为惰性材料。

医生可确定甾族化合物的使用剂量，而且取决于所用的具体甾族化合物、给药途径、以及使用目的。通常情况下，本发明的组合物是如下制得的：紧密地使活性化合物与液体或者固体辅助成分缔合，然后，如果需要，将产品成型为所希望的制剂。

每日给药于哺乳动物，例如给药于人的甾族化合物的量一般不超过3000 mg，优选不超过350 mg，而且有些情况下优选不超过30 mg。

本发明还涉及通式X的甾族化合物在制备用于调节生育、如减数分裂的组合物中的应用。该组合物优选可作为药物应用。

本发明还涉及通式X的新甾族化合物在制备避孕药或者促生育药中的应用。

本发明还涉及通式X的甾族化合物在非体内应用中的应用。

本发明还涉及调节生育、例如减数分裂的方法，其包括向需要此等调节作用的受治疗者给药有效量的至少一种通式 X 的甾族化合物。

另外，本发明涉及用于提高卵母细胞发育成哺乳动物的可能性的方法，其包括使由哺乳动物中取出的卵母细胞与通式 X 的甾族化合物相接触。

在此所用术语“调节生育、例如减数分裂”是指根据本发明的化合物特别适合于在哺乳动物卵母细胞、特别是人卵母细胞中刺激生育、例如减数分裂，使得这些为天然减数分裂活化物质的激动剂类似物的化合物可用于治疗雌性和雄性中由于减数分裂刺激不足而导致的不育症。

包含本发明化合物的组合物的给药途径可以是任何能够有效地将活性甾族化合物转运至其作用部位处的途径。

因此，当本发明的甾族化合物给药于哺乳动物时，这些化合物通常方便地以药物组合物的形式提供，该组合物包含至少一种根据本发明的甾族化合物以及药物学上可接受的载体。在口服使用时，此等组合物优选为片剂或胶囊剂的形式。

本发明还涉及制备通式 X 的甾族化合物的方法，其中 R^4 和 $R^{4'}$ 是未取代或取代的、直链或支链 C_{1-4} 烷基，而且不是氢。

上述甾族化合物可类似于已知化合物的制备方法来合成。因此，通式 X 的甾族化合物的合成可按照大量甾醇和甾体文献中描述的已知合成途径来进行。以下文献可用作合成法的主要源头：L. F. Fieser & M. Fieser, *Steroids*, Reihold Publishing Corporation, N.Y., 1959; *Rood's Chemistry of Carbon Compounds*（S. Coffrey 编辑）：Elsevier Publishing Company, 1971; 以及特别是 *Dictionary of Steroids*（R. A. Hill, D. N. Kirk, H. L. J. Makin 和 G. M. Murphy 编辑），Chapman & Hall，该文献在此并入作为参考。最后一个文献包括了大量覆盖至 1990 年的源文献的引用目录。

具体而言，本发明的甾族化合物可例如根据常规方法合成，包括：

a. 由（20S）－20－羟甲基－孕－4－烯－3－酮起始，

b. 通过烷基化作用在4位引入两个烷基，

c. 将酮基还原为羟基，

d. 通过溴化/脱溴化氢作用引入$\triangle^{7}$双键，

e. 在有酸存在下进行加热，由此将二烯$\triangle^{5,7}$异构化为二烯$\triangle^{8,14}$，

f. 将17－羟基氧化为醛基，然后

g. 还原性胺化醛基。

该第一合成方法的相应合成路线示于图2中。根据该图，（20S）－20－羟甲基－孕－4－烯－3－酮 1 以甲硅烷基醚如三异丙基甲硅烷基（TIPS）醚的形式进行保护，得到化合物2。为制备化合物3，在碱如叔丁醇钾存在下用碘甲烷进行烷基化，由此在甾体骨架的4位处引入两个甲基。在下一步中，用常规还原剂如氢化铝锂或硼氢化钠还原3－酮基。所得的醇4接着以乙酸酯的形式保护（化合物5）。然后顺序地通过溴化－脱溴化氢反应引入第二个双键。在盐酸存在下通过加热将化合物5中所得的$\triangle^{5,7}$－二烯系统异构化为$\triangle^{8,14}$－二烯系统，得到化合物7。在该酸催化步骤中，两个羟基都脱除保护，并得到二醇 7。用 Dess-Martin Periodinance 对侧链中的羟基进行中等选择性的氧化，产生醛8，其可作为通过还原性胺化在侧链中引入不同胺的中心中间体。为此目的，可使用不同的还原剂，如硼氢化钠或者三（乙酰氧基）硼氢化钠。其结果是，得到根据本发明的甾族化合物9。

在该制备本发明的甾族化合物的方法中，产生新的化合物，即：（20S）－4，4－二甲基－20－羟甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇和（20S）－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇－20－醛。因此，本发明还涉及这些中间体化合物。

另外，本发明的甾族化合物还可用以下的方法合成：

a. 由（20S）－20－三甲基－孕－8，14－二烯－3β，21－二醇、特别是由（20S）－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－3β，21－二醇起始，

b. 优选用甲苯磺酸在 C^{21} 位进行亲核取代，形成相应的甲苯磺酸酯，

c. 用氰化物取代 C^{21} 位处的亲核基团（甲苯磺酸基），在 C^{21} 处形成新的碳－碳键，

d. 还原所形成的腈，得到醛，

e. 还原性胺化腈，形成各种胺。

该第二合成方法的相应合成路线示于图 3 中。（20S）－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－3β，21－二醇 1 用对甲苯磺酰氯在侧链中进行甲苯磺酸化。甲苯磺酸酯 2 用作为 C1 构建块的氰化物取代。所得的腈 3 用二异丁基氢化铝还原，得到醛 4。该醛 4 在还原性胺化反应中在三（乙酰氧基）硼氢化钠存在下与胺反应。所得的产物 5 用标准的柱色谱或者通过 HPLC 进行纯制。

附图说明

图 1A－图 1K 所示为前述化合物 1－49 的结构式；

图 2 所示为第一合成方法的合成路线图；

图 3 所示为第二合成方法的合成路线图。

具体实施方式

以下实施例用于更为详细地描述本发明，但绝不是对本发明范围的限制。

实施例 1：（20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 2）

a) （20S）－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－4－烯－3－酮

在室温下向 30 g（20S）－20－[（羟甲基）]－孕－4－烯－3－酮和 13.5 g 咪唑在 300 ml 二氯甲烷中的溶液内滴加 26 ml 的三异丙基甲硅烷

基氯。反应混合物在相同的温度下搅拌 20 小时，然后倾倒至水中。水层用乙酸乙酯萃取。合并有机层，用盐水洗涤，在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩，得到 45.4 g 棕色油状的（20S）－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－4－烯－3－酮粗产物，其未进一步纯制即用于下一步反应中。

MS (Cl^+): 487 (M+H)

b) （20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3－酮

在 50℃的温度下将 45.4 g 的粗（20S）－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－4－烯－3－酮在 320 ml 四氢呋喃中的溶液添加至 42.3 g 叔丁基钾在 950 ml 叔丁醇中的溶液内。该混合物在相同的温度下搅拌 10 分钟。添加 50 ml 的碘甲烷，然后继续搅拌 1 小时。将反应混合物倾倒至水中，用乙酸乙酯萃取。合并有机层，用盐水洗涤，在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩。残留物通过柱色谱进行纯制，得到 27.3 g 的（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3－酮淡黄色固体。

MS (Cl^+): 515 (M+H)

c) （20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3－醇

在室温下向 27.3 g（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3－酮在 500 ml 四氢呋喃中的溶液内小心地分批添加 1.24 g 的氢化铝锂。反应混合物搅拌 1 小时，然后冷却至 0℃。顺序地添加 2.5 ml 水、2.5 ml 的 1 N 氢氧化钠溶液、和 7.5 ml 水。在 celite 上过滤混合物。滤液进行减压浓缩。残留物通过柱色谱纯制，得

到 18.2 g 的（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3－醇淡黄色固体。

MS (Cl^+): 517 (M+H)

d) （20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3－醇乙酸酯

在室温下向 18.2 g（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3－醇在 175 ml 吡啶中的溶液内添加 6.24 ml 的乙酸酐。该反应混合物搅拌 20 小时，然后倾倒在冰/盐酸混合物中。用乙酸乙酯萃取。合并有机层，用盐水洗涤，在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩，得到 16.2 g 的（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3－醇乙酸酯白色固体，其未纯制即用于下一步反应中。

MS (Cl^+): 559 (M+H)

e) （20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5，7－二烯－3－醇乙酸酯

在 70℃下向 16.2 g（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3－醇乙酸酯在 100 ml 苯和 100 ml 己烷混合物中的溶液内分批地添加 4.93 g 的 1，3－二溴－5，5－二甲基乙内酰脲。30 分钟后，将混合物冷却至 0℃，然后过滤。真空蒸发滤液。

向所得的残留物中添加 160 ml 的甲苯和 7.8 ml 的 2，4，6－三甲基吡啶。该混合物回流 2.5 小时。冷却后，反应混合物用 1 N 盐酸、饱和碳酸氢钠溶液和盐水洗涤。有机层在硫酸钠上干燥，过滤，然后真空蒸发。残留物通过柱色谱进行纯制，得到 12.5 g（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5，7－二烯－3－醇乙酸

酯白色固体。

MS (Cl^+): 557 (M+H)

f) （20S）－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－3β，21－二醇

16.1 g（20S）－4，4－二甲基－20－[（(三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5，7－二烯－3－醇乙酸酯、210 ml 乙醇、28 ml 苯和 28 ml 浓盐酸的混合物回流 6 小时。冷却后，将混合物倾倒至饱和碳酸氢钠溶液中，用乙酸乙酯萃取，然后用盐水洗涤。有机层在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩。残留物由二氯甲烷和甲醇中重结晶，得到 4.48 g（20S）－20－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－3β－醇。

MS (EI^+): 358 (M)

g) （20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛

在室温下向 1 g（20S）－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－3β，21－二醇在 10 ml 二氯甲烷中的溶液内添加 5.4 ml 的 0.5 M Dess-Martin-Periodinane 溶液。搅拌该混合物 1 小时，倾倒至饱和碳酸氢钠溶液中，用乙酸乙酯萃取，然后用盐水洗涤。有机层在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩。残留物通过柱色谱进行纯制，得到 230 mg 的（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛白色固体。

MS (EI^+): 356 (M)

h) （20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

在室温下将 38 mg 的三（乙酰基氧基）硼氢化钠添加至 42 mg（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛和 10μl

哌啶在 3 ml 四氢呋喃中的溶液内。该混合物搅拌 2 小时，倾倒至饱和碳酸氢钠溶液中，用乙酸乙酯萃取，然后用盐水洗涤。有机层在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩。残留物通过柱色谱进行纯制，得到 15 mg 的（20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 425 (M)

实施例 2：（20S）－20－[（3，3－二甲基哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

如实施例 1h)中所述，用 3，3－二甲基－哌啶和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（3，3－二甲基哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 453 (M)

实施例 3：（20S）－20－[（4－苯基哌嗪－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 5）

如实施例 1h)中所述，用 N－苯基－哌嗪和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（4－苯基哌嗪－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 502 (M)

实施例 4：（20S）－20－[（吗啉－4－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 6）

如实施例 1h)中所述，用吗啉和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）

－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（吗啉－4－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 427 (M)

实施例 5：（20S）－20－[（4－（嘧啶－2－基）哌嗪－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 7）

如实施例 1h)中所述，用 N－（嘧啶－2－基）哌嗪和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（4－（嘧啶－2－基）哌嗪－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 504 (M)

实施例 6：（20S）－20－[（吡咯烷－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 8）

如实施例 1h)中所述，用吡咯烷和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（吡咯烷－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 411 (M)

实施例 7：（20S）－20－[N－（3－甲氧基丙基）氨基甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 10）

如实施例 1h)中所述，用 3－甲氧基丙基胺和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－

21－醛。分离出（20S）－20－[N－（3－甲氧基丙基）氨基甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 429 (M)

实施例 8：（20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－5，7－二烯－3β－醇（化合物 14）

a) （20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3β－醇苯甲酸酯

在 0－3℃下将 34.4 ml 的苯甲酰氯添加至 70 g 粗（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3β－醇（实施例 1c）（未经色谱纯制）在 670 mg 吡啶中的溶液内。反应混合物在室温下搅拌 2 小时，然后倾倒在冰水中。过滤出沉淀物，用水洗涤，然后由丙酮中重结晶，得到 42 g 的（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3β－醇苯甲酸酯。

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ＝8.05 (2H, d), 7.56 (1H, t), 7.45 (2H, t), 5.60 (1H, t), 4.74 (1H, m), 3.68 (1H, dd), 3.36 (1H, m)

b) （20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5，7－二烯－3β－醇苯甲酸酯

如实施例 1e 所述，42 g 的（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5－烯－3β－醇苯甲酸酯用 13.7 g 的 1，3－二溴－5，5－二甲基－乙内酰脲和 18 ml 的 2，4，6－三甲基吡啶处理，得到（未用柱色谱纯制）41.9 g 的（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5，7－二烯－3β－醇苯甲酸酯。

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ＝8.05 (2H, d), 7.57 (1H, t), 7.45 (2H, t), 5.95 (1H,

d), 5.56 (1H, m), 4.85 (1H, m), 3.7 (1H, dd), 3.39 (1H, m)

c) （20S）－4，4，20－三甲基－孕－5，7－二烯－3β，21－二醇 3－苯甲酸酯

将 2 g 粉末状的分子筛（4 Å）和 1.27 g 的四丁基氟化胺水合物添加至 2.0 g（20S）－4，4－二甲基－20－[（（三异丙基甲硅烷基）氧基）甲基]－孕－5，7－二烯－3β－醇在 50 ml 四氢呋喃中的溶液内。混合物在室温下搅拌过夜，减压浓缩，然后通过柱色谱纯制，得到 1.17 g 的（20S）－4，4，20－三甲基－孕－5，7－二烯－3β，21－二醇苯甲酸酯。

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ =8.06 (2H, d), 7.56 (1H, t), 7.45 (2H, t), 5.94 (1H, d), 5.56 (1H, m), 4.85 (1H, m), 3.66 (1H, m), 3.41 (1H, m)

d) （20S）－4，4－二甲基－20－[（（甲苯－4－磺酰基）氧基）甲基]－孕－5，7－二烯－3β－醇苯甲酸酯

将 0.573 g 甲苯－4－磺酰氯在 4 ml 吡啶中的溶液滴加至 0.926 g（20S）－4，4，20－三甲基－20－孕－5，7－二烯－3β，21－二醇 3－苯甲酸酯在 15 ml 吡啶中的溶液内，同时用冰浴进行冷却。反应混合物在 0－3℃下搅拌 1 小时，然后在室温下过夜。反应混合物倾倒至冰水中，然后用乙酸乙酯萃取。合并有机层，用 1 N 盐酸、饱和碳酸氢钠溶液和盐水洗涤。有机层在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩，得到 1.0 g 的（20S）－4，4－二甲基－20－[（（甲苯－4－磺酰基）氧基）甲基]－孕－5，7－二烯－3β－醇苯甲酸酯，其通过在甲醇中结晶进行纯制。

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ =8.05 (2H, d), 7.8 (1H, d), 7.56 (1H, t), 7.45 (2H, t), 7.34 (2H, d), 5.94 (1H, d), 5.55 (1H, m), 4.85 (1H, m), 4.0 (1H, dd), 3.81 (1H, m), 2.45 (3H, s)

e) （20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－5，7－二烯－3β－醇苯甲酸酯

将 0.625 ml 的哌啶添加至 0.154 g（20S）－4，4－二甲基－20－[((甲苯－4－磺酰基)氧基)甲基]－孕－5，7－二烯－3β－醇苯甲酸酯在 3 ml 的 N，N－二甲基甲酰胺中的溶液内。反应混合物在室温下搅拌 48 小时，然后减压浓缩。残留物溶解在二氯甲烷中，并用水洗涤 3 次。有机层在硫酸钠上干燥，过滤，然后真空蒸发。

残留物（125 mg）在甲醇中结晶，得到 45 mg 的（20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－5，7－二烯－3β－醇苯甲酸酯。

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ =8.05 (2H, d), 7.57 (1H, t), 7.46 (2H, t), 5.94 (1H, d), 5.56 (1H, m), 4.88 (1H, t), 2.43 (2H, m)

f) （20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－5，7－二烯－3β－醇

将 45 mg（20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－5，7－二烯－3β－醇苯甲酸酯在 2.5 ml 四氢呋喃中的溶液添加至 45 mg 氢化铝锂在 2 ml 四氢呋喃中的悬浮液内。在室温下搅拌 2 小时后，添加 3 ml 的饱和硫酸钠溶液和 5 ml 的 1 N 氢氧化钠溶液。混合物用 10 ml 的二氯甲烷萃取 3 次。合并有机层，用 1 N 氢氧化钠和水洗涤，在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩。残留物（35 mg）通过柱色谱进行纯制，得到 22 mg 的（20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－4，4－二甲基－5α－孕－5，7－二烯－3β－醇。

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ =5.93 (1H, d), 5.53 (1H, m), 3.4 (1H, t), 2.42 (2H, m), 1.22 (3H, s), 1.13 (3H, s), 1.02 (3H, d), 0.98 (3H, s), 0.6 (3H, s)

实施例 9：（20S）－20－[（4－（吡啶－2－基）哌嗪－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 15）

a）（20S）－4，4，20－三甲基－21－甲苯磺酰基氧基－孕－8，14－二烯－3β－醇

在室温下将 4.7 g 对甲苯磺酰氯分批地添加至 4.5 g（20S）－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－3β，21－二醇在 91 ml 吡啶中的溶液内。混合物在室温下搅拌 3 小时，然后减压浓缩。残留物溶解在乙酸乙酯中，用水和氯化钠溶液洗涤。有机层在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩。残留物通过柱色谱进行纯制，得到 3.2 g 的（20S）－4，4，20－三甲基－21－甲苯磺酰基氧基－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 512 (M)

b）（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－腈

在室温下将 1.7 g 的氰化钾添加至 4.7 g（20S）－4，4，20－三甲基－21－甲苯磺酰基氧基－孕－8，14－二烯－3β－醇在 90 ml DMSO 中的溶液内。该混合物在 90℃下搅拌 2 小时，倾倒在水中，用乙酸乙酯萃取，然后用水洗涤。有机层在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩，得到 2.8 g 的（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－腈白色固体，其未纯制即用于以后的反应中。

MS (EI^+): 367 (M)

c）（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－甲醛

在－72℃下将 16 ml 的二异丁基氢化铝（20%，在甲苯中）滴加至 920 mg（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21

一腈在 60 ml 甲苯中的溶液内。该混合物在室温下搅拌 2 小时，倾倒在 2 N 硫酸中，用乙酸乙酯萃取，用 2 N 硫酸洗涤，然后用半饱和的氯化钠溶液洗涤。有机层在硫酸钠上干燥，过滤，然后减压浓缩，得到 750 mg 的（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－甲醛白色固体，其未经纯制即用于以后的反应中。

MS (EI^+): 370 (M)

d) （20S）－[（4－（吡啶－2－基）哌嗪－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇

在室温下将 107 mg 的三(乙酰基氧基)硼氢化钠添加至 125 mg(20S)－3β－羟基－4,4,20－三甲基－孕－8,14－二烯－21－甲醛和 32.6 mg N－（2－吡啶基）哌嗪在 2 ml 四氢呋喃中的溶液内。该混合物搅拌 20 小时，倾倒至水中，然后减压浓缩。残留物通过柱色谱进行纯制，得到 84 mg 的（20S）－20－[（4－（吡啶－2－基）哌嗪－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 517 (M)

实施例 10：（20S）－20－[（4－苯基哌嗪－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 16）

如实施例 9d)中所述，用 N－苯基哌嗪和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（4－苯基哌嗪－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 516 (M)

实施例 11：（20S）－20－[（4－甲基哌嗪－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 17）

如实施例 9d)中所述，用 1－甲基哌嗪和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（4－甲基哌嗪－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 454 (M)

实施例 12：（20S）－20－[（N，N－二甲基氨基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 18）

如实施例 9d)中所述，用 N，N－二甲基胺和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（N，N－二甲基氨基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 399 (M)

实施例 13：（20S）－20－[（吗啉－4－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 19）

如实施例 9d)中所述，用吗啉和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（吗啉－4－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 441 (M)

实施例 14：（20S）－20－[（吡咯烷－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 20）

如实施例 9d)中所述，用吡咯烷和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（吡咯烷－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 425 (M)

实施例 15：（20S）－20－[（哌啶－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇（化合物 21）

如实施例 9d)中所述，用哌啶和三（乙酰基氧基）硼氢化钠处理（20S）－3β－羟基－4，4，20－三甲基－孕－8，14－二烯－21－醛。分离出（20S）－20－[（哌啶－1－基）乙基]－4，4－二甲基－5α－孕－8，14－二烯－3β－醇白色固体。

MS (EI^+): 439 (M)

实施例 16：（20S）－20－[（4－苯基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇（化合物 22）

a) 3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基双降胆烯酸甲基醚

3β－羟基双降胆烯酸（10 g）、碳酸氢钾（12 g）、碘甲烷（10 ml）和二甲基甲酰胺在室温下搅拌 3 天，然后倾倒在水（1.5 ml）中。过滤出白色沉淀物。在白色沉淀物中添加乙醚，过滤出不溶的物质。真空浓缩醚相，得到粗的甲硅烷基醚，并将该醚溶解在二甲基甲酰胺（400 ml）中。添加叔丁基二甲基甲硅烷基氯（6 g）和咪唑（6 g），真空浓缩该混合物，然后通过快速色谱纯制，得到 5.3 g 的 3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基双降胆烯酸甲基醚。

b) 3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基－（20S）－20－甲基－5α－孕－5

一烯－21－醇

在室温下将2.2当量的二异丁基氢化铝在甲苯中的溶液（2 M）添加至 3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基双降胆烯酸甲基醚中并搅拌该反应混合物。将反应混合物添加至水中，用乙醚萃取，真空浓缩，然后通过快速色谱纯制，得到3.3 g的3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基－（20S）－20－甲基－5α－孕－5－烯－21－醇。

c) 3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基－（20S）－20－甲基－5α－孕－5－烯－21－醛

将Dess-Martin-Periodinane（1.9 g，在30 ml二氯甲烷中）添加至1.6 g的3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基－（20S）－20－甲基－5α－孕－5－烯－21－醇在二氯甲烷（30 ml）中的溶液内，搅拌反应混合物24小时，然后倾倒在乙醚中，并用1 N氢氧化钠溶液萃取。有机层在硫酸镁上干燥，然后真空浓缩，得到1.6 g的3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基－（20S）－20－甲基－5α－孕－5－烯－21－醛。

d) 3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基－（20S）－20－[（4－苯基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯

将4－苯基哌啶（0.16 g）添加至0.26 g的3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基－(20S)－20－甲基－5α－孕－5－烯－21－醛在THF(20 ml)中的溶液内，然后添加三（乙酰氧基）硼氢化钠（0.38 g）。5小时后，将反应混合物倾倒至饱和碳酸氢钠溶液中，用乙酸乙酯萃取，干燥，然后真空浓缩。通过快速色谱纯制，得到76 mg的3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基－（20S）－20－[（4－苯基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯。

e) （20S）－20－[（4－苯基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇

将 6 N 盐酸（0.2 ml）添加至 100 mg 的 3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基－（20S）－20－[（4－苯基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯在 10 ml 乙醇中的溶液内，该混合物在室温下搅拌 4 天。添加二氯甲烷，有机相用碳酸氢钠溶液洗涤，在硫酸镁上干燥，然后减压浓缩，得到标题化合物。

MS (EI^+): 478 (M)

实施例 17－22

在 3β－叔丁基二甲基甲硅烷基氧基－（20S）－20－甲基－5α－孕－5－烯－21－醛上重复实施例 16 中的步骤 d)和 e)，得到以下实施例。

实施例 17：（20S）－20－[（哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇（化合物 23）

在还原性胺化步骤 d）中使用哌啶，然后进行酸脱保护步骤 e)，得到标题化合物。

MS (EI^+): 400 (M)

实施例 18：（20S）－20－[（吗啉－4－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇（化合物 24）

在还原性胺化步骤 d）中使用吗啉，然后进行甲硅烷基脱保护步骤 e)，得到标题化合物。

MS (EI^+): 402 (M)

实施例 19：（20S）－20－[（吡咯烷－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇（化合物 25）

在还原性胺化步骤 d）中使用吡咯烷，然后进行甲硅烷基脱保护步骤 e），得到标题化合物。

MS (EI^+): 386 (M)

实施例 20：（20S）－20－[（4－羧乙基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇（化合物 26）

在还原性胺化步骤 d）中使用 4－羧乙基哌啶，然后进行甲硅烷基脱保护步骤 e），得到标题化合物。

MS (EI^+): 472 (M)

实施例 21：（20S）－20－[（3－羟基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇（化合物 27）

在还原性胺化步骤 d）中使用 3－羟基哌啶，然后进行甲硅烷基脱保护步骤 e），得到标题化合物。

MS (EI^+): 416 (M)

实施例 22：（20S）－20－[（4－苯甲酰基哌啶－1－基）甲基]－5α－孕－5－烯－3β－醇（化合物 28）

在还原性胺化步骤 d）中使用 4－苯甲酰基哌啶，然后进行甲硅烷基脱保护步骤 e），得到标题化合物。

MS (EI^+): 504 (M)

实施例 23：在鼠卵母细胞实验中测试减数分裂活化物质

动物

由未成熟的体重为 13－16 克的雌性小鼠（C57B1/6J×DBA/2J F1-杂交，Bomholtgaard, Denmark）得到卵母细胞，所述小鼠在受控的光照和温度下饲养。小鼠接受腹膜内注射 0.2 ml 的促性腺激素（包含 20 IU PMSG，怀孕母马血清促性腺激素，Sigma 目录号 G－4877），48 小时后通过颈错位将动物杀死。

卵母细胞的收集和培养

剥离出卵巢，使用一对 27 号针手工破坏卵泡，在立体显微镜下于 Hx－培养基（见下）中分离卵母细胞。球形的卵丘包封的卵母细胞（CEO）显示出完整的生发泡（GV），将其放置在 α －最小基本培养基（α －MEM，不含核糖核苷，Gibco BRL, 目录号 22561）中，该培养基中添加有 3 mM 的次黄嘌呤（Sigma，目录号 H-9377）、8 mg/ml 的人血清白蛋白（HAS, State Serum Institute, Denmark）、0.23 mM 的丙酮酸盐（Sigma，目录号 S－8636）、2 mM 的谷氨酰胺（Flow 目录号 16－801）、100 IU/ml 的青霉素和 100 μ g/ml 的链霉素（Flow 目录号 16－700）。该培养基称为 Hx－培养基。

卵母细胞在 Hx－培养基中淋洗 3 次，然后在 4 孔培养板（Nunclon, Denmark）中培养，在各孔中包含 0.4 ml 的 Hx－培养基和约 25 个卵母细胞。对照（在没有添加测试化合物的 Hx－培养基中培养的卵母细胞约 25 个）用测试培养基同时进行，该测试培养基具有不同浓度的待测化合物。在 37℃、100%湿度、5%CO_2 空气的条件下进行培养。培养时间为 22 小时。

卵母细胞的检查

在减数分裂中停止的卵母细胞的特征是具有完整的核，该核具有主要的已知称为胚泡（GV）的核仁。在重新启动减数分裂时，核仁及核膜消失，而且具有 GV 破碎的特征，这就称为胚泡破碎（GVB）。几小时后，卵母细胞完成减数分裂，并诱发第一个所谓的极体（PB）。

在培养期结束后，使用立体显微镜或者具有微分干涉相差设备的倒置显微镜计数具有生发泡（GV）或生发泡碎片（GVB）的卵母细胞以及具有极体（PB）的卵母细胞的数量。在测试培养基中计算总卵母细胞数量中具有 GVB 的卵母细胞百分比以及总卵母细胞数量中具有 PB 的卵母细胞的百分比，并与对照培养基相比。

表 1：在卵丘包封的鼠卵母细胞中减数分裂的活化

化合物	卵母细胞（n）			活化作用(%)
	GV	GVB	PB	GVB+PB
对照（Hx）	19	1	4	21
10μM FF－MAS	13	6	5	46
0.1μM 化合物实施例 1	14	7	2	39
1μM 化合物实施例 1	6	12	6	75
10μM 化合物实施例 1	1	14	7	95

Hx＝次黄嘌呤

GV＝生发泡

GVB＝生发泡碎片

PB＝极体

n＝卵母细胞数量

实施例 24：在鼠卵泡培养体系中测试减数分裂活化物质

动物

由 19－21 日龄未成熟的雌性小鼠（C57B1/6J×DBA/J）得到卵泡，所述小鼠在受控的光照和温度下饲养。

血清的收集和卵泡的培养

用乙醚麻醉动物，然后通过眼提取的方式收集血液。凝结后，在 4000×g 下离心血液 15 分钟，收集血清并在－20℃下储存至使用。取出卵巢，并在 37℃下放置于 Leibovitz L-15 培养基（Gibco 目录号 41300）中，该培养基中补充有 1 mmol/l 的谷氨酰胺、3 mg/ml 的 BSA、5μg/ml 的人运铁蛋白（不含铁）、5μg/ml 的胰岛素（培养基级化学品，Sigma, St. Louis, MO）。

用两个连接在 1 ml 注射器上的 27 号针机械地分离直径为 170－190μm 的窦前卵泡。将它们放置，然后在 4 孔培养板（Nunclon, Denmark）上在α－最小基本培养基（α－MEM，Gibc 目录号 11900）中洗涤（3 次），该培养基中添加有 2 mmol/l 的谷氨酰胺、10μg/ml 的运铁蛋白、10μg/ml 的胰岛素和 3 mg/ml 的 BSA。

选择具有正常形态外观的 170－190μm 卵泡，即、中心球形卵母细胞，高密度的粒膜细胞、以及包封整个卵泡的膜层，并单独在 96 孔培养板（Nunclon, Denmark）插件中培养，该培养板的孔中含有 40μl 的α－MEM 培养基，该培养基中添加有 50μl/ml 的未成熟鼠血清、5μg/ml 的胰岛素、2 mmol/l 的谷氨酰胺、10μg/ml 的人运铁蛋白、以及 0.2 IU 的 FSH（Gonal F, Serono, Solna, Sweden）。没有任何油封，卵泡在充有 5% CO_2（在空气中）的湿润培养箱中于 37℃下培养。

开始培养的时间定为第 0 天。培养基每隔一天进行更换。每天使用×100 显微镜以及经过校正的测微计测量卵泡的直径。另外，对分解（卵

泡变暗）以及爆裂（卵母细胞丢失）进行评估，由此检查卵泡的存活率。培养时间为 4 天。

在培养的第 2 天和第 3 天时，在培养基中加入 1.72μl 体积的测试化合物或者载体。测试化合物溶解在乙醇（载体）中。

卵泡的检查

在减数分裂中停止的卵母细胞的特征是具有完整的核，该核具有主要的已知称为胚泡（GV）的核仁。在重新启动减数分裂时，核仁及核膜消失，而且具有 GV 破碎的特征，这就称为胚泡破碎（GVB）。

在第 4 天时，在培养期结束前，通过重新开始减数分裂来检查卵泡。使用立体显微镜或者具有微分干涉相差设备的倒置显微镜计数具有生发泡（GV）或生发泡碎片（GVB）的卵母细胞的卵泡数量。在测试培养基中计算总卵泡数量中具有 GVB 的卵泡百分比，并与对照培养基进行比较。

表 2：在卵泡培养体系中卵母细胞成熟的活化

化合物	卵母细胞（n）		活化作用(%)
	GV	GVB	GVB+PB
对照（1.72 乙醇）	16	2	11
10μM FF-MAS	9	0	0
1μM 化合物实施例 1	2	7	78
3μM 化合物实施例 1	0	9	100
10μM 化合物实施例 1	0	8	100

GV＝生发泡

GVB＝生发泡碎片

n＝卵泡的数量

实施例 25：用 MAS 激动剂在试管内治疗不育症

通过超声导向经阴道的吸引法由经过激素刺激或者未经过刺激的女性患者的卵巢中吸出卵子。

激素刺激可以是标准的长期 IVF 方案，其包括使用促性腺激素拮抗剂向下调节，例如 Synarella 鼻腔喷雾剂，14 天后每日进行 FSH 注射（Gonal F，SC）150 IU。在收集卵子之前 36 小时，向患者给药 hCG（10.000 IU 人绒毛促性腺激素，SC），以诱导卵泡和卵母细胞的最终成熟。

以 3μM 的浓度向培养基中添加化合物，使其在受精之前与配子相互作用，以调节或者提高减数分裂成熟过程。卵母细胞在试管内受精、试管内培养，然后通常在卵母细胞收集后的第 3 天转运回至患者子宫中。向患者给药孕酮（crinone 阴道胶，每日 1 个剂量）和/或雌二醇（戊酸雌二醇，2 mg/天），以提高移植并使子宫具有更高的容纳性。

添加至培养基中的化合物显著提高了卵母细胞成熟的质量，这又导致更高的受精率、更高的移植前发育、更高的植入率以及最终更高的健康婴儿出生成功率。

实施例 26：用 MAS 激动剂体内治疗不育症

从通过注射 hCG（100.000 IU 人绒毛促性腺激素，SC）诱发最终卵母细胞成熟的那一天起，以 10 mg/kg 的剂量每日向女性患者口服给药化合物 2 次。hCG 可按正常的周期给药。在撤除之前最少 10 天撤除所给药的孕酮，以在患有经闭或者 PCOS（多囊卵巢综合症）的患者中诱发出血以及周期活性，由此可诱发所述周期。或者，hCG 可以是在 IVF 方案中以正常的长期激素刺激的整体部分进行给药（使用促性腺激素拮抗剂进行向下调节，例如 Synarella 鼻腔喷雾剂，然后在 14 天后每日注射 150－225 IU 的 FSH）。

患者是在正常的 IVF 治疗上附加卵子收集、IVF 和胚胎转移而接受上述治疗。或者，该治疗与使用授精或者自然交媾而得到的受精组合使用。

该治疗在非常接近排卵时提高了患者血清的 MAS 激动剂水平，由此可提高卵母细胞成熟质量。所排出的卵子质量通过每日给药化合物诱发减数分裂而得到改善，这又导致更高的受精率、更高的移植前发育、更高的植入率以及最终更高的健康婴儿出生成功率。

实施例 27：用 MAS 激动剂体内治疗不育症

在男性患者中以 10 mg/kg 的剂量连续至少 60 天给药化合物。

该治疗提升了患者的 MAS 激动剂血清水平，这可正面刺激睾丸中的减数分裂过程，并由此随时间提高精子的质量参数。患者的精子质量参数（精子的数量、形态、前进移动性等）单独或者一起得到改善，由此可提高所述人的精子的生育力。

这有以下作用：可避免 ICSI 受精，而且仅得到 IVF 受精，或者在另一个实施方案中，避免 IVF/ICSI 受精，并可通过授精或者自然交媾产生受精。

实施例 28：使用 MAS 激动剂的女性避孕以及早熟卵母细胞成熟的治疗方案

在整个正常的周期中向女性患者每日口服给药 50 mg/kg 剂量的化合物 2 次。该患者所接受的治疗是在正常的 IVF 治疗上附加卵子收集、IVF 和胚胎转移。或者，该治疗与使用授精或者自然交媾而得到的受精组合使用。

该治疗早在排卵发生之前就提升患者的 MAS 血清水平，而且在排卵之前调节卵母细胞的成熟。在排卵时，所得的成熟过度的卵母细胞不

再是可存活的或者不再是能够受精的。没有影响正常的月经周期，而且甾体激素的正常水平以及动力学都没有发生改变。

实施例 29：使用阻断卵巢中减数分裂过程的 MAS 拮抗剂进行女性避孕的治疗方案

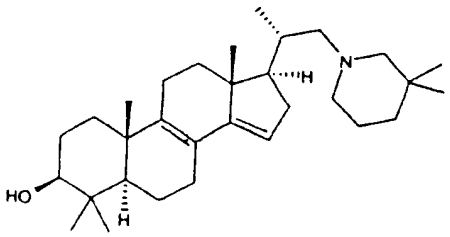
在整个正常的周期中向女性患者每日口服给药 50 mg/kg 剂量的化合物 2 次。

该治疗提升患者中 MAS 拮抗剂的血清水平，这可有效地抑制自然卵母细胞成熟的发生。排卵过程正常进行，而且周期活性仍保持不变。但是，在排卵时，减数分裂停止，而且由此排出不成熟且不可受精的卵母细胞。甾体激素的正常水平和动力学未受到影响，自然周期活性以及每月的月经也没有受到影响。

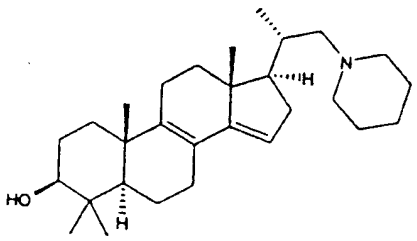
实施例 30：使用阻断睾丸中减数分裂过程的 MAS 拮抗剂进行男性避孕的治疗方案

在至少 60 天中向男性患者每日口服给药 50 mg/kg 剂量的化合物 2 次。在男人中，精子发生的过程需要大约 60－65 天。

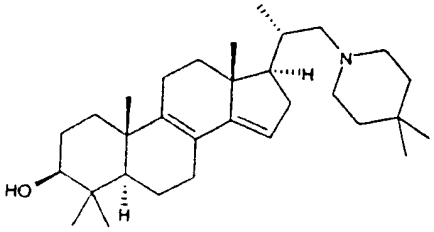
该治疗在受治疗患者的血清中诱发 MAS 拮抗剂的水平，该水平可有效地抑制自然减数分裂过程，特别是在患者的睾丸中导致受精成熟精子的形成。精子形成的过程被抑制，而且仅产生并释放非受精的精子。但是，睾丸的内分泌未受到影响，甾体激素的正常水平和动力学也没有受到影响。



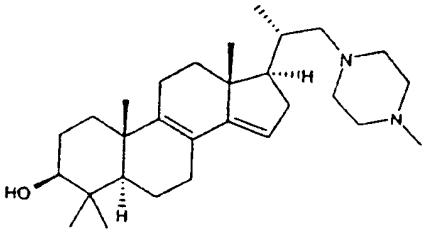
1



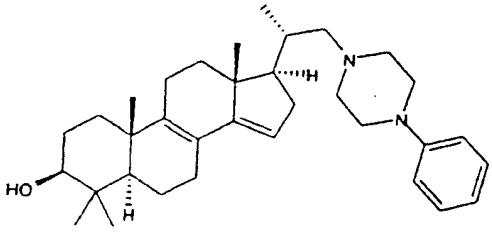
2



3

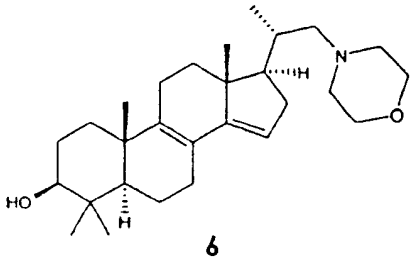


4

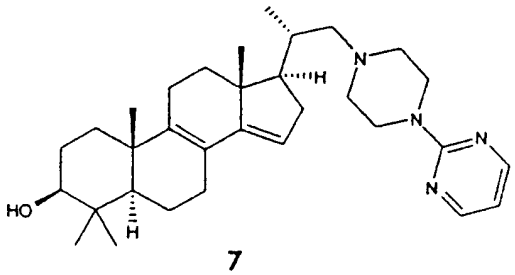


5

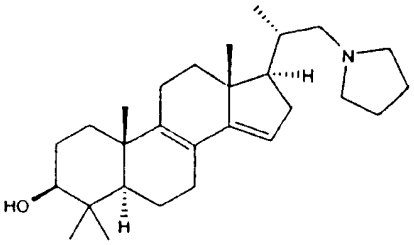
图1A



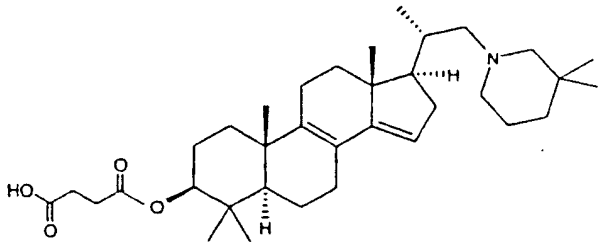
6



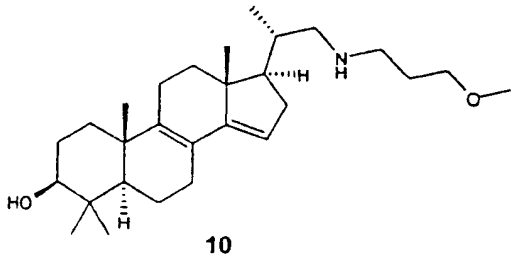
7



8

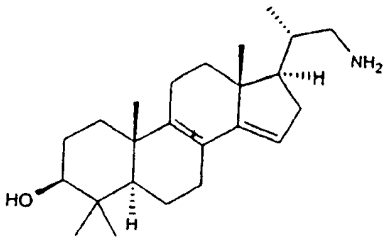


9

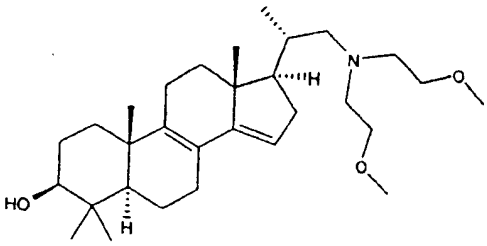


10

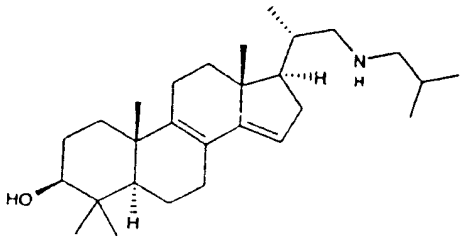
图1B



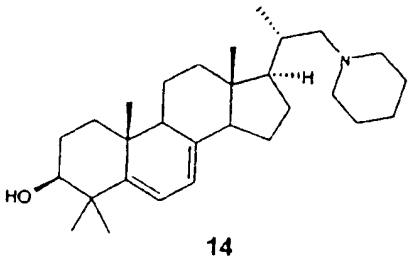
11



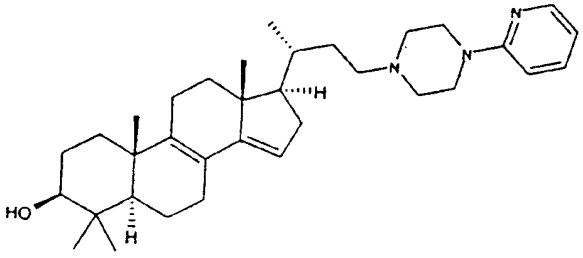
12



13

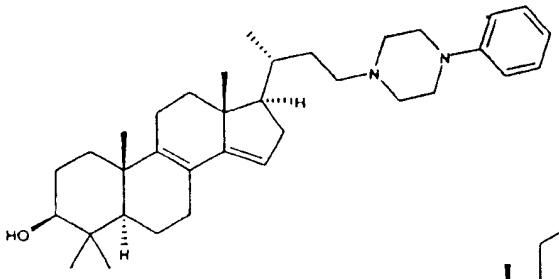


14

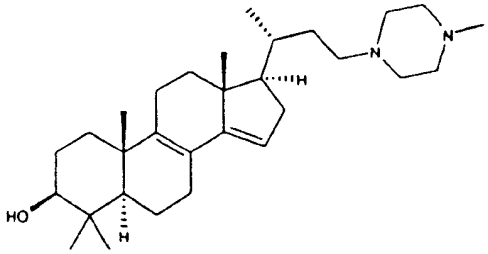


15

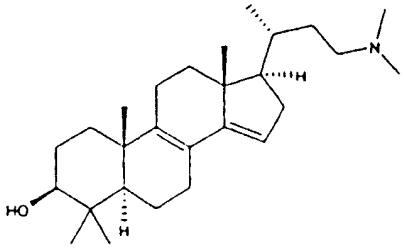
图1C



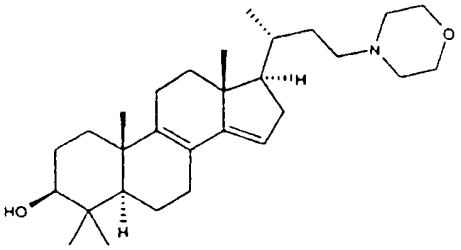
16



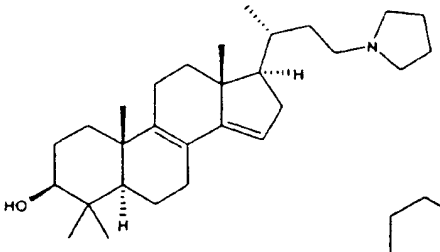
17



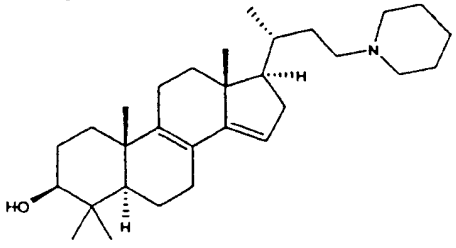
18



19

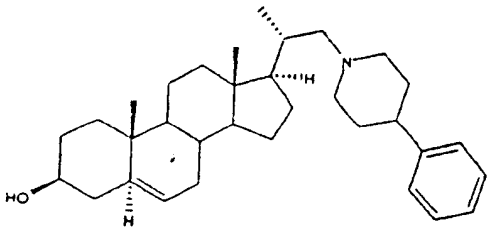


20

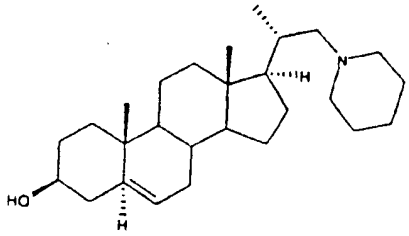


21

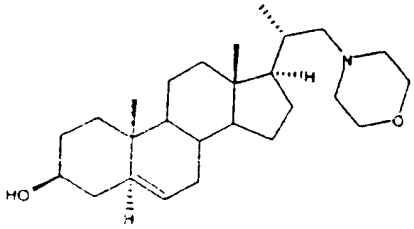
图1D



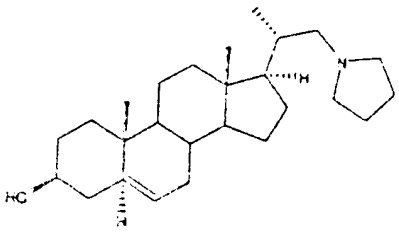
22



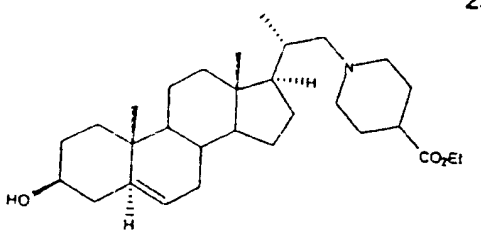
23



24

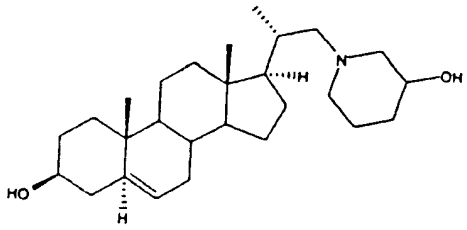


25

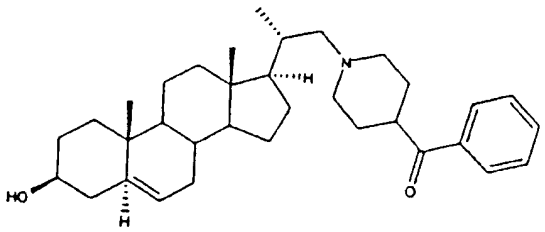


26

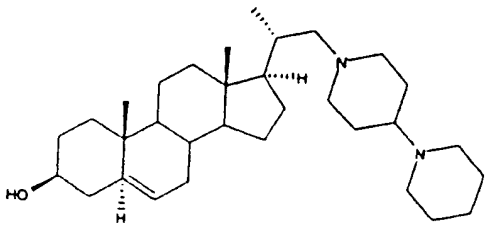
图1E



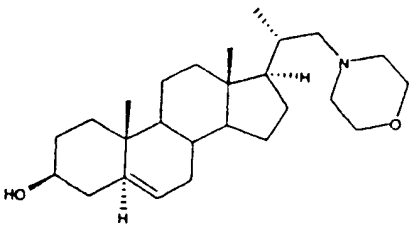
27



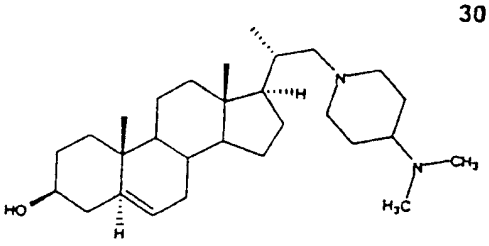
28



29

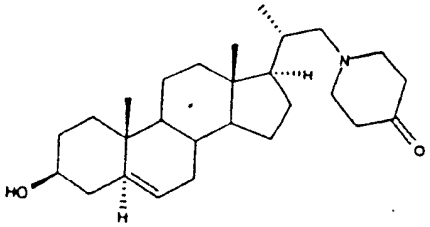


30

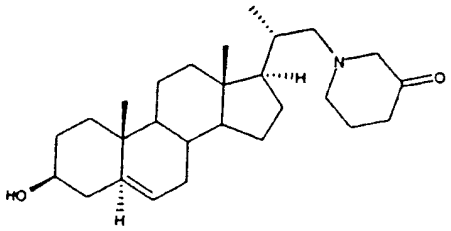


31

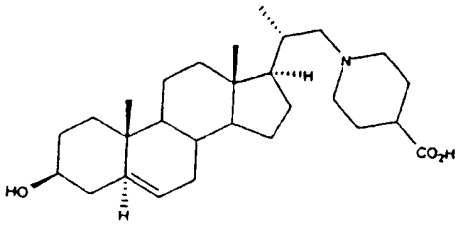
图1F



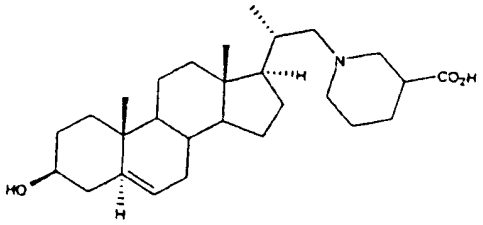
32



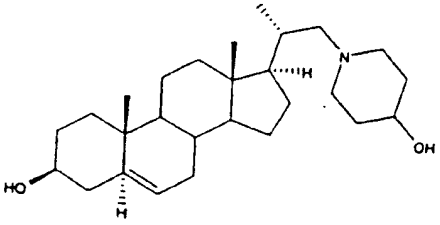
33



34

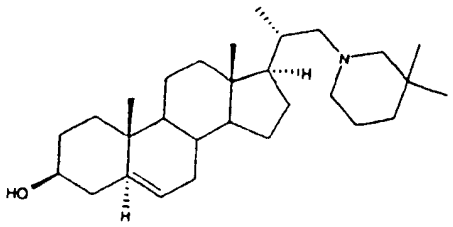


35

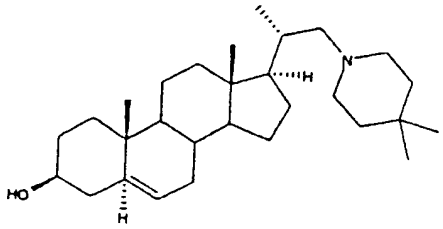


36

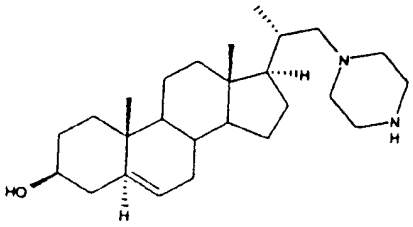
图1G



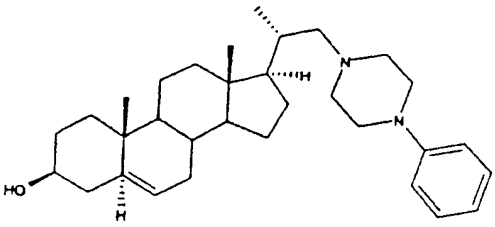
37



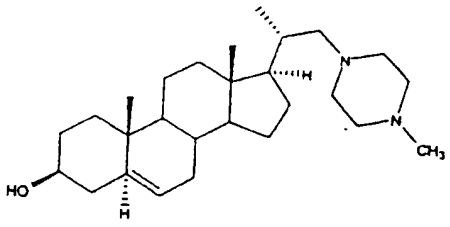
38



39

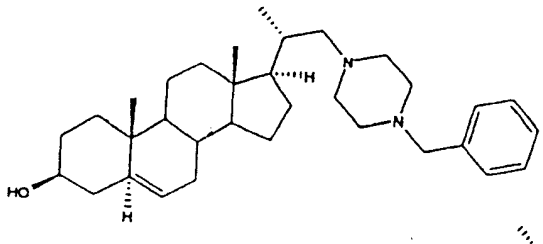


40

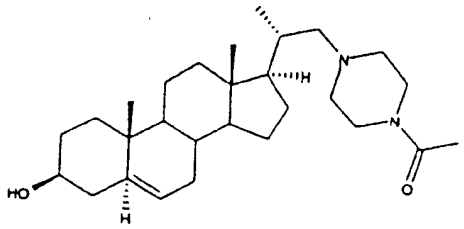


41

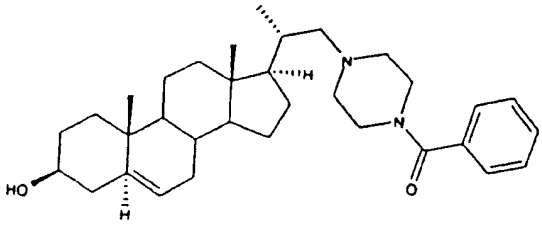
图1H



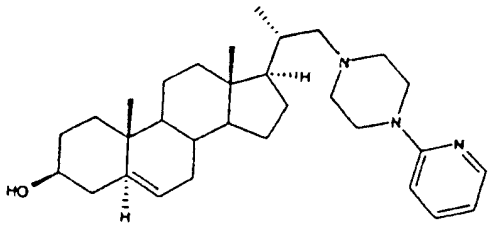
42



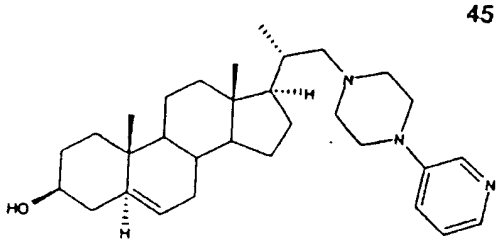
43



44

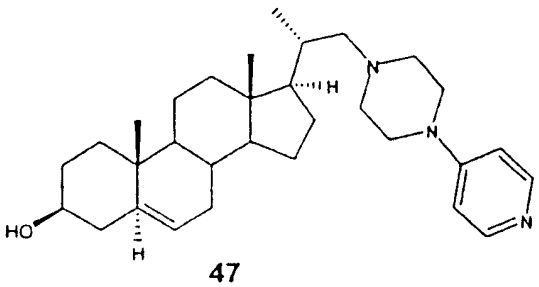


45

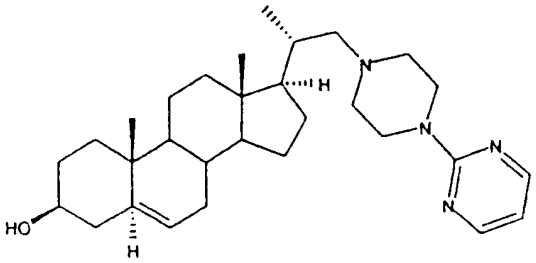


46

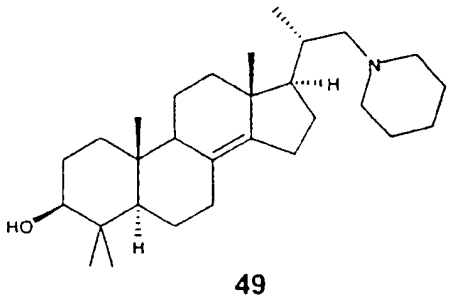
图1I



47



48



49

图1K

合成路线1

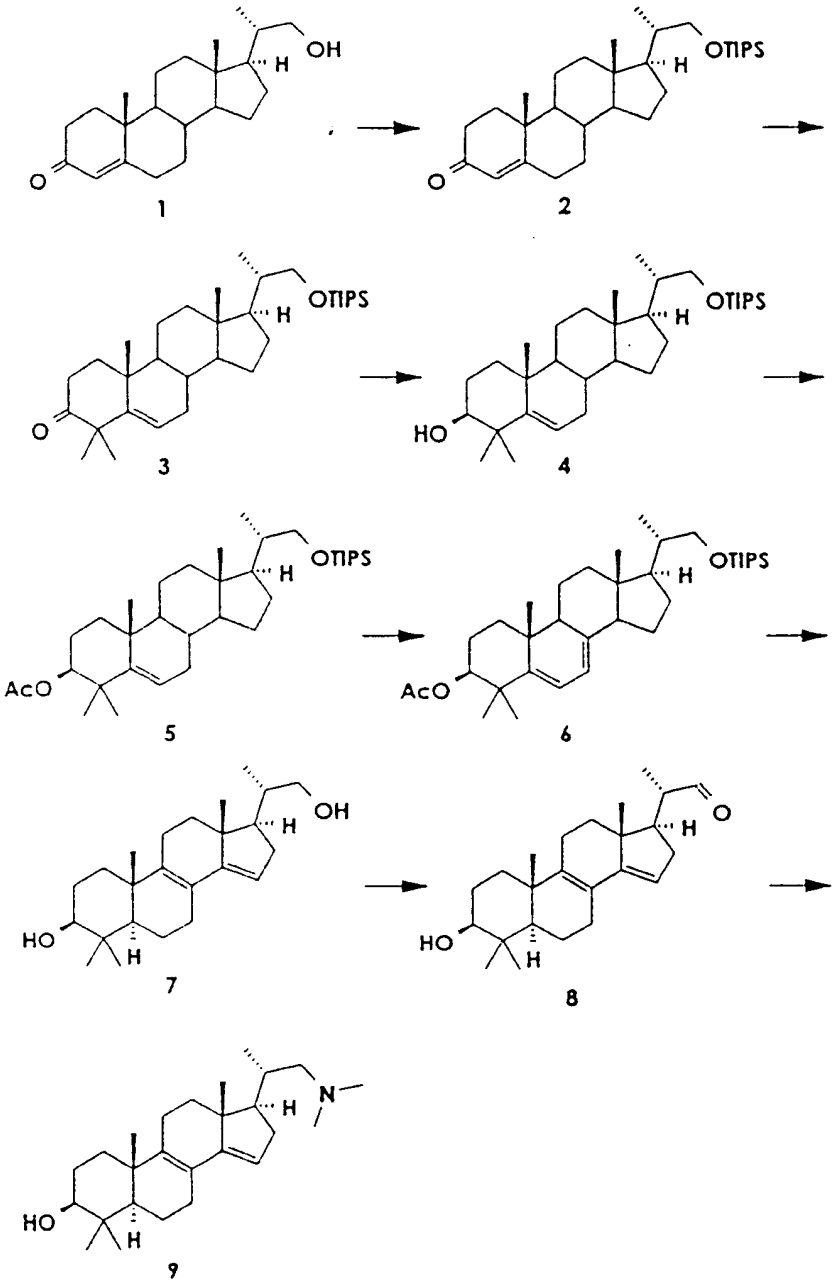

OH
H
O
1
OTIPS
H
O
2
OTIPS
H
O
3
OTIPS
H
HO
4
OTIPS
H
AcO
5
OTIPS
H
AcO
6
OH
H
HO
H
7
O
H
HO
H
8
N
H
HO
H
9

图2

合成路线2

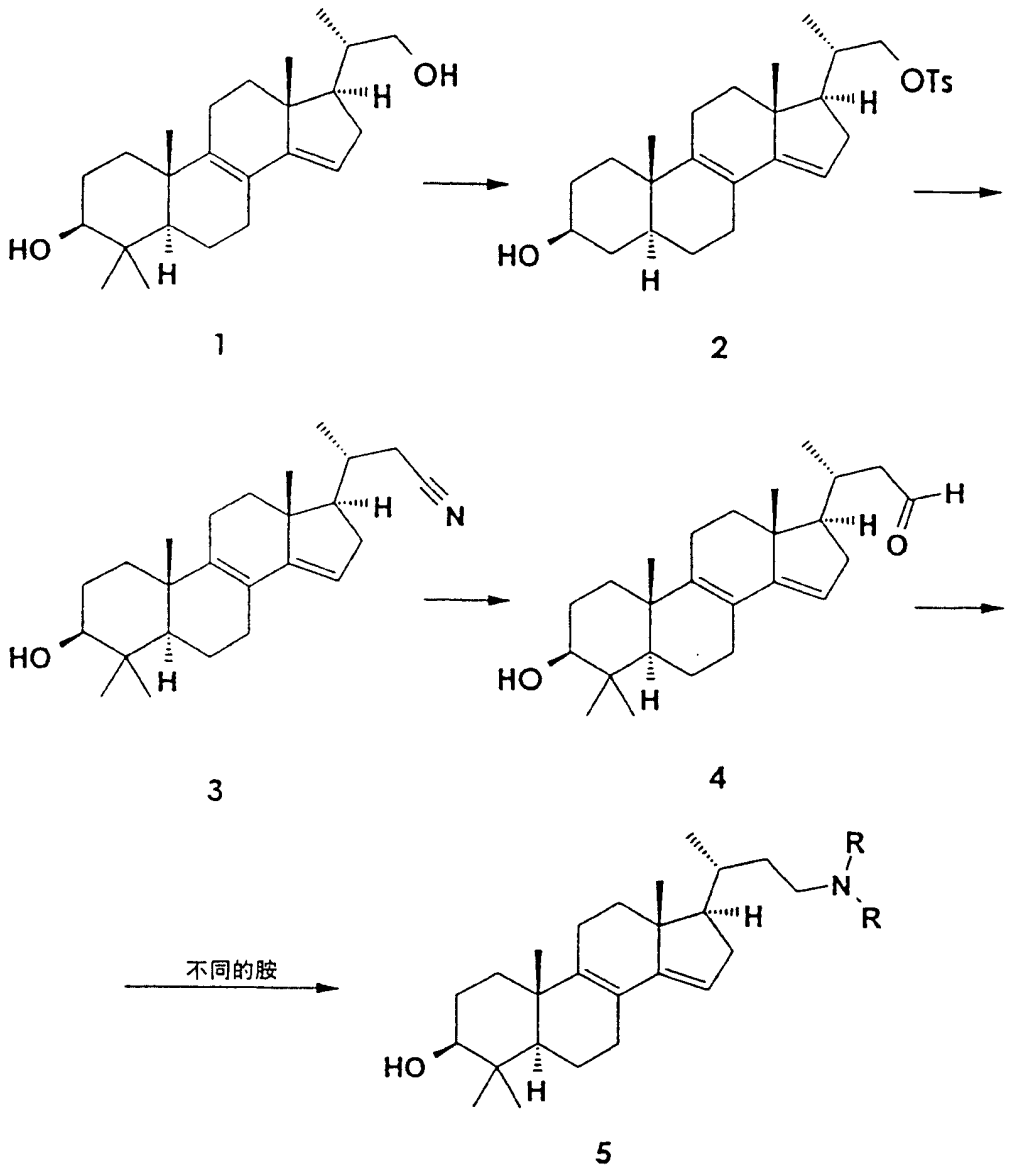


图3