I859343

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I859343 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 10 月 21 日

(21)申請案號：109134997 (22)申請日： 中華民國 109 (2020) 年 10 月 08 日

(51)Int. Cl.： ***A61K31/566 (2006.01)*** ***C07J1/00 (2006.01)***

A61P9/04 (2006.01)

(30)優先權：2019/10/09 歐洲專利局 19202257.2

(71)申請人：美商風樹療法公司 (美國) WINDTREE THERAPEUTICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：塞里 阿爾貝托 CERRI, ALBERTO (IT)；法拉利 帕特里齊亞 FERRARI, PATRIZIA (IT)；費蘭迪 瑪拉 FERRANDI, MARA (IT)；巴拉西 保羅 BARASSI, PAOLO (IT)；比安奇 居瑟普 BIANCHI, GIUSEPPE (IT)；徐士哲 HSU, SHIH-CHE (TW)；佩里 弗朗西斯 PERI, FRANCESCO (IT)；薩薩 安東尼奧 ZAZA, ANTONIO (IT)；洛切蒂 馬塞拉 ROCCHETTI, MARCELLA (IT)；勞拉吉 安德魯 LURAGHI, ANDREA (IT)；托雷 埃莉奧諾拉 TORRE, ELEONORA (IT)；隆奇 卡洛塔 RONCHI, CARLOTTA (IT)

(74)代理人：許麗美

(56)參考文獻：

WO 2007118830A1

審查人員：藍羿軒

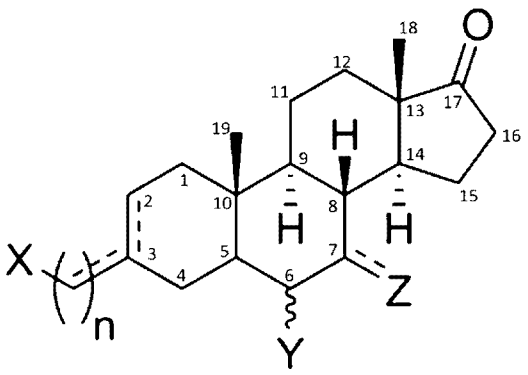
申請專利範圍項數：17 項 圖式數：4 共 156 頁

(54)名稱

用於治療心臟衰竭的具有作為 SERCA2a 的純或顯著純刺激劑的活性的雄烷衍生物

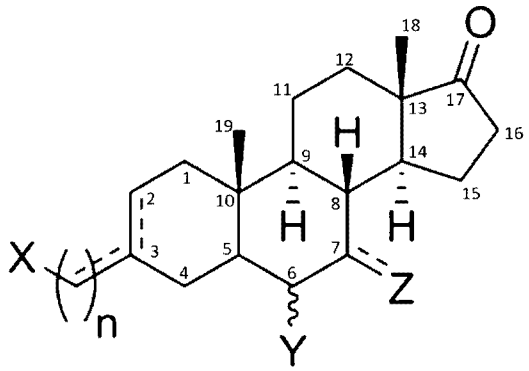
(57)摘要

本發明揭露了用於活化 SERCA2a 的化合物和組合物。具體來說，提供了充當顯著純或純 SERCA2a 活化劑，同時僅適度抑制 Na^+/K^+ATP 酶的化合物。總的來說，所揭露的化合物是具有式(I)的雄烷衍生物。本發明還揭露了用於治療心臟衰竭的包含一種或多種式(I)的化合物的藥物組合物。

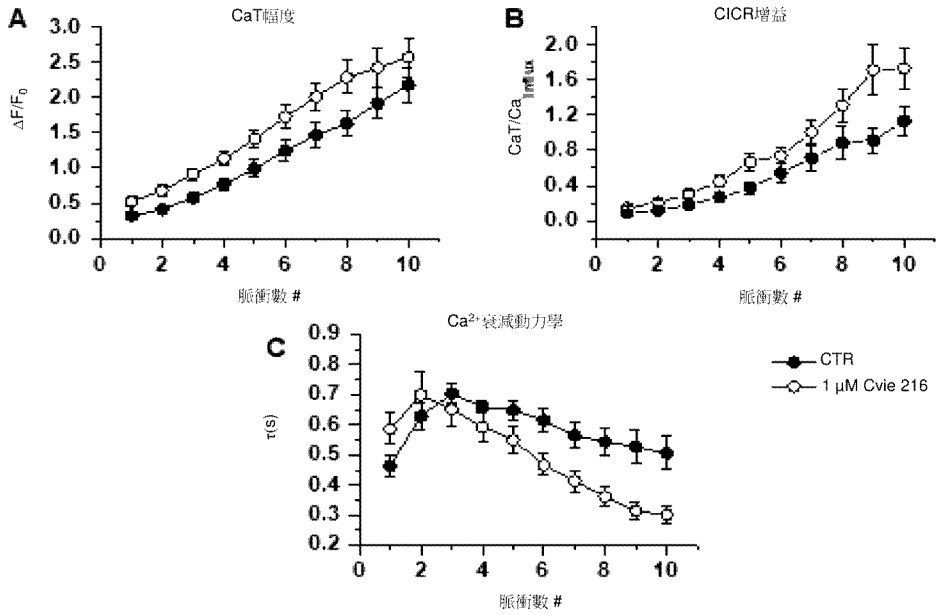


Compounds and compositions for the activation of SERCA2a are disclosed. In particular, provided are compounds that act as predominantly pure or pure SERCA2a activators while only moderately inhibiting

the Na^+/K^+ATPase. In general, the disclosed compounds are derivatives of androstane having the formula (I). Also disclosed herein are pharmaceutical compositions comprising one or more of the compounds of formula (I) for use for the treatment of heart failure.

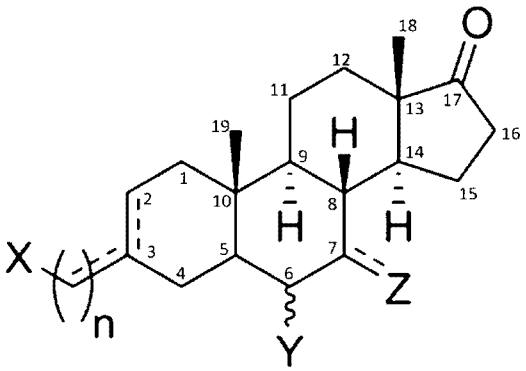


指定代表圖：



【圖1】

特徵化學式：



I859343

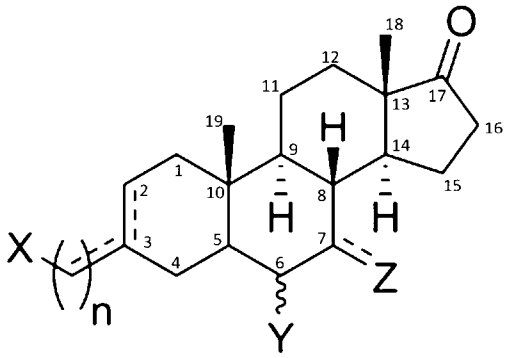
【發明摘要】

【中文發明名稱】用於治療心臟衰竭的具有作為SERCA2a的純或顯著純刺激劑的活性的雄烷衍生物

【英文發明名稱】Androstane derivatives with activity as pure or predominantly pure stimulators of SERCA2a for the treatment of heart failure

【中文】

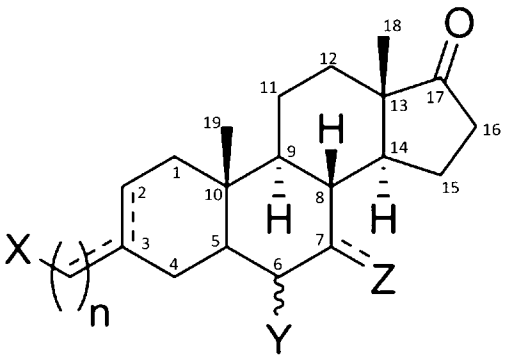
本發明揭露了用於活化SERCA2a的化合物和組合物。具體來說，提供了充當顯著純或純SERCA2a活化劑，同時僅適度抑制Na^+/K^+ ATP酶的化合物。總的來說，所揭露的化合物是具有式(I)的雄烷衍生物。本發明還揭露了用於治療心臟衰竭的包含一種或多種式(I)的化合物的藥物組合物。



【英文】

Compounds and compositions for the activation of SERCA2a are disclosed. In particular, provided are compounds that act as predominantly pure or pure SERCA2a activators while only moderately inhibiting the Na^+/K^+ ATPase. In general, the disclosed compounds are derivatives of androstane having the formula (I). Also

disclosed herein are pharmaceutical compositions comprising one or more of the compounds of formula (I) for use for the treatment of heart failure.

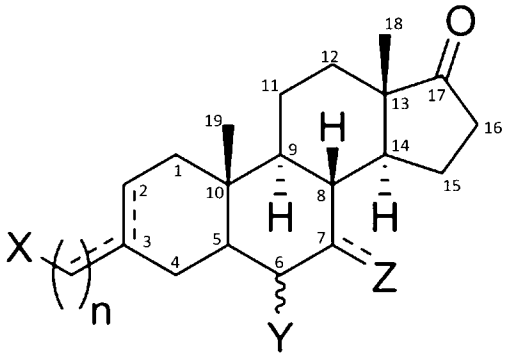


【指定代表圖】　　圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】用於治療心臟衰竭的具有作為SERCA2a的純或顯著純刺激劑的活性的雄烷衍生物

【英文發明名稱】Androstane derivatives with activity as pure or predominantly pure stimulators of SERCA2a for the treatment of heart failure

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於製藥領域，特定而言有關於用於治療急性心臟衰竭的雄烷衍生物。

【先前技術】

【0002】 心臟衰竭（HF）的盛行率是年齡依賴性的，範圍從60歲以下人群的不到2%到75歲以上人群的超過10%（Metra M和Teerlink JR，Lancet 2017, 390:1981-1995）。大多數HF患者具有高血壓、冠狀動脈疾病、心肌病、瓣膜疾病或這些疾病的組合的病史（Metra M和Teerlink JR，Lancet 2017, 390:1981-1995）。計算出的發生HF的終生風險預計將會提高，並且患有高血壓的人處於較高風險下（Lloyd-Jones DM等，Circulation 2002,106:3068–3072）。HF患者具有不良預後，住院率和死亡率高。

【0003】 HF的臨床症狀由心臟的雙重病理特點引起，所述特點包括心肌收縮力異常，其導致心縮期排血減少（收縮功能障礙），以及其中心室從靜脈系統吸取血液的能力受損（舒張功能障礙）的順應性異常。這反過來導致可用於收縮期收縮的血液量減少（左心室（LV）充填受損）。所述受損的收縮和鬆弛是由

作為細胞內鈣(Ca^{2+})庫的肌漿網（SR）的Ca^{2+}攝取減少引起的細胞內Ca^{2+}分佈異常所致（Bers DM等，Ann N.Y. Acad Sci 2006, 1080:165-177）。所述Ca^{2+}攝取由SR膜的Ca^{2+} ATP酶（SERCA2a）操作，這是一種主動膜轉運。SERCA2a活性在生理上受到它與受磷蛋白（PLN）相互作用的限制（Bers DM., Annu Rev Physiol 2008, 70:23-49；MacLennan DH & Kranias EG, Nat Rev Mol Cell Biol 2003, 4(7): 566-577）；這種限制通常透過PLN被蛋白激酶A（PKA）的磷酸化來緩解，這是一個作為HF重塑的結果而被嚴重抑制的信號傳導途徑（Lohse M等，Circ Res 2003, 93:896-906）。因此，SERCA2a功能在衰竭的心肌中受損（Bers DM等，Ann N.Y. Acad Sci 2006, 1080:165-177），並因此是SR的Ca^{2+}攝取減少的主要原因。除了對肌細胞的收縮和鬆弛的影響之外，Ca^{2+}的異常分佈還會促進心律不整（Zaza和Rocchetti，Curr Pharm Des 2015, 21:1053-1061），並且從長遠來看，它透過凋亡來加速肌細胞喪失（Nakayama H等，J Clin Invest 2007, 117:2431-44）。SERCA2a功能下降還提高收縮的能量成本，因為它需要透過Na-Ca交換器（NCX）補償性地增加Ca^{2+}的擠出量，這個過程能量效率較低（Lipskaya L等，Expert Opin Biol Ther 2010, 10:29-41）。大量證據表明，SERCA2a功能的正常化可恢復細胞內Ca^{2+}穩態，並在原位改善心肌細胞和心臟的收縮和鬆弛（Byrne MJ等，Gene Therapy 2008, 15:1550-1557；Sato等，JBC 2001, 276:9392-99）。概括來說，在HF中SERCA2a功能的恢復可以改善心臟鬆弛並可能改善收縮，同時使心律不整、心肌耗氧量和肌細胞死亡降至最低（Lipskaya L等，Expert Opin Biol Ther. 2010, 10:29-41）。這突出了對“純”SERCA2a活化劑的需求。確實，由於Ca^{2+}的螯合改善，SERCA2a活化可以提高SR內用於產生Ca^{2+}波的閾值，對維持所述波的Ca^{2+}誘導的Ca^{2+}釋放施加負反饋（Fernandez-Tenorio M和Niggli E J，Mol Cell Cardiol

2018, 119:87-95）。因此，純或顯著純的SERCA2a活化可能降低心律不整的風險，並因此證明了具有SERCA2a刺激作用的化合物的重要性。

【0004】 總之，能夠單獨增強SERCA2a功能的新型分子可能在HF中改善整體心臟功能。這為尋找具有這種藥效學特徵的新化合物提供了強烈動機。

【0005】 當前的HF長期療法旨在預防“心肌重塑”（例如β-阻斷劑、ACE抑制劑和醛固酮拮抗劑），所述心肌重塑是對收縮性下降的慢性適應不良回應，會擴大初始損傷並成為疾病演變的基礎（Heineke J和Molkentin D，Nat Rev 2006, 7:589-600）。儘管這種方法具有無可爭議的優點，但它並未針對作為定義HF並造成其症狀的功能紊亂的受損的“收縮性”和“鬆弛性”。事實上，特別是在疾病後期，提高心肌收縮性/鬆弛性的藥物（“正性肌力劑/鬆弛劑”）仍被廣泛使用，並且對患者管理至關重要（Metra M和Teerlink JR，Lancet 2017, 390:1981-1995）。這些藥物包括擬交感神經胺類（多巴酚丁胺）和作為具有強血管舒張作用的Ca^{2+}增敏劑的左西孟旦。不幸的是，這些藥劑透過具有潛在有害成分的機制起作用，例如促進威脅生命的心律不整、提高心肌耗氧量以及由於血管舒張引起的血壓下降而造成的已經不足的冠狀動脈血流的受損（Ashkar H, Makaryus AN StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2018 Jan-2017 Dec 19（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470431/）；Gong B.等，J Cardiothorac Vasc Anesth 2015, 29: 1415-25 EDITORIAL）。這限制了正性肌力藥劑在疾病晚期的使用，從而失去了在疾病過程早期提高收縮力的潛在益處。此外，這些藥劑不能改善患者的預後和存活率，並且它們的治療性使用必須被仔細監測（Ashkar H & Makaryus AN, StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2018 Jan-

2017 Dec 19）（Gong B.等， J Cardiothorac Vasc Anesth 2015, 29: 1415-25 EDITORIAL）。

【0006】 在正性肌力藥物中，強心配糖體地高辛這種Na^+/K^+ ATP酶的酶活性的抑制劑，是過去最常用的處方藥物之一。然而，在過去幾十年中它的使用越來越少，這是因為難以將地高辛維持在地高辛在其中表現出有益效果的血清濃度範圍（0.5-0.7 ng/ml）之內而不達到0.9 ng/ml的閾值水準，在高於所述閾值水準時已觀察到主要由心律不整造成的死亡風險提高（Packer M, Journal of Cardiac Failure 2016, 22:726-730；Packer M, Eur J Heart Failure 2018, 20:851-852）。

【0007】 對於具有正性肌力以外的作用機制的HF藥物的開發，也正在進行深入的研究。在許多藥物中，研究最多且正在臨床開發的藥物是：SERELAXIN-重組鬆弛素2介質；ULARITIDE-重組利尿鈉胜肽；OMECAMTIV MECARBIL-心肌肌凝蛋白活化劑；BMS986231-NO供體；ADRECIZUMAB-腎上腺髓質素抑制劑；ANX-042-NP的拼接變體；TD1439-腦啡肽酶（NEP）抑制劑。然而，當在2-3期臨床試驗中評估時，這些新藥劑中沒有一種在沒有安全性問題的情況下達到主要終點。

【0008】 慢性HF（CHF）患者的臨床病程和預後在急性HF（AHF）發作後要差得多（Solomon SD等，Circulation 2007, 116:1482-87）。AHF可以被定義為HF的症狀和病徵的新發作或復發，需要緊急評估和治療，並導致計畫外的護理或住院。一半的AHF患者具有收縮功能降低（HFrEF），代表了未來潛在療法的標靶（Braunwald E. Lancet 2015; 385:812-24）。在射出分率降低（rEF）的患者中用於AHF的療法集中於使用血管擴張劑、利尿劑或超過濾來緩解充血或使用正性肌力藥物提高心臟輸出量。儘管這種治療策略降低了心臟性猝死的風險，但

在因AHF住院的患者中出院後事件發生率仍然高得令人無法接受。現有的療法可以導致許多不想要的心血管副作用，例如由正性肌力療法引起的心肌缺氧、心臟損傷和心律不整，特別是在冠狀動脈疾病（CAD）患者中（Abraham WT等，J Am Coll Cardiol 2005, 46:57–64；Flaherty JD等，J Am Coll Cardiol. 2009, 53(3):254-63），低血壓，以及由血管擴張劑引起的周邊器官（腎臟）低輸注，特別是在具有低血壓的HF患者中。因此，住院期間的主要目標是在不引起心臟及/或腎臟損傷的情況下提高心臟輸出量。此外，幾乎沒有關注對於左心室（LV）舒張鬆弛受損的檢查或治療，這在具有HF但保持EF的剩餘的50%患者中，是導致HF症狀的原因。此外，EF降低的AHF患者也具有心室舒張受損，其對心臟功能的整體衰竭有貢獻。已經開發出各種不同的心臟超音波指數，以在動物模型和HF患者兩者中測量心臟鬆弛能力（例如，早期二尖瓣環形組織速度[e']降低和早期二尖瓣流入[E]減速時間[DT]降低），以及LV填充壓提高的心臟超音波參數（例如E/e'比率）。儘管在某些動物模型和患者中單個指數變化的對應關係不能完全重疊，但它們在心室鬆弛受損的動物模型中的整體變化確實可以轉換到人類病症，並用於研究藥物在AHF中的效果（Shah SA等，Am Heart J 2009, 157:1035-41）。

【0009】 最近已經研究了提高SERCA2a功能的各種治療方法。這些方法包括透過基因轉移引起的SERCA2a過度表達（Byrne等，Gene Therapy 2008, 15:1550-1557）、透過表達具有負顯性的突變體來使PLN去活化（Hoshijima M等，Nat. Med. 2002, 8: 864–871；Iwanaga Y等，J Clin Investig 2004, 113: 727–736）、AdV-shRNA（Suckau L等，Circulation 2009, 119: 1241–1252）、microRNA（Gröbetal等，PLoS One 2014, 9: e92188）或抗體（Kaye DM等，J. Am. Coll. Cardiol. 2007,

50:253–260）。正如由在HF中應用SERCA2a基因遞送的最大的IIb期臨床試驗（CUPID 2）的陰性結果所強調的，這些方法的完全未解決的主要問題在於構建物遞送（病毒載體等）和劑量調整（Hulot JS, Eur Heart J 2016, 19: 1534-1541）。最近已描述了結構上不同於伊司他星(Istaroxime)的抑制PLN的小分子（吡啶酮衍生物）（Kaneko M.等，Eur J Pharmacol 2017, 814:1-7）。

【0010】 因此，小分子SERCA2a活化劑的開發對於治療HF將是有利的，並且仍然代表著非常有前途的策略。

【0011】 伊司他星是一種正在臨床研發中的用於治療AHF的新型小分子藥物。伊司他星被揭露在EP0825197和S. De Munari等（J. Med. Chem. 2003, 64:3644-3654）中，並且是化合物(3Z,5α)-3-[(2-胺基乙氧基)亞胺基]雄烷-6,17-二酮。伊司他星具有抑制Na^+/K^+泵（Micheletti等，J Pharmacol Exp Ther 2002, 303:592-600）並在同時活化SERCA2a（Rocchetti M等，J Pharmacol Exp Ther. 2005, 313:207-15）的雙重作用機制。在相同的收縮變力性水準下，伊司他星的致心律不整作用明顯低於純Na^+/K^+泵抑制劑地高辛（Rocchetti M等，J Pharmacol Exp Ther. 2005, 313:207-15）。這表明透過提高Ca^{2+}從胞質液的清除率（Alemanni, J Mol Cell Cardiol 2011, 50:910-8），SERCA2a刺激也可以使Na^+/K^+泵阻斷的致心律不整作用降至最低（Rocchetti M等，J Pharmacol Exp Ther. 2005, 313:207-15；Zaza和Rocchetti，Curr Parm Des 2015, 21:1053-1061），同時保持其正性肌力作用。在臨床研究中已經證實了伊司他星降低致心律不整作用（Gheorghiade M等，J Am Coll Cardiol 2008, 51:2276-85）。

【0012】 在HF患者中，伊司他星輸注改善了收縮和舒張功能兩者（Horizon研究）（Gheorghiade M等，J Am Coll Cardiol 2008, 51:2276-85；Shah SA等，Am

Heart J 2009, 157:1035-41）。收縮功能的改善被檢測為收縮組織速度（s'）和收縮末期彈性的斜率（ESPVR斜率）的增加；舒張期順應性的提高透過舒張期組織速度（e'）的增加和舒張末期彈性（EDPVR斜率）的降低來揭示（Shah SA等，Am Heart J 2009, 157:1035-41）。

【0013】 儘管具有出色的藥效學特徵，但由於胃腸道（GI）吸收差和清除率高，伊司他星並不是長期給藥的最佳選擇。因此，僅將伊司他星開發用於住院AHF患者中的靜脈輸注，並且其給藥需要訓練有素的醫務人員（Dec GW, J Am Coll Cardiol. 2008, 51:2286-88；Shah SA等，Am Heart J 2009, 157:1035-41）。

【0014】 因此，對用於治療HF的具有正性鬆弛作用並且可以較佳透過口服途徑給藥的化合物，存在著長期需求（Butler J等，Eur J Heart Failure 2018, 20:839-841；Wagner S等，Circ Res 2015, 116:1956-1970；Hasenfuss G和Teerlink JR.，Eur Heart J. 2011, 32(15):1838-45）。

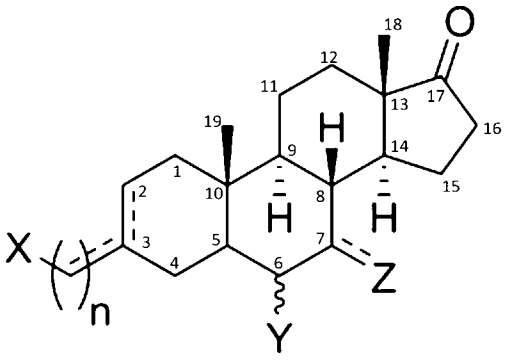
【0015】 改進的舒張功能可能可以透過“純”SERCA2a活化劑來實現。然而，儘管對發現旨在選擇性活化SERCA2a的小分子或基因療法進行了深入研究，但迄今為止尚未獲得有希望的臨床結果。

【0016】 本發明滿足了上述需求並克服了現有技術的問題。

【發明內容】

【0017】 現在已發現，某些雄烷衍生物表現出純或顯著純的SERCA2a活化。換句話說，本文中提供的雄烷衍生物顯著地活化SERCA2a，但不抑制或僅僅輕微抑制Na^+/K^+ ATP酶泵。總的來說，這些雄烷衍生物含有透過碳連接物附連在

碳-3（C3）處的官能基和C6及/或C7處的官能基。這些純或顯著純SERCA2a活化劑的結構具有本文所示的通式(I)：



其中X是羧酸、羧酸酯及其生物電子等排體（例如硫酸酯、磺酸、磷酸酯、膦酸酯和含氮雜環例如三唑和四唑）、一級醇、醚或胺基（例如一級胺、二級胺或環胺）中的任一者；

n是1、2、3、4或5；

C3-C1’虛線表示選擇性的環外雙鍵C=C；

C2-C3虛線表示選擇性的環內雙鍵C=C；

C6處的Y是採取α-或β-構型的羥基（OH）或採取α-構型的羥甲基（CH_2OH）；

C7處的Z是-H或採取α-構型的-OH或酮。所述虛線表示在該位置中選擇性的羰基（C=O）。

【0018】 本文中揭露的化合物可以包括鏡像異構及/或非鏡像異構混合物、它們的藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物或它們的代謝物和代謝前體。

【0019】 在本發明的內文中，代謝物和代謝前體是指已透過代謝反應被轉化，但實質上維持或提高了藥理活性的式(I)的化合物。

【0020】 代謝物或代謝前體的實例是羥化、羧化、磺化、醣化、甲基化或去甲基化、乙醯化、共價連接到葡萄糖醛酸、甘胺酸和其他胺基酸-麩胱甘肽的式(I)的化合物的氧化或還原的衍生物。

【0021】 某些式(I)的化合物、特別是酯類，也可以是活性形式的前驅藥物。

【0022】 在式(I)的化合物可以表現出互變異構現象的情況下，所述結構式意在涵蓋所有的互變異構物；本發明在其範圍內包括所有可能的立體異構物、Z和E異構物、光學異構物、鏡像異構物及其混合物。

【0023】 藥學上可接受的鹽也包括在本發明的範圍內。藥學上可接受的鹽是保留基礎化合物的生物活性，並源自於已知的藥學上可接受的酸例如鹽酸、氫溴酸、硫酸、磷酸、硝酸、福馬酸、琥珀酸、草酸、蘋果酸、酒石酸、馬來酸、檸檬酸、甲磺酸或苯甲酸和本領域中常用的其他酸的鹽，參見例如《製藥用鹽和共晶體》（Pharmaceutical Salts and Co-crystals），主編：Johan Wouters, Luc Quéré, RSC Publishing, 2011。

【0024】 本發明的另一個目的是所述通式(I)的化合物，其用作藥物，特別是用於治療HF。

【0025】 在某些實施例中，所述請求項1的化合物選自下列所組成之群組：(E)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(Z)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(E)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(Z)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(E)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(Z)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(E)-3-(4-胺基丁基)-6α-羥基雄-2-烯-17-酮氫碘酸鹽；3-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥基雄-2-烯-17-酮氫碘酸鹽；(EZ)-3-(4-胺基亞丁基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(E)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(Z)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(6α-羥基-17-酮雄烷-3β-基)乙酸乙酯；4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸；4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸乙酯； 6-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸乙酯；6-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸；(EZ)-3-(5-N-甲基胺基亞戊基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(EZ)-3-[2-(吡咯烷-3-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(EZ)-

3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(EZ)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(EZ)-3-(5-N-甲基胺基亞戊基)-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；3β-[2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(吡咯烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；3β-[2-(吡咯烷-3-基)乙基]6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；和3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮。

【0026】 本發明的另一個目的是包含選擇性地與其他治療活性成分相組合的一種或多種式(I)的化合物的藥物組合物。進而，這些藥物組合物可以被配製成用於口服給藥、靜脈內或肌肉內注射、吸入、玻璃體內注射等。在特定實施例中，本文揭露的藥物組合物被用於治療HF。

【0027】 本發明的上述和其他目的現在也將利用實施例和圖式進行詳細揭露。

【圖式簡單說明】

【0028】 圖1顯示了在從STZ大鼠分離的大鼠心室肌細胞中1 μM CVie216對肌漿網（SR）Ca^{2+}攝取參數的影響（載入方案）。所述SR Ca^{2+}攝取參數包括Ca^{2+}暫態（CaT）幅度（圖面A）、Ca^{2+}誘導的Ca^{2+}釋放（CICR）增益（圖面B）和Ca^{2+}衰減的時間常數（τ）（圖面C）。在圖面A-C中，對照（N=16-18）和CVie216（N=20-23）的曲線之間的差異是統計上顯著的（$p<0.05$，雙向ANOVA）。

【0029】 圖2顯示了在從STZ大鼠分離的大鼠心室肌細胞中1 μM CVie214對肌漿網（SR）Ca^{2+}攝取參數的影響（載入方案）。所述SR Ca^{2+}攝取參數包括Ca^{2+}暫態（CaT）幅度（圖面A）、Ca^{2+}誘導的Ca^{2+}釋放（CICR）增益（圖面B）和Ca^{2+}衰減的時間常數（τ）（圖面C）。對照（N=14）和CVie214（N=11）的曲

線之間的差異在圖面B中是統計上顯著的（$p<0.05$），並且在圖面C中接近顯著（$p=0.05$）。

【0030】 圖3顯示了在豚鼠心室肌細胞中，在各種不同的刺激率（Hz）下CVie216對動作電位（AP）和動作電位持續時間（APD）的短期可變性（STV）的影響。在圖面A中從左至右顯示了在基礎條件下（CTR，實心圓圈；N>13）或在1 μM CVie216存在下（空心圓圈；N>11），90%再極化時下的動作電位持續時間（APD_{90}）（左圖面）、舒張期膜電位（E_{diast}）（中圖面）和最大去極化速度（dV/dt_{max}）（右圖面）的刺激率依賴性。對於所有參數來說，在對照組與CVie216組之間測量到的差異不是統計上顯著的。在圖面B中，顯示了對照（CTR，實心圓圈）和CVie216（空心圓圈）組的STV與平均APD_{90}之間的線性相關性。在每個組中將來自於所有起搏頻率的資料合併，以將STV評估擴展到寬的APD範圍。實線是資料點的線性擬合（對照斜率＝0.013，相比於CVie216斜率＝0.009，NS），以表明CVie216不改變STV對APD延長的敏感性。

【0031】 圖4顯示了在豚鼠心室肌細胞中，在各種不同的刺激率（Hz）下CVie214對動作電位（AP）和動作電位持續時間（APD）的短期可變性（STV）的影響。在圖面A中從左至右顯示了在基礎條件下（CTR，實心圓圈；N>17）或在1 μM CVie214存在下（空心圓圈；N>17），90%再極化時的動作電位持續時間（APD_{90}）（左圖面）、舒張期膜電位（E_{diast}）（中圖面）和最大去極化速度（dV/dt_{max}）（右圖面）的刺激率依賴性。對於所有參數來說，在對照組與CVie214組之間測量到的差異不是統計上顯著的。在圖面B中，顯示了對照（CTR，實心圓圈）和CVie214（空心圓圈）組的STV與平均APD_{90}之間的線性相關性。在每個組中將來自於所有起搏頻率的資料合併，以將STV評估擴展到寬的APD範圍。實

線是資料點的線性擬合（對照斜率＝0.012，相比於CVie214斜率＝0.014，NS），以表明CVie214不改變STV對APD延長的敏感性。

【實施方式】

【0032】 本文揭露了可用於治療心臟衰竭的組合物和方法。具體來說，本文提供了包含新型雄烷衍生物的組合物。此外，本文中描述了一組的新型雄烷衍生物，它們活化SERCA2a，同時僅僅輕微抑制Na^+/K^+ ATP酶泵。被稱為“顯著純”SERCA2a刺激劑的這組雄烷衍生物具有通式(I)，其在C3碳處帶有含有胺的官能基。本文中描述的另一組新型雄烷衍生物表現出強烈的SERCA2a活化並且沒有任何顯著的Na^+/K^+ ATP酶泵抑制。被稱為“純”SERCA2a刺激劑的這組雄烷衍生物具有通式(I)，其在C3碳處帶有透過間隔物連接的含有羧酸/酯的官能基。在其他實施例中，所述通式(I)的顯著純或純SERCA2a刺激劑可以在C3碳處包括含有醇、硫酸酯或磷酸酯的官能基。因此，這些組合物具有正鬆弛性特徵，並且可用於選擇性活化SERCA2a並同時避免Na^+/K^+ ATP酶泵抑制的致心律不整作用。現在將在下文中更詳細描述本文揭露的組合物和方法。

定義

【0033】 除非另有定義，否則本文中使用的所有技術和科學術語都具有與本發明所屬領域的具通常知識者通常理解的相同的含義。除非另有說明，否則使用標準技術。儘管與本文所描述的類似或等同的方法和材料可以用於本揭露的實作或測試，但在下文中描述了適合的方法和材料。所述材料、方法和實例僅僅是說明性的，而非限制性的。本文提到的所有出版物、專利和其他文件整體透過引用併入本文。

【0034】 當在本文中使用時，單數形式包括複數指稱物，除非上下文明確指出不是如此。

【0035】 術語“約”是指由於用於獲得度量的設備的典型誤差率而造成的測量（例如體積、時間、壓力、濃度等）的數值的變動。在一個實施例中，術語“約”意味著在所報告的數值的5%以內，較佳地，術語“約”意味著在所報告的數值的3%以內。

【0036】 術語“心臟衰竭”是指一種臨床綜合症，其特徵在於典型症狀（例如呼吸急促、踝關節腫脹和疲勞）可能伴有由結構性和功能性心臟異常引起的病徵（例如頸靜脈壓升高、肺爆裂音和周邊性水腫），導致在休息時或緊張期間心臟輸出量降低及/或心內壓升高。

【0037】 術語“急性心臟衰竭”或“AHF”在本文中可互換使用，並且通常是指HF的症狀及/或病徵的快速發作或惡化，需要立即治療和住院。當前對“急性心臟衰竭”的定義是相當非特異性的，並可能包括具有以不同的臨床表現、病因、誘發因素、治療方法和預後為特徵的幾種表型的廣泛型病徵。另外，大部分患者具有亞急性病程，並可能在入院前幾天發生HF的病徵和症狀的逐漸惡化。

【0038】 術語“慢性心臟衰竭”或“CHF”在本文中可互換使用，並且是指基於HF的病徵和症狀的存在以及左心室射出分率（LVEF）進行的慢性HF的當前臨床分類，其分為三類：“伴有射出分率降低的心臟衰竭”或“HFrEF”，其特徵是LVEF小於約40%；“伴有中程射出分率的心臟衰竭”或“HFmEF”或“HFmrEF”，其特徵是LVEF為約40%至約49%；以及“伴有保留射出分率的心臟衰竭”或“HFpEF”，其特徵是LVEF等於或大於約50%。術語“HFmrEF”和“HFpEF”包括兩個附加標準；即排鈉利尿胜肽水準提高（BNP> 35 pg/ml及/或NT-proBNP> 125 pg/mL）並伴有結構性及/或功能性心臟病的證據（左心室肥大及/或左心房擴大

及/或舒張功能障礙的證據）。僅在“HFrEF”患者中證實了HF的基於證據的藥物的療效，而在“HfpEF”中沒有任何治療表現出結果的顯著改善。

【0039】 術語“代謝物”和“代謝前體”是指已經透過代謝反應被轉化/修飾，但實質上維持藥理活性或表現出藥理活性增加的化合物。

【0040】 術語“治療”是指疾病或病症的治療或改善的任何成功指標。治療可以包括例如降低或減輕所述疾病或病症的一種或多種症狀的嚴重性，或者可以包括降低個體（例如，人類患者）所經歷的疾病、缺陷、障礙或不良狀況等的症狀的頻率。

【0041】 術語“預防”是指在個體（例如，人類患者）中防止疾病或病症，例如急性心臟衰竭。例如，如果處於發生心臟衰竭的風險中的個體用本發明的方法進行治療並且在晚些時候未發生心臟衰竭，則已在該個體中預防了所述疾病。

【0042】 術語“治療或預防”有時在本文中用於指稱引起疾病或病症的某種水準的治療或改善的方法，並且考慮到了針對該目的的一系列結果，包括但不限於所述病症的完全預防。

【0043】 當在本文中使用時，術語“藥學上可接受的載體”意味著活性化合物（例如，具有通式(I)的雄烷衍生物或其代謝物）可以與它們合併並且在合併後可用於將所述化合物給藥到哺乳動物的化學組合物。

【0044】 當在本文中使用時，術語“藥學上可接受的”的鹽、溶劑化物、水合物或酯是指活性成分的鹽、溶劑化物、水合物或酯形式，其與藥物組合物的任何其他成分相容，對所述組合物待給藥的對象無害。進一步地，術語“藥學上可接受的鹽”指化合物的鹽形式，其保留了基礎化合物的生物活性並且源自於藥學上可接受的酸。

【0045】 當在本文中用於指稱測量心臟功能時，術語“參數”意味著可以使用本領域中可用的適合測量技術觀察或測量的任何心臟功能。心臟功能的示例

性“參數”的非限制性清單包括鈣暫態幅度（CaT），鈣誘導的鈣釋放（CICR），鈣衰減的時間常數，90%再極化時的動作電位持續時間（APD_{90}）、舒張期膜電位（E_{diast}）、最大去極化速度（dV/dt_{max}）的刺激率依賴性，心率，血壓，舒張期鬆馳，收縮期收縮，左心室射出分率（LVEF），舒張壓，收縮壓，心臟輸出量，心搏輸出量，收縮速度（s’），早期鬆弛速度（e’），晚期鬆弛速度（a’），左心室填充壓指數（E/e’），E波減速時間（DT），二尖瓣減速指數（DT/E），減速斜率（E/DT），心臟指數，二尖瓣流入速度等。正如本領域具通常知識者將會認識到的，測量心臟功能的一個或多個“參數”可用於與平均正常“參數”相比而檢測心臟功能障礙，並且也可用於確定在治療後或期間心臟功能是否改善。

【0046】 術語“顯著純”在涉及SERCA2a活化或刺激時，是指具有在無細胞體系（來自於豚鼠、狗、大鼠等的SR心臟微粒體）中以統計上顯著的方式刺激SERCA2a活性的能力同時在所述無細胞體系中僅輕微抑制純化的狗腎Na^+/K^+ ATP酶（即，IC_{50}大於約0.5 μM、較佳地大於約1 μM）的化合物，例如雄烷衍生物。

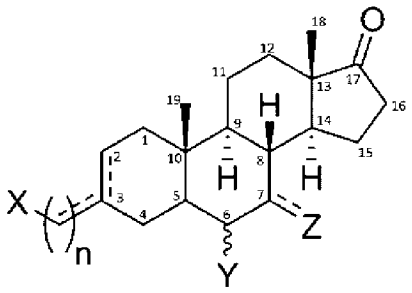
【0047】 術語“純”在涉及SERCA2a活化或刺激時，是指具有在無細胞體系（來自於豚鼠、狗、大鼠等的SR心臟微粒體）中以統計上顯著的方式刺激SERCA2a活性的能力並且不表現出Na^+/K^+ ATP酶泵的顯著抑制（即，IC_{50}大於約100 μM的）的化合物，例如雄烷衍生物。

【0048】 術語“治療活性”或“活性”的成分或化合物是指為所述物質給藥到的個體提供有益效果的物質。“治療有效量”或“治療有效劑量”是組合物或活性成分的量，其足以為所述組合物或活性成分給藥到的個體提供有益效果。

具有顯著純或純SERCA2a刺激活性的雄烷衍生物

【0049】 本發明是基於具有顯著純或純SERCA2a刺激活性的雄烷衍生物的發現。換句話說，這些衍生物表現出SERCA2a刺激和僅僅輕微或無Na^+/K^+ ATP酶泵抑制。

【0050】 這些新的雄烷衍生物在C-3碳處用帶有各種不同的官能基（例如，含有胺或含有羧酸/酯的官能基）的碳連接物官能化。此外，這些新的雄烷衍生物還在C-6及/或C-7碳處用例如羥基、羥甲基、或酮基官能化。較佳地，適合用於本發明的每種新型雄烷衍生物將具有通式(I)：



【0051】 其中X是羧酸、羧酸酯和它們的生物電子等排體（例如，硫酸酯、磺酸、磷酸酯、膦酸酯和含氮雜環例如三唑和四唑）、醇、醚或胺基（例如，一級胺、二級胺或環胺）中的任一者；

【0052】 C6處的碳連接物具有用n表示的一個或多個碳，n是1至5之間的整數（例如，1、2、3、4或5）；

【0053】 虛線表示選擇性的雙鍵（C3-C1’或C2-C3處的C=C）和C7處的C=O；

【0054】 C6處的Y基團是採取α-或β-構型的羥基（OH）或採取α-構型的羥甲基（CH_2OH）；並且

【0055】 C7處的Z基團可以是-H或採取α-構型的-OH或酮（C=O）。

【0056】 在某些實施例中，可能需要顯著純SERCA2a刺激劑。就此而言，適合用於此的雄烷衍生物可以包括其中X是胺官能基（例如，一級胺、二級胺或環胺）的具有通式(I)的衍生物。然而，在某些實施例中，可能希望選擇純SERCA2a刺激劑。就此而言，適合使用的雄烷衍生物可以包括那些具有通式(I)的衍生物，只是X不是胺官能基（例如，一級胺、二級胺或環胺）。在一較佳實施例中，所述純SERCA2a刺激劑具有在X處帶有羧酸或羧酸酯的通式(I)。

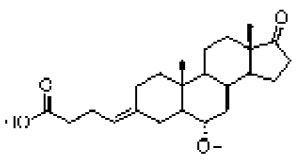
【0057】 較佳地，本文揭露的雄烷衍生物在Z或Y或兩者處含有含氧官能基。

【0058】 也適合用於本發明的是由通式(I)表示的化合物的鏡像異構及/或非鏡像異構混合物，以及它們的藥學上可接受的鹽、溶劑化物及/或水合物和它們的代謝物及/或代謝前體。代謝物或代謝前體的實例包括式(I)化合物的羥化、羧化、磺化、乙醯化、醣化、葡萄糖醛酸化、甲基化或去甲基化、共價連接到麩胱甘肽、甘胺酸或其他胺基酸、被氧化或還原的衍生物。此外，某些式(I)的化合物、特別是酯類，也可以是活性形式的前驅藥物。藥學上可接受的鹽的實例包括但不限於鹽酸、氫溴酸、硫酸、磷酸、硝酸、福馬酸、琥珀酸、草酸、蘋果酸、酒石酸、馬來酸、檸檬酸、甲磺酸或苯甲酸和本領域中常用的其他酸（參見例如《製藥用鹽和共晶體》(Pharmaceutical Salts and Co-crystals)，主編：Johan Wouters, Luc Quéré, RSC Publishing, 2011，其全部內容透過引用併入本文）。

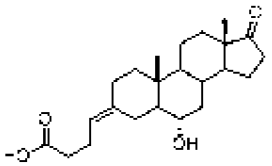
【0059】 在式(I)的化合物可以表現出互變異構現象的情況下，所述結構式意在涵蓋所有的互變異構物，包括但不限於所有可能的立體異構物、Z和E異構物、光學異構物、鏡像異構物及其混合物。

【0060】 適合用於本發明的具體雄烷衍生物包括：

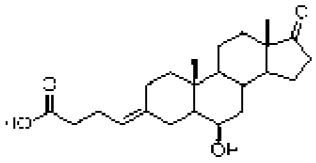
【0061】 (E)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（CVie201）



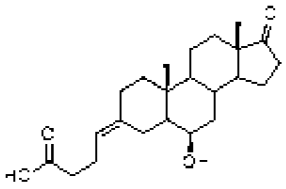
【0062】 (Z)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（CVie202）



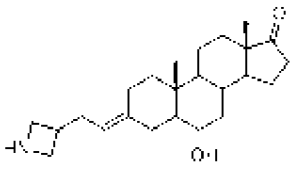
【0063】 (E)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（CVie203）



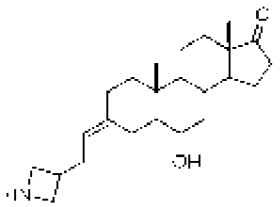
【0064】 (Z)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（CVie204）



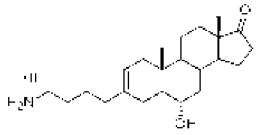
【0065】 (E)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮（CVie205）



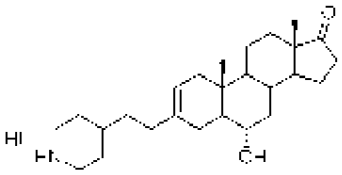
【0066】 (Z)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮（CVie206）



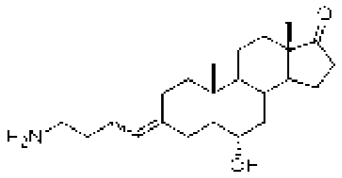
【0067】 (E)-3-(4-胺基丁基)-6α-羥基雄-2-烯-17-酮氫碘酸鹽（CVie207）



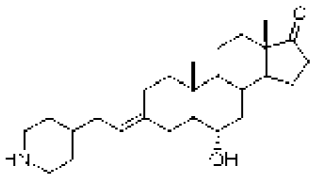
【0068】 3-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥基雄-2-烯-17-酮氫碘酸鹽（CVie208）



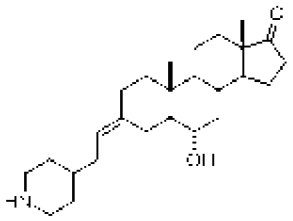
【0069】 (EZ)-3-(4-胺基亞丁基]-6α-羥基雄烷-17-酮（CVie209）



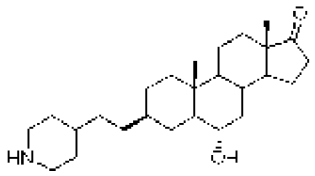
【0070】 (E)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮（CVie210）



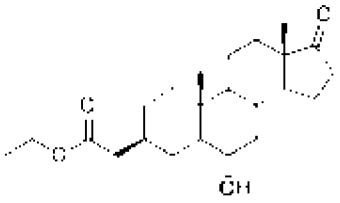
【0071】 (Z)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮（CVie211）



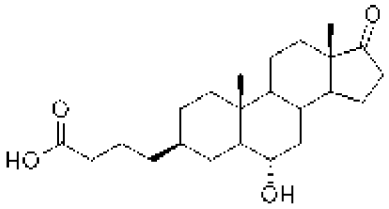
【0072】 3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮（CVie212）



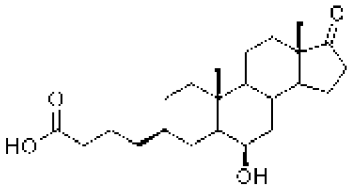
【0073】 (6α-羥基-17-酮雄烷-3β-基)乙酸乙酯（CVie213）



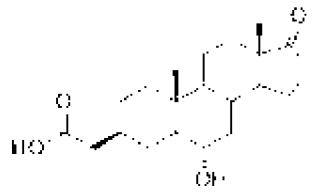
【0074】 4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸（CVie214）



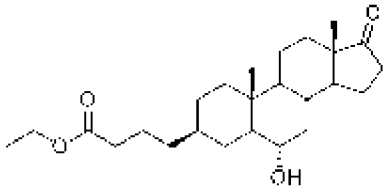
【0075】 4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸（CVie215）



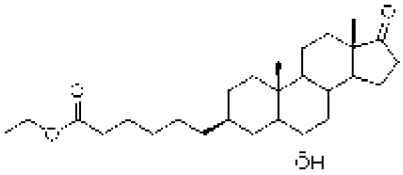
【0076】 2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸（CVie216）



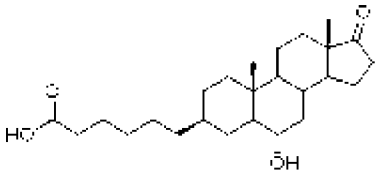
【0077】 4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸乙酯（CVie217）



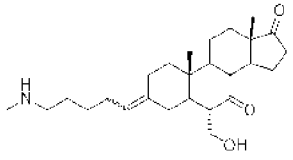
【0078】 6-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸乙酯（CVie218）



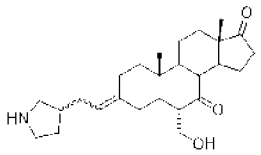
【0079】 6-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸（CVie219）



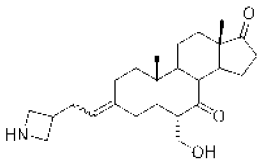
【0080】 (E,Z)-3-(5-N-甲基胺基亞戊基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮（CVie401）



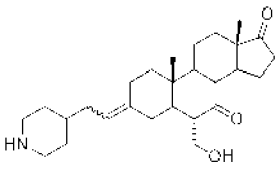
【0081】 (E,Z)-3-[2-(吡咯烷-3-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮（CVie402）



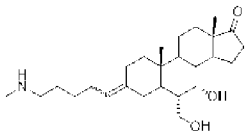
【0082】(E,Z)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮（CVie403）



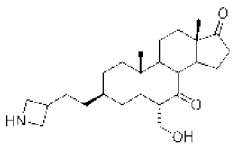
【0083】(E,Z)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮（CVie405）



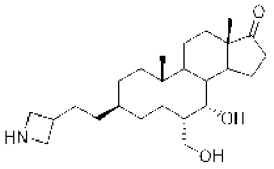
【0084】(E,Z)-3-(5-N-甲基胺基亞戊基)-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮（CVie406）



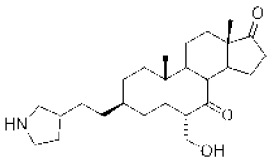
【0085】3β-[2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮（CVie407）



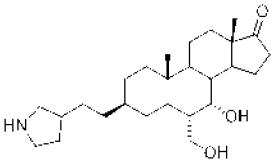
【0086】 3β-[2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮（CVie408）



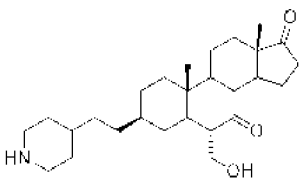
【0087】 3β-[2-(吡咯烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮（CVie409）



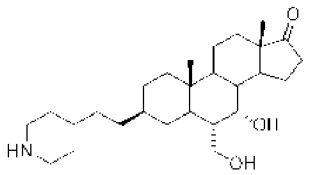
【0088】 3β-[2-(吡咯烷-3-基)乙基]6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮（CVie410）



【0089】 3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮（CVie411）



【0090】 3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮（CVie412）



【0091】 本發明的目的還包括利用所述式(I)的化合物的SERCA2a活化性質來治療、改善、逆轉或廢除或減輕與SERCA2a活化減少相關的疾病例如心臟衰竭（AHF及/或CHF）的症狀，或預防所述疾病。由於有缺陷的細胞內Ca^{2+}分佈在心肌重塑過程中起作用，因此透過SERCA2a刺激對其進行校正可能會抵消它。因此，可以防止收縮性的初始和補償性紊亂演變為明顯的心臟衰竭。

【0092】 正如上文提到的，本文揭露的雄烷衍生物充當純或顯著純SERCA2a活化劑。正如在下文實例中示出的，這些化合物表現出SERCA2a活化。純SERCA2a活化劑（例如，CVie201-204和CVie213-219）不顯著抑制Na^+/K^+ ATP酶。例如，這些化合物對分離的犬腎Na^+/K^+ ATP酶表現出大於100 μM的IC_{50}值（參見實例3）。另一方面，顯著純SERCA2a活化劑（例如，CVie205-212和CVie401-412）僅僅輕微抑制Na^+/K^+ ATP酶。例如，這些化合物對分離的犬腎Na^+/K^+ ATP酶表現出至少0.8 μM的IC_{50}值；較佳地，它們對分離的犬腎Na^+/K^+ ATP酶具有至少1 μM的IC_{50}值（實例3）。此外，所述顯著純SERCA2a活化劑與伊司他星相比表現出低約6倍至約170倍的Na^+/K^+ ATP酶抑制。

【0093】 在某些實施例中，所述顯著純和純SERCA2a活化劑的區別可以在於它們附連到C3碳連接物的相應官能基（即式(I)中的X）。在某些實施例中，所述純SERCA2a活化劑在C3碳連接物處具有羧酸或羧酸酯。在其他實施例中，所述顯著純SERCA2a活化劑在C3碳連接物處具有胺官能基（例如，一級胺、二級胺或環胺）。

【0094】本文中提供的純或顯著純SERCA2a活化劑化合物可用於治療心臟衰竭。這種活化SERCA2a而不顯著抑制Na^+/K^+ ATP酶的能力允許這些化合物為心臟提供鬆弛作用以改善心臟功能，而不提高與Na^+/K^+ ATP酶抑制相關的心律不整或心肌細胞損傷的風險。因此，這些化合物可用作治療心臟衰竭（急性或慢性）的藥物，並用於治療或預防心臟衰竭的方法中。因此，可以使用完全在本領域具通常知識者能力範圍之內的合成和配製技術，將它們包括在被配製以用於不同給藥途徑的藥物組合物中。現在，將更詳細地討論利用本文中揭露的純或顯著純SERCA2a活化劑的藥物組合物和治療性治療方法。

藥物組合物

【0095】作為治療劑的式(I)的化合物可以單獨地或作為藥物製劑（組合物）的成分給藥。因此，本文中揭露了一種藥物組合物，其包含與至少一種藥學上可接受的載體及/或賦形劑混合的式(I)的化合物或本文中揭露的任何特定衍生物。所述藥物組合物可以被配製成用於腸胃外、局部、皮下、肌肉內、口服或透過局部給藥（例如，透過氣溶膠或透皮給藥）到個體。在特定實施例中，所述給藥途徑是口服。

【0096】所述藥物組合物可以以任何方式配製並且可以以各種不同的單位劑型給藥，取決於所述病症或疾病和患病程度、每位患者的總體醫學狀況、最終較佳的給藥方法等。用於配製和給藥的技術的詳情充分描述在科學和專利文獻中，參見例如最新版的《Remington製藥學》（Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co, Easton PA）。

【0097】所述化合物可以被配製成以用於人類用藥或獸藥的任何方便的方式給藥。所述組合物中也可以存在潤濕劑、乳化劑和潤滑劑（例如，月桂基硫

酸鈉和硬脂酸鎂），以及著色劑、脫模劑、包覆劑、甜味劑、調味劑和香味劑、緩衝劑、防腐劑和抗氧化劑。

【0098】 根據本發明的組合物的製劑包括適合於口服、經鼻、局部、腸胃外（例如，透過肌肉內或靜脈內注射）、直腸、皮下及/或陰道內給藥的製劑。所述製劑可以方便地以單位劑型存在，並且可以透過藥學領域中已知的任何方法來製備。可以與載體材料組合以產生單一劑型的活性成分的量將根據待治療的對象及/或具體給藥模式而變。可以與載體材料組合以產生單一劑型的活性成分的量通常是所述化合物的產生治療效果的量。

【0099】 本文提供的藥物製劑可以根據本領域已知的用於藥物製造的任何方法來製備。這樣的製劑可以含有甜味劑、調味劑、著色劑和防腐劑。可以將製劑與適合於製造的無毒藥學上可接受的賦形劑混合。製劑可以包含一種或多種稀釋劑、乳化劑、防腐劑、緩衝劑、賦形劑等，並且可以以諸如液體、粉劑、乳液、凍乾粉劑、噴霧劑、霜劑、洗劑、受控釋放製劑、片劑、丸劑、凝膠、在貼片上、在植入物中等的形式提供。

【0100】 用於口服給藥的藥物製劑可以使用本領域已知的藥學上可接受的載體，以合適且適合的劑量配製。這樣的載體使藥物能夠配製成適合於被患者攝入的單位劑型，例如片劑、凝膠片、丸劑、粉劑、糖衣錠、膠囊、液體、含片、凝膠、糖漿劑、漿液、懸液等。用於口服使用的藥物製劑可以如下配製：使用固體賦形劑，在需要時添加適合的其他化合物後選擇性地研磨得到的混合物並加工所述顆粒混合物，以獲得片劑或糖衣錠核心。適合的固體賦形劑是碳水化合物或蛋白質填充劑，包括例如糖類（包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇）；來自於玉米、小麥、大米、馬鈴薯或其他植物的澱粉；纖維素，例如甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素或羧甲基纖維素鈉；樹膠，包括阿拉伯膠和黃耆膠；以及蛋白

質，例如明膠和膠原蛋白。可以添加崩解劑或增溶劑，例如交聯聚乙烯吡咯烷酮、瓊脂、藻酸或其鹽（例如，藻酸鈉）。

【0101】 為糖衣錠核心提供適合的包覆，例如濃縮糖溶液，其也可以含有阿拉伯膠、滑石粉、聚乙烯吡咯烷酮、卡波姆凝膠、聚乙二醇、二氧化鈦、清漆溶液及/或適合的有機溶劑或溶劑混合物。可以將染料或顏料添加到所述片劑或糖衣錠包覆中，以用於產品識別或表徵活性化合物的量（即劑量）。用於實作本文提供的用途和方法的藥物製劑還可以口服使用，利用例如由明膠製成的推入配合膠囊，以及由明膠和包覆例如甘油或山梨糖醇製成的軟密封膠囊。推入配合膠囊可以含有與填充劑或黏合劑（例如，乳糖或澱粉）、潤滑劑（例如，滑石粉或硬脂酸鎂）以及選擇性的穩定劑混合的活性藥劑。在軟膠囊中，可以將所述活性藥劑溶解或懸浮在含有或不含穩定劑的適合液體（例如，脂肪油、液體石蠟或液體聚乙二醇）中。

【0102】 水性懸液可以含有與適合於製造水性懸液的賦形劑混合的活性藥劑（例如，用於實作本文提供的用途和方法的組合物）。這樣的賦形劑包括懸浮劑，例如羧甲基纖維素鈉、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素、藻酸鈉、聚乙烯吡咯烷酮、黃耆膠和阿拉伯膠；以及分散劑或潤濕劑，例如天然存在的磷脂（例如，卵磷脂）、環氧烷與脂肪酸的縮合產物（例如，聚氧乙烯硬脂酸酯）、環氧乙烷與長鏈脂肪醇的縮合產物（例如，十七乙烯氧基鯨蠟醇）、環氧乙烷與源自於脂肪酸和己糖醇的偏酯的縮合產物（例如，聚氧乙烯山梨糖醇單油酸酯）、或環氧乙烷與源自於脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的縮合產物（例如，聚氧乙烯去水山梨糖醇單油酸酯）。所述水性懸液還可以含有一種或多種防腐劑（例如，對羥基苯甲酸乙酯或正丙酯）、一種或多種著色劑、一種或多種調味劑和一種或多種甜味劑（例如，蔗糖、阿斯巴甜或糖精或赤藻糖醇或萊鮑迪苷A）。可以調整製劑的滲透壓體積莫耳濃度。

【0103】基於油的藥物對於給藥適合於本文提供的用途和方法的疏水性活性藥劑來說特別有用。基於油的懸液可以透過將活性藥劑懸浮在植物油（例如，花生油、橄欖油、芝麻油或椰子油）或礦物油（例如，液體石蠟）或它們的混合物中來配製。參見例如美國專利號5,716,928，其描述了使用精油或精油成分來提高口服給藥的疏水性藥物化合物的生物利用度並降低個體間和個體內可變性；也參見美國專利號5,858,401。所述油懸液可以含有增稠劑，例如蜂蠟、硬石蠟或鯨蠟醇。可以添加甜味劑以提供適口的口服製劑，例如甘油、山梨糖醇或蔗糖、赤藻糖醇或萊鮑迪苷A。這些製劑可以透過添加抗氧化劑例如抗壞血酸來防腐。作為可注射油性載體的實例，參見Minto J., Pharmacol. Exp. Ther. 1997, 281:93-102。本文提供的藥物製劑也可以採取水包油乳液的形式。所述油相可以是如上所述的植物油或礦物油或它們的混合物。適合的乳化劑包括天然存在的樹膠例如阿拉伯膠和黃耆膠，天然存在的磷脂例如大豆卵磷脂，酯類，或源自於脂肪酸和己糖醇酐的偏酯例如去水山梨糖醇單油酸酯，以及這些偏酯與環氧乙烷的縮合產物例如聚氧乙烯去水山梨糖醇單油酸酯。所述乳液也可以含有甜味劑和調味劑，如在糖漿和酏劑的配製中那樣。這樣的製劑還可以含有緩和劑、防腐劑或著色劑。

【0104】根據本發明，所述藥物化合物還可以透過鼻內、眼內和陰道內途徑給藥，包括栓劑、吸入劑、粉劑和氣溶膠製劑（例如，類固醇吸入劑，參見Rohatagi, J. Clin. Pharmacol. 1995, 35:1187-1193；Tjwa, Ann. Allergy Asthma Immunol. 1995, 75:107-111，其每一者的內容整體透過引用併入本文）。栓劑製劑可以透過將藥物與適合的無刺激性賦形劑混合來製備，所述賦形劑在常溫下為固體，但在體溫下為液體，因此將在體內融化以釋放出所述藥物。這樣的材料是可可脂和聚乙二醇。

【0105】根據本發明，所述藥物化合物可以被配製成塗藥棒、溶液、懸液、乳液、凝膠、霜劑、軟膏、糊劑、膠凍、塗料、粉劑和氣溶膠，透過局部途徑透皮遞送。

【0106】根據本發明，式(I)的藥物化合物可以透過吸入來遞送；例如，在替代性實施例中，用於吸入的式(I)的化合物被製備成用於乾式分散，例如透過將含有活性成分（即式(I)的化合物）的溶液噴霧乾燥，例如使用在美國專利號6,509,006、6,592,904、7,097,827和6,358,530中描述的方法，每個所述專利的內容整體透過引用併入本文。示例性的乾粉賦形劑包括低分子量碳水化合物或多肽，將其與式(I)的化合物混合以幫助分散。在替代性實施例中，可作為載體用於乾粉分散的藥物賦形劑的類型包括穩定劑例如人血清白蛋白（HSA），其也是有用的分散劑；增量劑，例如碳水化合物、胺基酸和多肽；pH調節劑或緩衝劑；鹽類例如氯化鈉；等等。這些載體可以採取結晶或非晶形形式，或者可以是兩者的混合物。可用於遞送粉劑或氣溶膠製劑的裝置包括例如在美國專利號5,605,674和7,097,827中描述的裝置。

【0107】根據本發明，所述藥物化合物也可以作為奈米粒子或微球遞送，用於在體內緩慢釋放。例如，奈米粒子或微球可以透過在皮下緩慢釋放的藥物的真皮內或皮下注射來給藥，參見Rao J., Biomater, Sci. Polym. Ed. 1995, 7:623-645；作為可生物降解和可注射的凝膠製劑來給藥，參見例如Gao, Pharm. Res. 1995, 12:857-863；或作為用於口服給藥的微球來給藥，參見例如Eyles, J. Pharm. Pharmacol. 1997, 49:669-674，每個所述文獻的全部內容整體透過引用併入本文。

【0108】根據本發明，式(I)的藥物化合物可以腸胃外給藥，例如透過肌肉內（IM）或靜脈內（IV）給藥，或給藥到體腔或器官內腔中。這些製劑可以包含溶解在藥學上可接受的載體中的活性藥劑的溶液。可以使用的可接受的載體和溶劑是水、右旋糖水溶液和林格氏溶液，後者是等滲氯化鈉溶液。此外，可以

使用無菌不揮發油作為溶劑或懸浮介質。為此目的，可以使用任何溫和不揮發油，包括合成的甘油單酯或甘油二酯。另外，脂肪酸例如油酸同樣可以用於注射劑的製備。這些溶液是無菌的，並且通常不含不想要的物質。這些製劑可以透過習用的已知滅菌技術進行滅菌。所述製劑可以含有用於接近生理條件所需的藥學上可接受的輔助物質，例如pH調節劑和緩衝劑、毒性調節劑，例如乙酸鈉、氯化鈉、氯化鉀、氯化鈣、乳酸鈉等。這些製劑中活性藥劑的濃度可以廣泛地變化，並且將根據所選的特定給藥方式和患者的需要，主要基於體液量、粘度、體重等進行選擇。對於IV給藥來說，所述製劑可以是無菌注射製劑，例如無菌可注射水性或油性懸液。這種懸液可以使用適合的分散劑或濕潤劑和懸浮劑來配製。所述無菌注射製劑也可以是在無毒的腸胃外可接受的稀釋劑或溶劑例如1,3-丁二醇溶液中的懸液。給藥可以透過單次快速注射或連續輸注（例如，在特定時間段內實質上不間斷地引入到血管中）來進行。

【0109】 本文提供的藥物化合物和製劑可以被冷凍乾燥。提供了包含本文提供的組合物的穩定的凍乾製劑，其可以透過將包含本文提供的藥物和填充劑（例如，甘露醇、海藻糖、棉子糖和蔗糖或其混合物）的溶液冷凍乾燥來製備。還存在許多其他習知的凍乾劑。在糖中，乳糖是最常用的。還使用檸檬酸、碳酸鈉、EDTA、苯甲醇、甘胺酸、氯化鈉等（參見例如Journal of Excipients and Food Chemistry Vol. 1, Issue 1 (2010) pp 41-54；美國專利申請公開號20040028670）。

治療方法

【0110】 根據本發明，本文提供的式(I)的化合物可用於預防性及/或治療性治療。在治療應用中，將藥物組合物以治療有效量給藥到已患有病症或疾病的對象。在其他實施例中，將本文提供的藥物組合物在需要的個體中以足以治療、預防或改善所述病症或疾病的量給藥。用於此用途的劑量安排和有效量（即“給藥

方案”）將取決於各種不同因素，包括疾病或病症的階段、疾病或病症的嚴重程度、患者健康的總體狀態、患者的身體狀況、年齡等。在計算患者的給藥方案時，還應考慮給藥方式。

【0111】 在特定實施例中，所述式(I)的化合物用於治療患有心臟衰竭的個體。在較佳實施例中，所述個體表現出急性心臟衰竭的症狀或已被診斷為患有急性心臟衰竭。儘管所述個體可以是非人類動物，但在較佳實施例中，所述個體是人類患者，例如患有心臟衰竭的人類患者。在其他實施例中，本文提供的化合物用於在個體中刺激SERCA2a。

【0112】 通常，本文描述的式(I)的化合物和藥物組合物可用於治療心臟衰竭或急性心臟衰竭。治療方法包括提供或呈現患有心臟衰竭或急性心臟衰竭的個體。在某些情況下，首先進行測量步驟以確定所述個體的基線心臟功能。所述測量步驟可以包括測量一種或多種心臟功能參數，例如但不限於心率、血壓、舒張期鬆馳、收縮期收縮、左心室射出分率（LVEF）、舒張壓、收縮壓、心臟輸出量、心搏輸出量、收縮速度（s’）、早期鬆弛速度（e’）、晚期鬆弛速度（a’）、左心室填充壓指數（E/e’）、E/Ea或E/A比率、Ea比率、E波減速時間（DT）、二尖瓣減速指數（DT/E）、減速斜率（E/DT）、心臟指數、二尖瓣流入速度等。在患有心臟衰竭或心臟功能受損的個體中，所述測量到的參數可以包括心率降低、心臟壓力降低、收縮及/或舒張壓降低、左心室舒張/收縮末期容積和功能（LVEF）降低或E/Ea或E/A比率提高、Ea比率降低、心搏輸出量降低中的一者或多者。所述測量步驟也可用於確定所述藥物組合物的給藥的有效性（即心臟功能的恢復或部分恢復），及/或在治療期間監測所述個體的狀況。因此，所述測量步驟可以在所述藥物組合物給藥之前、期間或之後進行。正如本領域具通常知識者將會認識到的，在所述測量步驟時，本領域中可用的任何適合的測量技術均適合用於本發明，並且選擇對應於感興趣的參數的適合的測量技術完全在這些專

業技術人員的能力範圍之內。適合的測量設備/技術的非限制性清單包括血液測試、心臟超音波（包括組織都卜勒成像）、心導管插入術、核壓力測試、CAT掃描、放射性核素心室造影掃描、聽診器、血壓計等。例如，舒張期鬆馳可以透過心臟超音波或PCWP來測量。

【0113】 本文揭露的方法還包括向所述個體給藥一治療有效量的通式(I)的化合物。在較佳實施例中，所述化合物在藥物組合物中，例如上文討論的任一組合。所述化合物以本文中別處揭露的治療有效劑量給藥，例如約1 mg/kg至約20 mg/kg的劑量。在更較佳實施例中，給藥途徑是口服。所述測量步驟可以在所述給藥步驟之前、期間或之後進行。例如，可能希望在治療期間和隨後的一段時間內連續監測一種或多種心臟功能參數。

【0114】 所述給藥方案也將本領域中已知的藥物動力學參數考慮在內，即所述活性藥劑的吸收速率、生物利用度、代謝、清除等(參見例如Hidalgo-Aragones (1996) J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 58:611-617；Groning (1996) Pharmazie 51:337-341；Fotherby (1996) Contraception 54:59-69；Johnson (1995) J. Pharm. Sci. 84:1144-1146；Rohatagi (1995) Pharmazie 50:610-613；Brophy (1983) Eur. J. Clin. Pharmacol. 24:103-108；最新的《Remington製藥學》，同上）。當前技術水準允許臨床醫生針對每個個體患者、活性藥劑和所治療疾病或病症確定給藥方案。為用作藥物的類似組合物提供的指南可作為指導，用於確定被給藥以實作本文中提供的方法的給藥方案（即，劑量方案和劑量水準）是正確且適當的。

【0115】 取決於患者所需和耐受的劑量和頻率，可以進行製劑的單次或多次給藥。所述製劑應當提供足夠量的活性藥劑，以有效治療、預防或改善本文中所描述的病症、疾病或症狀。例如，用於實作本文提供的方法和用途的組合物的用於口服給藥的示例性藥物製劑的每日量，可以是每日約1至約20、50、100或1000或更多μg/kg體重之間或等同量的其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物。

【0116】在替代性實施例中，對有此需要的個體給藥的式(I)的化合物的有效量或其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物的等同量，包括使用各種不同的給藥計畫，例如：A）在AHF的情況下，為了挽救住院患者，可以將式(I)的化合物透過靜脈內輸注給藥12h、24h、48h、72h或更長時間，並使用每分鐘0.1或0.5至約10、50或100或更多μg/kg體重範圍內的劑量；B）在已從AHF挽救和出院的患者中，維持治療效果的給藥計畫可以是1、10、50或100或1000或更多μg/kg體重的每日量。

【0117】可用於實作本發明的式(I)的化合物可以被給藥，以作為單次快速注射遞送1 ng/kg至50 mg/kg體重的劑量，或遞送1 μg至約20 mg之間的口服或靜脈內劑量，或以重複方式遞送，或其組合，正如專業技術人員容易確定的。在某些實施例中，所述劑量包括以每日計或以另一種適合的週期方案計至少0.05 mg/kg、0.1 mg/kg、或至少0.2 mg/kg、或至少0.3 mg/kg、或至少0.4 mg/kg、或至少0.5 mg/kg、或至少0.6 mg/kg、或至少0.7 mg/kg、或至少0.8 mg/kg、或至少0.9 mg/kg、或至少1 mg/kg、或至少2 mg/kg、或至少3 mg/kg、或至少4 mg/kg、或至少5 mg/kg、或至少6 mg/kg、或至少7 mg/kg、或至少8 mg/kg、或至少9 mg/kg、或至少10 mg/kg、或至少15 mg/kg、或至少20 mg/kg、或至少25 mg/kg、或至少30 mg/kg、或至少35 mg/kg、或至少40 mg/kg、或至少45 mg/kg、或至少50 mg/kg。

【0118】在一個實施例中，本發明設想了以治療有效劑量靜脈內或皮下給藥本文中描述的通式(I)的化合物，所述治療有效劑量是約0.125 mg/kg至約10 mg/kg之間，例如0.125 mg/kg、0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、0.75 mg/kg、1 mg/kg、1.25 mg/kg、1.5 mg/kg、1.75 mg/kg、2 mg/kg、2.25 mg/kg、2.5 mg/kg、2.75 mg/kg、3 mg/kg、3.25 mg/kg、3.5 mg/kg、3.75 mg/kg、4 mg/kg、4.25 mg/kg、4.5 mg/kg、4.75 mg/kg、5 mg/kg、5.25 mg/kg、5.5 mg/kg、5.75 mg/kg、6 mg/kg、6.25 mg/kg、6.5 mg/kg、6.75 mg/kg、7 mg/kg、7.25 mg/kg、7.5 mg/kg、7.75 mg/kg、8 mg/kg、

8.25 mg/kg、8.5 mg/kg、8.75 mg/kg、9 mg/kg、9.25 mg/kg、9.5 mg/kg、9.75 mg/kg或10 mg/kg。在較佳實施例中，所述化合物以約0.25 mg/kg至約5 mg/kg之間的治療有效劑量，透過靜脈內或皮下遞送方式（例如，注射或輸注）給藥。在另一個實施例中，所述治療有效劑量在約0.5 mg/kg至約5 mg/kg之間。在又一個實施例中，所述治療有效劑量在約0.5 mg/kg至4 mg/kg之間或約0.5 mg/kg至約3 mg/kg之間。

【0119】 在另一個實施例中，本發明設想了以治療有效劑量肌肉內給藥本文中描述的具有通式(I)的化合物，所述治療有效劑量在約0.25 mg/kg至約50 mg/kg之間，例如0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg、1.5 mg/kg、2 mg/kg、2.5 mg/kg、3 mg/kg、3.5 mg/kg、4 mg/kg、4.5 mg/kg、5 mg/kg、5.5 mg/kg、6 mg/kg、6.5 mg/kg、7 mg/kg、7.5 mg/kg、8 mg/kg、8.5 mg/kg、9 mg/kg、9.5 mg/kg、10 mg/kg、10.5 mg/kg、11 mg/kg、11.5 mg/kg、12 mg/kg、12.5 mg/kg、13 mg/kg、13.5 mg/kg、14 mg/kg、14.5 mg/kg、15 mg/kg、15.5 mg/kg、16 mg/kg、16.5 mg/kg、17 mg/kg、17.5 mg/kg、18 mg/kg、18.5 mg/kg、19 mg/kg、19.5 mg/kg、20 mg/kg、20.5 mg/kg、21 mg/kg、21.5 mg/kg、22 mg/kg、22.5 mg/kg、23 mg/kg、23.5 mg/kg、24 mg/kg、24.5 mg/kg、25 mg/kg、26 mg/kg、27 mg/kg、28 mg/kg、29 mg/kg、30 mg/kg、31 mg/kg、32 mg/kg、33 mg/kg、34 mg/kg、35 mg/kg、36 mg/kg、37 mg/kg、38 mg/kg、39 mg/kg、40 mg/kg、41 mg/kg、42 mg/kg、43 mg/kg、44 mg/kg、45 mg/kg、46 mg/kg、47 mg/kg、48 mg/kg、49 mg/kg或50 mg/kg。在較佳實施例中，將雄烷衍生物以約0.25 mg/kg至約35 mg/kg之間的治療有效劑量透過肌肉內遞送方式（例如，注射）給藥。在另一個實施例中，所述治療有效劑量在約0.25 mg/kg至30 mg/kg之間。在又一個實施例中，所述治療有效劑量在約0.25 mg/kg至10 mg/kg之間。在其他實施例中，所述治療有效劑量在約0.25 mg/kg至5 mg/kg之間。

【0120】在又一個實施例中，本發明設想了以治療有效劑量玻璃體內給藥本文中描述的具有通式(I)的化合物，所述治療有效劑量在約1 μg至約10 mg之間，例如1 μg、1.25 μg、1.5 μg、1.75 μg、2 μg、2.25 μg、2.5 μg、2.75 μg、3 μg、3.25 μg、3.5 μg、3.75 μg、4 μg、4.25 μg、4.5 μg、4.75 μg、5 μg、5.25 μg、5.5 μg、5.75 μg、6 μg、6.25 μg、6.5 μg、6.75 μg、7 μg、7.25 μg、7.5 μg、7.75 μg、8 μg、8.25 μg、8.5 μg、8.75 μg、9 μg、9.25 μg、9.5 μg、9.75 μg、10 μg、20 μg、30 μg、40 μg、50 μg、60 μg、70 μg、80 μg、90 μg、100 μg、150 μg、200 μg、250 μg、300 μg、350 μg、400 μg、450 μg、500 μg、550 μg、600 μg、650 μg、700 μg、750 μg、800 μg、850 μg、900 μg、950 μg、1 mg、1.1 mg、1.2 mg、1.3 mg、1.4 mg、1.5 mg、1.6 mg、1.7 mg、1.8 mg、1.9 mg、2 mg、2.1 mg、2.2 mg、2.3 mg、2.4 mg、2.5 mg、2.6 mg、2.7 mg、2.8 mg、2.9 mg、3 mg、3.5 mg、4 mg、4.5 mg、5 mg、5.5 mg、6 mg、6.5 mg、7 mg、7.5 mg、8 mg、8.5 mg、9 mg、9.5 mg或10 mg；較佳地，所述劑量在約1 μg至約2,000 μg之間，例如約1 μg至約2,000 μg、或約100 μg至約1,500 μg、或約500 μg至約1,200 μg、或約500 μg至約1,000 μg。在某些實施例中，透過玻璃體內給藥遞送的化合物的治療有效劑量為至少約0.02 mg，例如至少約0.02 mg、0.03 mg、0.04 mg、0.05 mg、0.06 mg、0.07 mg、0.08 mg、0.09 mg、0.1 mg、0.15 mg、0.2 mg、0.25 mg、0.3 mg、0.35 mg、0.4 mg、0.45 mg、0.5 mg、0.55 mg、0.6 mg、0.65 mg、0.7 mg、0.75 mg、0.8 mg、0.85 mg、0.9 mg、0.95 mg或1 mg。

【0121】在另一個實施例中，本發明設想了以治療有效劑量口服給藥本文中描述的具有通式(I)的化合物，所述治療有效劑量在約1 mg/kg至約20 mg/kg之間，例如1 mg/kg、1.5 mg/kg、2 mg/kg、2.5 mg/kg、3 mg/kg、3.5 mg/kg、4 mg/kg、4.5 mg/kg、5 mg/kg、5.5 mg/kg、6 mg/kg、6.5 mg/kg、7 mg/kg、7.5 mg/kg、8 mg/kg、8.5 mg/kg、9 mg/kg、9.5 mg/kg、10 mg/kg、10.5 mg/kg、11 mg/kg、11.5 mg/kg、

12 mg/kg、12.5 mg/kg、13 mg/kg、13.5 mg/kg、14 mg/kg、14.5 mg/kg、15 mg/kg、15.5 mg/kg、16 mg/kg、16.5 mg/kg、17 mg/kg、17.5 mg/kg、18 mg/kg、18.5 mg/kg、19 mg/kg、19.5 mg/kg或20 mg/kg。在較佳實施例中，所述化合物以約1 mg/kg至約10 mg/kg之間的治療有效劑量透過口服遞送方式給藥。例如，在一個特定實施例中，將具有通式(I)的化合物以約1和5 mg/kg的劑量口服遞送到人類。在某些實施例中，本文中描述的口服劑量係一次性給藥。在其他實施例中，它係每日給藥。

【0122】 在另一個實施例中，將治療有效量的本文中描述的具有通式(I)的化合物按照給藥計畫透過輸注給藥到個體，例如約0.1 μg/kg/min至約5.0 μg/kg/min，例如0.1 μg/kg/min、0.2 μg/kg/min、0.3 μg/kg/min、0.4 μg/kg/min、0.5 μg/kg/min、0.6 μg/kg/min、0.7 μg/kg/min、0.8 μg/kg/min、0.9 μg/kg/min、1.0 μg/kg/min、1.1 μg/kg/min、1.2 μg/kg/min、1.3 μg/kg/min、1.4 μg/kg/min、1.5 μg/kg/min、1.6 μg/kg/min、1.7 μg/kg/min、1.8 μg/kg/min、1.9 μg/kg/min、2.0 μg/kg/min、2.1 μg/kg/min、2.2 μg/kg/min、2.3 μg/kg/min、2.4 μg/kg/min、2.5 μg/kg/min、2.6 μg/kg/min、2.7 μg/kg/min、2.8 μg/kg/min、2.9 μg/kg/min、3.0 μg/kg/min、3.1 μg/kg/min、3.2 μg/kg/min、3.3 μg/kg/min、3.4 μg/kg/min、3.5 μg/kg/min、3.6 μg/kg/min、3.7 μg/kg/min、3.8 μg/kg/min、3.9 μg/kg/min、4.0 μg/kg/min、4.1 μg/kg/min、4.2 μg/kg/min、4.3 μg/kg/min、4.4 μg/kg/min、4.5 μg/kg/min、4.6 μg/kg/min、4.7 μg/kg/min、4.8 μg/kg/min、4.9 μg/kg/min或5.0 μg/kg/min。例如，在某些實施例中，所述化合物以有效劑量透過輸注給藥，所述有效劑量為約0.2 μg/kg/min至約2.0 μg/kg/min，或約0.2 μg/kg/min至約1.5 μg/kg/min，或約0.25 μg/kg/min至約1.0 μg/kg/min，或約0.5 μg/kg/min至約1.0 μg/kg/min。

【0123】 在替代性實施例中，基於對肺微血管楔壓（PCWP）、組織都卜勒成像（TDI）測量、呼吸困難、周邊和肺靜脈充血、尿液量、運動能力、血清生

物標誌例如NT-proBNP和高敏感性心臟肌鈣蛋白（ hs-cTnT）的監測，個性化設置一有效量的式(I)的化合物或等同量的其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物，該有效量的式(I)的化合物或等同量的其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物係對有此需要的個體給藥。

【0124】 在替代性實施例中，對有此需要的個體給藥的式(I)的化合物或其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物的等同物的量足以維持正常的運動耐力而沒有呼吸困難。

【0125】 在替代性實施例中，有效量透過PCWP、端坐呼吸、陣發性夜間呼吸困難的減少，運動耐力的提高，周圍和肺靜脈充血如肺爆裂音或囉音的減少、踝關節腫脹的減少、生物標誌尿液輸出量例如NT- proBNP和高敏感性心肌肌鈣蛋白（hs-cTnT）的減少來證實。

【0126】 在替代性實施例中，當在血流中或IV或IM給藥（與例如口服、透過吸入或皮下給藥相反），例如作為IV或IM給藥或給藥到體腔中或器官內腔中時，使用較低劑量的式(I)的化合物或其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物的等同物。在局部、噴霧、吸入或口服給藥或透過粉劑、噴劑或吸入給藥中，可以使用實質上更高的劑量。製備腸胃外或非腸胃外可給藥的製劑的實際方法對於本領域具通常知識者來說是已知的或明顯的，並在諸如Remington's（參見《Remington製藥學》（Remington's Pharmaceutical Sciences，Mack Publishing Co，Easton PA））的出版物中更詳細描述。

【0127】 在特定實施例中，式(I)的化合物或其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物的等同物被長期給藥，例如從診斷之日直至患者生命的最後一天或直至疾病減輕。在替代性實施例中，從治療期到維持期需要透過所述疾病的特定的習用已知生物標誌或臨床病徵的定期監測以進行劑量調整。

【0128】在替代性實施例中，在評估治療效果、治療方案或特定劑量或確定是否應給予治療或維持劑量時，應該對個體例如受AHF或CHF影響的患者進行日常定期篩檢，以檢查器官和組織牽連或損害的存在和範圍，例如心臟（心室擴張、第三心音心臟肥大）、疲勞、疲倦、運動耐力降低、運動後恢復時間增加、腎臟（腎功能衰竭、少尿）、肺（端坐呼吸、陣發性夜間呼吸困難、呼吸急促）、踝關節腫脹、頸靜脈壓升高。在心血管疾病特別是AHF或CHF的治療中，應當以由專家選擇的時間間隔進行徹底的身體檢查，這些檢查應集中在心臟、肺和周圍循環功能上。因此，在替代性實施例中，使用式(I)的化合物或其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物的等同物的療法應盡可能早、較佳地在急診室中進行，以預防症狀的迅速發展，並在患者出院後持續多年，較佳為患者的整個生命期間或至少與HF中使用其他藥物的方式相一致的一段時間。

【0129】根據本發明，本文提供的用途和方法可以進一步包括與其他藥物或藥劑共同給藥。實際上，本發明選擇性地校正壓低的心臟生化功能（即SERCA2a活性）。這無疑有助於緩解已有的HF臨床症狀，並且與可用療法相比具有更少的不良副作用（僅僅因為上面提到的選擇性）。然而，由於CHF和AHF是複雜的臨床綜合病徵，因此本發明可能與現有和未來的藥物類別及/或特定藥物，例如：a）藥物類別，例如ACE抑制劑、AIRB、利尿劑、Ca^{2+}通道阻滯劑、β-阻斷劑、毛地黃、NO供體、血管擴張劑、SERCA2a刺激劑、腦啡肽酶（NEP）抑制劑、肌凝蛋白絲活化劑、重組鬆弛素-2媒介物、重組NP蛋白、可溶性鳥苷酸環化酶（sGC）的活化劑、血管收縮肽II受體的β-抑制蛋白配體；b）特定藥物：氫氯噻嗪，呋塞米，維拉帕米，地爾硫卓，卡維地洛，美托洛爾，肼苯噠嗪，依普利酮，螺內酯，利欣諾普，雷米普利，硝化甘油，硝酸酯，地高辛，纈沙坦，奧美沙坦，替米沙坦，坎地沙坦，洛沙坦，諾欣妥，omecamtiv，沙庫比曲，serelaxin，烏拉立肽，左西孟旦，cinaciguat。

【0130】本發明的化合物當用作治療劑、特別是用於治療HF時，可以與用於治療同一疾病的其他治療劑組合。示例性的其他治療劑是利尿劑例如呋塞米、布美他尼和托拉塞米，美托拉宗，醛固酮拮抗劑例如螺內酯或依普利酮，噻嗪利尿劑例如氫氯噻嗪、美托拉宗和氯噻酮。其他藥劑是ACE抑制劑，例如利欣諾普和雷米普利。血管收縮肽II受體阻斷劑（ARB）例如纈沙坦、坎地沙坦和洛沙坦，也可以考慮在內。血管收縮肽受體/腦啡肽酶抑制劑（ARNI）例如沙庫比曲，被包括在內。其他藥劑可以選自β-阻斷劑例如卡維地洛和美托洛爾，或血管擴張劑例如選擇性地與二硝酸異山梨酯組合的肼苯噠嗪、肼苯噠嗪、硝酸酯例如硝酸甘油、氨氯地平和非洛地平、非二氫吡啶類例如地爾硫卓或維拉帕米。如果需要，本發明的化合物也可以與地高辛組合。其他藥物例如伊伐佈雷定和其他抗凝藥，也可以考慮。另外，其他藥物可能包括OMECAMTRIV MECARBIL。

【0131】本發明的化合物可以與其他治療劑組合，特別是可用於治療心血管疾病、更特別是在HF的組合療法中使用的藥劑。所述組合的活性成分可以按照由醫生決定的不同方案進行給藥。根據本發明的實施例，組合療法可以透過將式(I)的化合物與一種或多種其他治療活性成分在同時或在不同時間給藥來進行。在同時給藥的情況下，本發明的化合物和所述一種或多種其他活性成分可以各自配製在相應的藥物組合物中。在這種情況下，本發明提供了一種特別是用於治療心臟衰竭的藥劑盒，其包含分別含有本發明的化合物和所述一種或多種其他活性成分的分開的藥物組合物。在另一個實施例中，本發明提供了一種特別是用於治療HF的單位劑型藥劑盒，其包含本發明的化合物和所述一種或多種其他活性成分。

<u>奈米粒子、奈米脂質粒子和脂質體</u>

【0132】還提供了包含本文中提供的化合物的奈米粒子、奈米脂質粒子、囊泡和脂質體膜，例如用以向有此需要的對象遞送本文中提供的藥物活性化合物和組合物（式(I)的化合物或其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物的等同物）。在替代性實施例中，這些組合物被設計成標靶特定分子，包括生物分子例如多肽，包括細胞表面多肽，例如用於鎖定所需細胞類型例如肌細胞或心臟細胞、內皮細胞等。

【0133】提供了用於實作本揭露的方法的包含化合物的多層脂質體，如在Park等人的美國專利公開號20070082042中所述，其內容整體透過引用併入本文。所述多層脂質體可以使用包含角鯊烯、類固醇、神經醯胺、中性脂質或油、脂肪酸和卵磷脂的油相組分混合物製備成粒徑為約200至5000 nm，以捕獲用於實作本文提供的用途和方法的組合物。

【0134】脂質體可以使用如在美國專利號4,534,899、美國專利公開號20070042031中所述的任何方法來製造，包括透過包封根據本發明的活性藥劑（或活性藥劑的組合）來生產脂質體的方法，所述方法包括在第一儲器中提供水性溶液；在第二儲器中提供有機脂質溶液，然後將所述水性溶液與所述有機脂質溶液在第一混合區域中混合以產生脂質體溶液，其中所述有機脂質溶液與所述水性溶液混合以實質上暫態產生包封所述活性藥劑的脂質體；然後立即將所述脂質體溶液與緩衝溶液混合，以產生稀釋的脂質體溶液。

【0135】在一個實施例中，用於實作本文提供的用途和方法的脂質體組合物包含取代的銨及/或聚陰離子，以例如用於將用於實作本文中提供的方法的式(I)的化合物或其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物的等同物標靶遞送到所需細胞類型，如美國專利公開號20070110798中所述。

【0136】提供了用於實作本文提供的用途和方法的包含本發明化合物的奈米粒子，所述奈米粒子採取含有活性藥劑的奈米粒子的形式（例如，次級奈米

粒子），如在美國專利公開號20070077286中所述。在一個實施例中，提供了包含用於實作本文提供的用途和方法的脂溶性活性藥劑或脂增溶的水溶性活性藥劑的奈米粒子，以與二價或三價金屬鹽一起起作用。

【0137】 在一個實施例中，可以使用固體脂質懸液來配製用於實作本文提供的用途和方法的組合物，並將其遞送到體內、體外或離體的哺乳動物細胞，如在美國專利公開號20050136121中所述。

【0138】 所述用於實作本文提供的用途和方法的組合物和製劑可以利用脂質體或奈米脂質體來遞送。透過使用脂質體，特別是在所述脂質體的表面帶有特異性針對標靶細胞的配體或以其他方式偏好性地指向特定器官的情況下，可以將所述活性藥劑在體內集中遞送到標靶細胞中。參見例如美國專利號6,063,400、6,007,839；Al-Muhammed, J. Microencapsul. 1996, 13:293-306；Chonn, Curr. Opin. Biotechnol. 1995, 6:698-708；Ostro, Am. J. Hosp. Pharm. 1989, 46:1576-1587。

遞送介質

【0139】 在替代性實施例中，可以使用任何遞送介質來實作本文中提供的用途和方法，例如向有此需要的對象遞送本文中提供的化合物。例如，可以使用包含聚陽離子、陽離子型聚合物及/或陽離子型肽類（例如，聚乙烯亞胺衍生物）的遞送介質，正如在美國專利公開號20060083737中所描述的。

【0140】 在一個實施例中，使用乾燥的多肽-表面活性劑複合物來配製用於實作本文中提供的用途和方法的組合物，如在美國專利公開號20040151766中所描述的。

【0141】 在一個實施例中，可以使用具有細胞膜滲透肽偶聯物的介質對細胞施加用於實作本文中提供的用途和方法的組合物，如在美國專利號7,306,783、

6,589,503中所描述的。在一種情況下，將所述待遞送的組合物偶聯到細胞膜滲透肽。在一個實施例中，將所述待遞送的組合物及/或遞送介質偶聯到轉運媒介肽，如在美國專利號5,846,743中所描述的，所述專利描述了高鹼性並結合到聚磷肌醇的轉運媒介肽。

【0142】 在一個實施例中，使用電通透化作為主要或輔助手段將所述組合物遞送到細胞，這可以使用任何電穿孔系統，例如在美國專利號7,109,034、6,261,815、5,874,268中所描述的。

式(I)的化合物的製備

【0143】 本發明的化合物可以透過有機化學領域的具通常知識者可用的許多方法來合成。下文描述了用於製備本發明的化合物的通用和示例性合成方案。這些方案是說明性的，並且不意味著限制本領域具通常知識者可用於製備本文揭露的化合物的可能技術。對於本領域具通常知識者來說，製備本發明的化合物的不同方法是明顯的。另外，為了給出所需的一種或多種化合物，所述合成中的各種不同步驟可以以替代性的順序進行。

【0144】 按照通用方案中描述的方法製備的本發明的化合物的實例，提供在後文中闡述的實施例部分中。

【0145】 正如本領域具通常知識者認識到的，本發明的化合物可以使用下文描述的方法與合成有機化學領域中已知的合成方法或對其作出的變更一起來合成。反應在適合於所使用的試劑和材料並適合於待實施的轉化的溶劑或溶劑混合物中進行。有機合成領域的具通常知識者應當理解，所述分子上存在的官能基應該與提出的轉化相符。

【0146】 此外，本領域具通常知識者可以容易地改變在下面的方案中示例的試劑和反應條件，以包括上文中所定義的取代基的任何組合。此外，專業技術

人員可以容易地為每個合成過程使用可互換的步驟，並且併入被視為必需的分離及/或純化步驟。

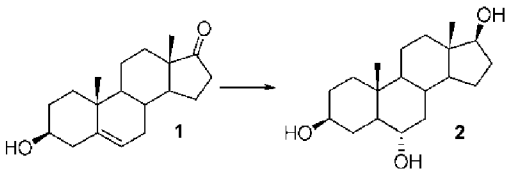
【0147】 可用於製備本發明的化合物的起始材料和中間體是可商購的，或者可以透過已知的合成程序來製備。

【0148】 透過下文描述的合成獲得的最終產物可以使用本領域具通常知識者通常已知的技術來純化，例如製備型層析、薄層層析、HPLC或結晶。

【0149】 本文中描述了用於合成本發明的化合物的示例性過程。

【0150】 在下面的製備中，除非另有陳述，否則化學化合物、溶劑、反應物和任何其他材料來自於商業來源。通常，式(I)的化合物可以從脫氫表雄酮（普拉睪固酮）開始，透過多步合成來製備。脫氫表雄酮是一種商品化產品，或者可以從4-雄烯-3,17-二酮（雄烯二酮）開始按照已知的方法來製備。

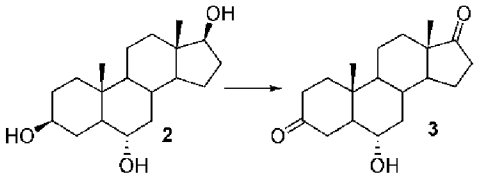
5α-雄烷-3β,6α,17β-三醇的製備



【0151】 如De Munari等（J. Med. Chem., 2003, 46(17):3644-54）中所描述，適用於合成6-α-3,17-雄烷二酮(2)的中間體從脫氫表雄酮1透過硼氫化和隨後的氧化來生產。簡單來說，將脫氫表雄酮1（5 g，17.5 mmol，1 eq.）在THF（85 mL）中的溶液在-20°C和Ar下攪拌。然後向所述攪拌的溶液添加THF中的1M BH_3·THF錯合物（44 mL，44 mmol，2.5 eq.），並將攪拌在室溫繼續3小時。小心地逐滴添加H_2O（85 mL），然後逐滴添加$NaBO_3$·$4H_2O$（5.4 g，35 mmol，2 eq）。在室溫攪拌過夜後，將所述混合物過濾。將固體用THF洗滌，然後捨棄。將澄清液用

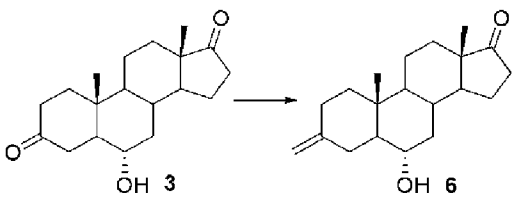
NaCl飽和並用THF萃取（3 × 40 mL）。將合併的有機萃取液在NaCl和Na_2SO_4上乾燥、過濾並蒸發至乾。將5α-雄烷-3β,6α,17β-三醇2粗產物從EtOAc/MeOH（2/1，10 mL/g）結晶，給出白色固體（3.8 g，70%）。

6α-羥基雄烷-3,17-二酮的製備



【0152】 透過C3和C17位置處的選擇性氧化來從2獲得中間體3。在0°C下向5α-雄烷-3β,6α,17β-三醇2（2 g，6.5 mmol，1 eq）在二噁烷/H_2O/吡啶（54/10/1 mL）中的攪拌的溶液添加NBS（3.4 g，19.5 mmol，3 eq）。在添加後，允許所述混合物升溫至室溫並攪拌過夜。將所述橙色溶液用水（50 mL）稀釋並用$Na_2S_2O_3$（350 mg）淬火。在真空下蒸發掉有機溶劑，直至白色固體出現。將所述固體過濾並用水洗滌。在40°C下乾燥後，獲得作為白色固體的6α-羥基雄烷-3,17-二酮3（1.3 g，70%）。

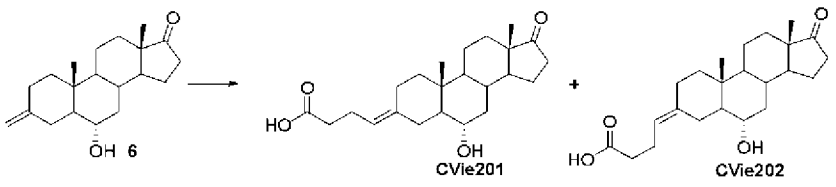
雄烷-3-亞甲基-17-酮的合成



【0153】 然後透過在C3羰基上的選擇性威悌反應和隨後與5-戊烯酸的複分解偶聯，將6-α-3,17-雄烷二酮3轉變成外甲烷衍生物6（雄烷-3-亞甲基-17-酮）。

在-5℃下，向甲基三苯基溴化鏻（1,66 g，6 mmol，4 eq.）在THF（10 mL）中的懸液添加t-BuOK（670 mg，6 mmol，4 eq.）。所述溶液立即變色成亮橙色。10分鐘後，添加6α-羥基雄烷-3,17-二酮3（450 mg，1.5 mmol，1eq.），同時保持溫度低於0℃。在添加後，立即透過添加1M HCl水溶液（15 mL）將反應淬火，並用EtOAc萃取（3x20mL）。將合併的有機相在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾。將所述粗萃取物透過柱層析進行純化（洗脫劑EtOAc:石油精4:6），產生376 mg（83%）作為白色泡沫的雄烷-3-亞甲基-17-酮6。

透過複分解反應從前體6直接合成CVie 201和202



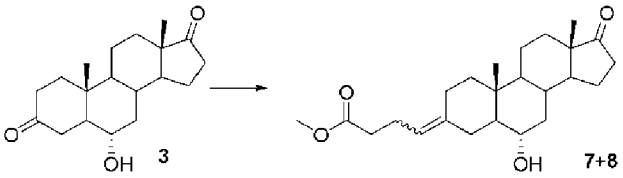
【0154】向雄烷-3-亞甲基-17-酮6（100 mg，0.33 mmol，1 eq）在DCM（1 mL）中的溶液添加Hoveyda-Grubbs第二代催化劑（12 mg，0.015 mmol，0.05 eq.）。然後將所述溶液在回流下加熱，並且每20分鐘用10 μL 4-戊烯酸處理（總共330 μL，3.3 mmol，10 eq.）。在添加結束後，將混合物繼續回流2h。將反應混合物真空濃縮並透過快速層析進行純化（洗脫劑丙酮:石油精3:7+0.1% HCO_2H），以獲得兩種不同的白色固體(E)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（4.8 mg，4%）（CVie201）和(Z)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（7.2 mg，6%）（CVie202）。

【0155】或者，透過修改威悌反應來獲得CVie201和CVie202。在一種方法（路線A）中，利用極性溶劑例如DMSO和鹼例如NaH使甜菜鹼中間體穩定。第二種方法（路線B）允許使用非質子性溶劑例如THF作為鹼使氧雜磷雜環丁烷中間體穩定。路線A產生非鏡像異構物的混合物（60%的Z/順式CVie202；30%的E/

反式CVie201），而路線B提供源自於氧雜磷雜環丁烷中間體的CVie202。任一程序都需要產生如下所述的非鏡像異構物7及/或8。

CVie 201和202透過威悌反應的可選合成

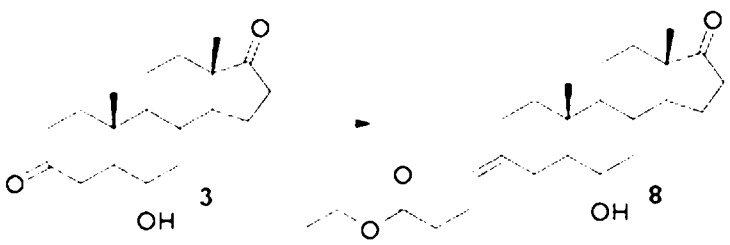
路線A



【0156】在Ar氣環境下向無水DMSO（1 mL）小心地添加礦物油中的60% NaH（100 mg，2.56 mmol，8 eq.）。將得到的溶液在60°C攪拌20分鐘。在室溫冷卻後，添加(3-羧基丙基)三苯基溴化鏻（550 mg，1.28 mmol，4eq.）。立即出現亮橙色顏色。將溶液攪拌2h。然後向所述混合物添加6α-羥基雄烷-3,17-二酮3（100 mg，0.32 mmol，1 eq.）。允許得到的溶液在室溫繼續攪拌4h。將反應混合物用EtOAc（25mL）稀釋，並用1M HCl水溶液（3 x 30mL）洗滌。將有機層在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾，得到25mg粗品材料。

【0157】將所述粗品材料首先溶解在MeOH（1.5mL）中，然後添加EDC鹽酸鹽（115mg，0.6mmol，2eq.）和DMAP（5mg，0.03 mmol，0.1 eq.）。將所述溶液在室溫攪拌3h。在真空濃縮後，將粗品固體溶解在EtOAc（15 mL）中並用1M HCl水溶液（3 x 10mL）洗滌。將粗產物在矽膠上透過快速層析進行純化（丙酮:Pet.Sp 3:7），得到25 mg包含非鏡像異構物7和8的混合物的透明油狀物（20%）。

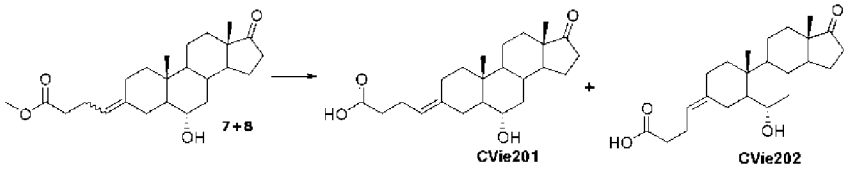
路線B



【0158】 在Ar氣環境和-40°C下，向(3-羧基丙基)三苯基溴化鏻（8.5 g，20 mmol，6eq.）的無水THF（33 mL）懸液小心地添加THF中的1M LiHMDS溶液（40 mL，40mmol，12 eq.）。將所述溶液在-40°C攪拌過夜，直至出現亮橙色。然後在-40°C下向所述溶液添加6α-羥基雄烷-3,17-二酮3（1g，3.3mmol，1 eq.）。在室溫攪拌過夜後，將反應混合物用1M HCl水溶液（300mL）淬火並用EtOAc（3 x 350mL）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾。

【0159】 將所述粗品材料溶解在無水EtOH（17 mL）中，然後添加EDC鹽酸鹽（1.26mg，6.6mmol，2eq.）和DMAP（50mg，0.3 mmol，0.1 eq.）。允許所述混合物在室溫攪拌3h。將反應在EtOAc（150mL）中稀釋並用1M HCl水溶液（3 x 100mL）洗滌。將粗產物在矽膠上透過快速層析進行純化（丙酮:Pet.Sp 3:7）得到910mg（72%）化合物8。

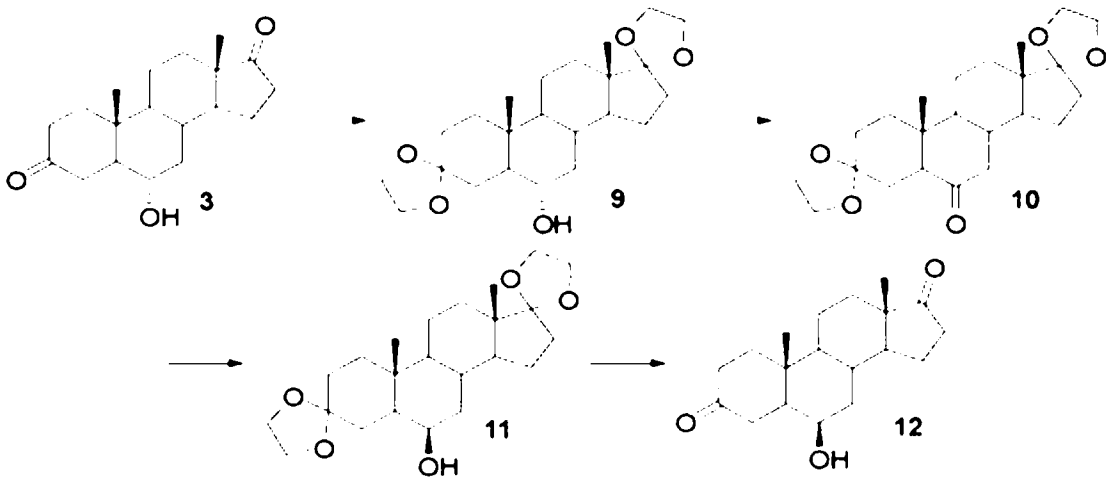
甲基（或乙基）酯的最終水解



【0160】 向甲基酯7和8（25 mg，0.06 mmol，1eq.）在THF（600 µL）和水（200 µL）中的溶液添加1M LiOH水性溶液（150 µL，2.5eq.）。2h後，將反應用水（10 mL）稀釋，並透過添加1M HCl直至溶液達到pH 1進行淬火。將水性相用EtOAc（3 x 15mL）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾。將粗

品透過快速層析進行純化（AcOEt:Pet.Sp. 7:3 1% HCOOH）。獲得兩種白色固體，對應於E（7 mg，31%）和Z（12 mg，54%）非鏡像異構物（分別為CVie201和CVie202）。

CVie 203和204的合成方式：中間體化合物12的合成



【0161】 為了製備CVie203和CVie204，首先從6-α-3,17-雄烷二酮3生產前體12。透過與乙二醇和酸催化劑（p-tSA或樟腦磺酸）的組合在甲苯中反應，將6-α-3,17-雄烷二酮3的羰基作為二縮酮進行保護，得到化合物9。將化合物9用PCC或其他氧化劑氧化給出化合物10，然後將其用$NaBH_4$或KBH_4還原，產生C6-羥基選擇性地為β-構型的的被保護的醇11。如De Munari等（J. Med. Chem., 2003, 46(17):3644-54）中所述在丙酮中透過酸性處理對所述環狀二縮酮進行最後裂解，得到前體12。

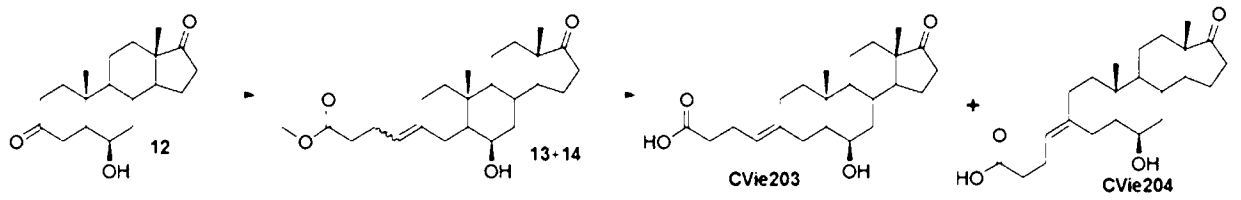
【0162】 簡單來說，將6α-羥基雄烷-3,17-二酮（1.5 g，4.9 mmol，1 eq）、乙二醇（10.5 mL，88 mmol，36eq）和PTSA（561 mg，2.9 mmol，0.6 eq）在甲苯（160 mL）中的溶液使用Dean-Stark分水器在回流下攪拌12 h。在冷卻至室溫後，將所述混合物用5% $NaHCO_3$水溶液中和。分離有機層並用H_2O（2×40 mL）洗滌，在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾，產生作為白色固體化合物的3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6α-醇9（1.9 g，98%）。

【0163】 在0°C下，向3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6α-醇（3 g，14 mmol，1 eq）9和抗壞血酸鈉（1.2 g，14 mmol，4eq.）在無水CH_2Cl_2（87 mL）中的溶液添加PCC（148 mg，0.69 mmol，4 eq）。將所述混合物在室溫攪拌過夜。將混合物用1M HCl水溶液（3 x 30mL）和水（3 x 30 mL）洗滌。將有機層在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾。將粗品在矽膠柱上透過快速層析進行純化（洗脫劑丙酮:石油精 2:8）。獲得作為白色固體的3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6-酮10（1.53 g（96%））。

【0164】 在0°C下向3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6-酮10（1 g，2.5 mmol，1 eq）在MeOH（13 mL）中的攪拌的懸液添加$NaBH_4$（144 mg，3 mmol，1.2 eq）。在0°C下2 h後，逐滴添加H_2O（40 mL）。將所述混合物用EtOAc（3 × 40 mL）萃取。將合併的有機萃取液在Na_2SO_4上乾燥、過濾並蒸發至乾，以給出白色固體，其是3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6β-醇11（915 mg，92%）。

【0165】 向3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6β-醇11（910 mg，2.3 mmol，1 eq）在丙酮（46 mL）中的溶液在5分鐘內添加分成小份的PTSA（2.26 g，11.5 mmol，5 eq）。在室溫攪拌1 h後，透過添加5% $NaHCO_3$水溶液直至pH 7，將所述溶液淬火。在攪拌5分鐘後出現白色固體。在真空中除去揮發物。將懸液用CH_2Cl_2（3 x 30 mL）萃取，並將合併的有機萃取液用鹽水（40 mL）洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾並蒸發。將得到的固體與正己烷/EtOAc 8/2（10 mL）攪拌45分鐘，然後透過過濾進行收集。將所述固體在45°C乾燥3小時。得到568 mg（81%）白色固體（即，6β-羥基雄烷-3,17-二酮12）。

12轉變成最終的CVie 203和204



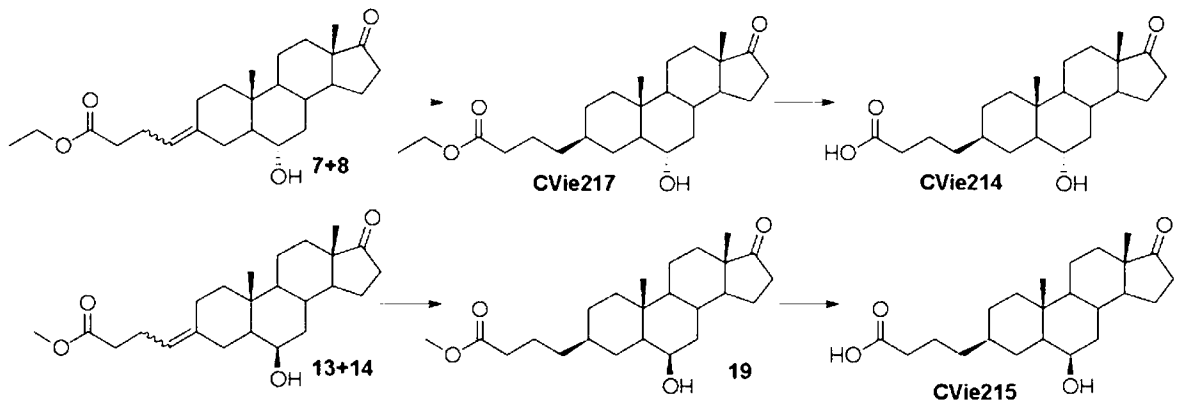
【0166】 然後使用上文為CVie201和CVie202描述的相同程序，透過威悌反應從前體12獲得CVie203和CVie204。利用NOESY實驗來鑑定兩種異構物中C3-C1'雙鍵處的構型。

【0167】 簡單來說，在Ar氣環境下向無水DMSO（1 mL）添加礦物油中的60% NaH（100 mg，2.56 mmol，8 eq.）。將得到的溶液在60°C攪拌20分鐘。在室溫冷卻後，添加(3-羧基丙基)三苯基溴化鏻（550 mg，1.28 mmol，4eq.）。立即出現亮橙色顏色。將所述溶液攪拌2h。然後向所述混合物添加6β-羥基雄烷-3,17-二酮12（100 mg，0.32 mmol，1 eq.）。允許得到的溶液在室溫繼續攪拌4h。將反應混合物用EtOAc（25mL）稀釋並用1M HCl水溶液（3 x 30mL）洗滌。將有機層在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾，得到25mg粗品材料。

【0168】 然後將所述粗品材料溶解在MeOH（1.5mL）中。添加EDC鹽酸鹽（115mg，0.6mmol，2eq.）和DMAP（5mg，0.03 mmol，0.1 eq.）。將所述溶液在室溫攪拌3h。在真空濃縮後，將粗品固體溶解在EtOAc（15 mL）中並用1M HCl水溶液（3 x 10mL）洗滌。將所述粗產物在矽膠上透過快速層析進行純化（丙酮:Pet.Sp 3:7），得到非鏡像異構物13和14的混合物，產率分別為17%和30%。

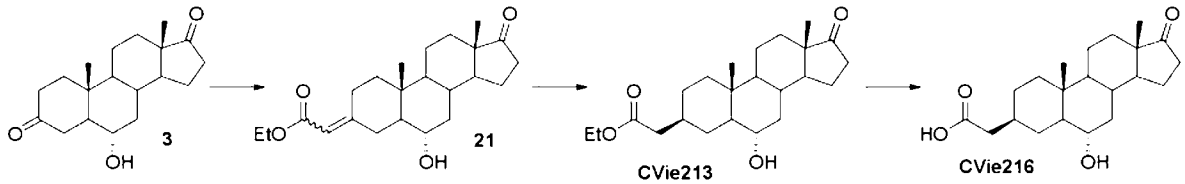
【0169】 將反應混合物真空濃縮並透過快速層析進行純化（洗脫劑丙酮:石油精 3:7+0.1% HCO_2H），得到兩種不同的白色固體(E)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（CVie203）和(Z)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（CVie204）。

透過加氫和酯水解生產CVie214、CVie215和CVie217



【0170】 化合物CVie217從上述非鏡像異構物7+8的混合物生產。簡單來說，所述非鏡像異構物的C3-C1'雙鍵的加氫在EtOAc中使用Pd-C催化來進行。得到的化合物是CVie217。C3處形成的立體中心的構型透過NOESY實驗來鑑定。然後將化合物CVie217用THF中的1M LiOH或NaOH水解，以產生CVie214。同樣地，將非鏡像異構物13+14在EtOAc中使用Pd-C催化進行加氫，以產生酯化合物19，然後將其用THF中的1M LiOH或NaOH水解，以產生CVie215。

透過威悌反應和隨後的C=C加氫和酯水解生產CVie213和CVie216

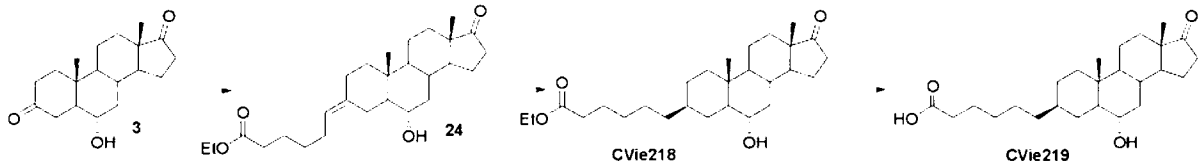


【0171】 化合物6-α-3,17-雄烷二酮3也被用作透過Horner-Emmons反應合成CVie213和CVie216的起始點。首先，在Ar氣環境和0°C下，向礦物油中的60% NaH（1.3 g，33 mmol，5 eq）在DMF（200 mL）中的懸液小心地添加磷醯基乙酸三乙酯（6.5 mL，33 mmol，5 eq）。將得到的溶液在室溫升溫並攪拌20分鐘。然後在0°C下添加6-α-3,17-雄烷二酮3（2 g，6.5 mmol，1 eq）。在室溫攪拌過夜

後，透過小心地添加H_2O（100 mL）將反應淬火，並用Et_2O（3 x 150mL）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥並真空蒸發。將粗品在矽膠柱上透過快速層析進行純化（丙酮:石油精 3:7），產生2.1g（86%）兩種非鏡像異構物的透明油狀混合物（化合物21）。

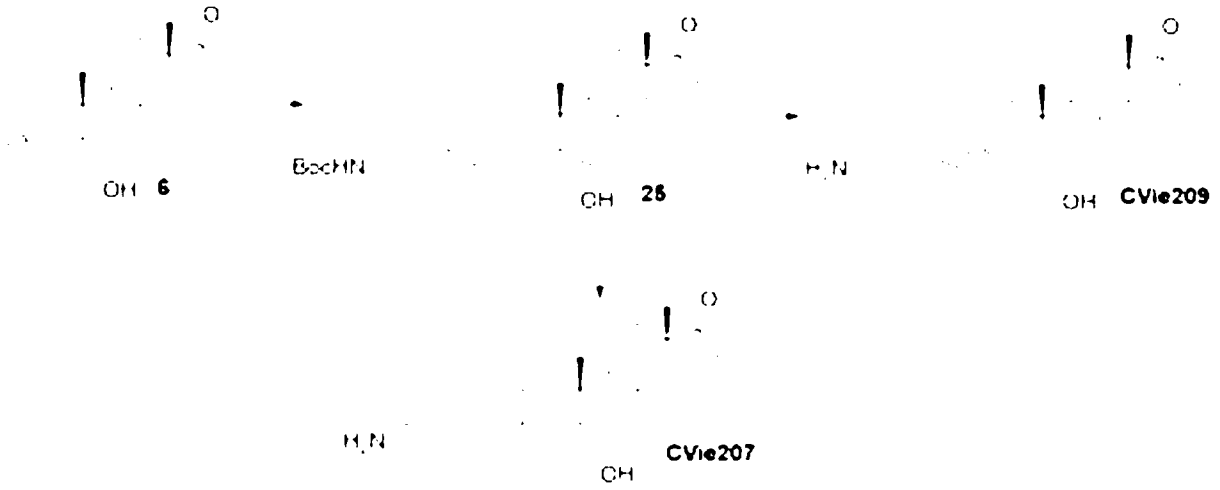
【0172】 在Ar氣環境下，向非鏡像異構物化合物21（2g，5.3 mmol，1 eq）在EtOAc（200 mL）中的脫氣的溶液添加10% Pd-C（700 mg）。在三個真空/氫氣循環後，允許反應在H_2氣環境下在室溫攪拌過夜。在透過真空/Ar循環除去氫氣後，將反應混合物在CELITE®上過濾。將過濾的溶液蒸發至乾。不需純化獲得1.8 g（90%）CVie213產物。用THF中的1M LiOH或NaOH進一步水解CVie213產生CVie216。

透過威悌反應和隨後的C=C加氫和酯水解生產CVie218和CVie219



【0173】 同樣地，將6-α-3,17-雄烷二酮3與適合的三苯基鏻鹽（例如，5-羧基三苯基溴化鏻、LiHMDS、THF，然後是EtOH（或MeOH））反應，產生化合物24。接下來，在氫氣存在下使用Pd-C催化將化合物24催化加氫產生CVie218，其在C-3位置處包括C6鏈。用THF中的1M LiOH或NaOH將CVie218水解產生CVie219。

透過使用Boc保護的胺的複分解反應和隨後的Boc去保護從前體6合成具有一級胺基的衍生物



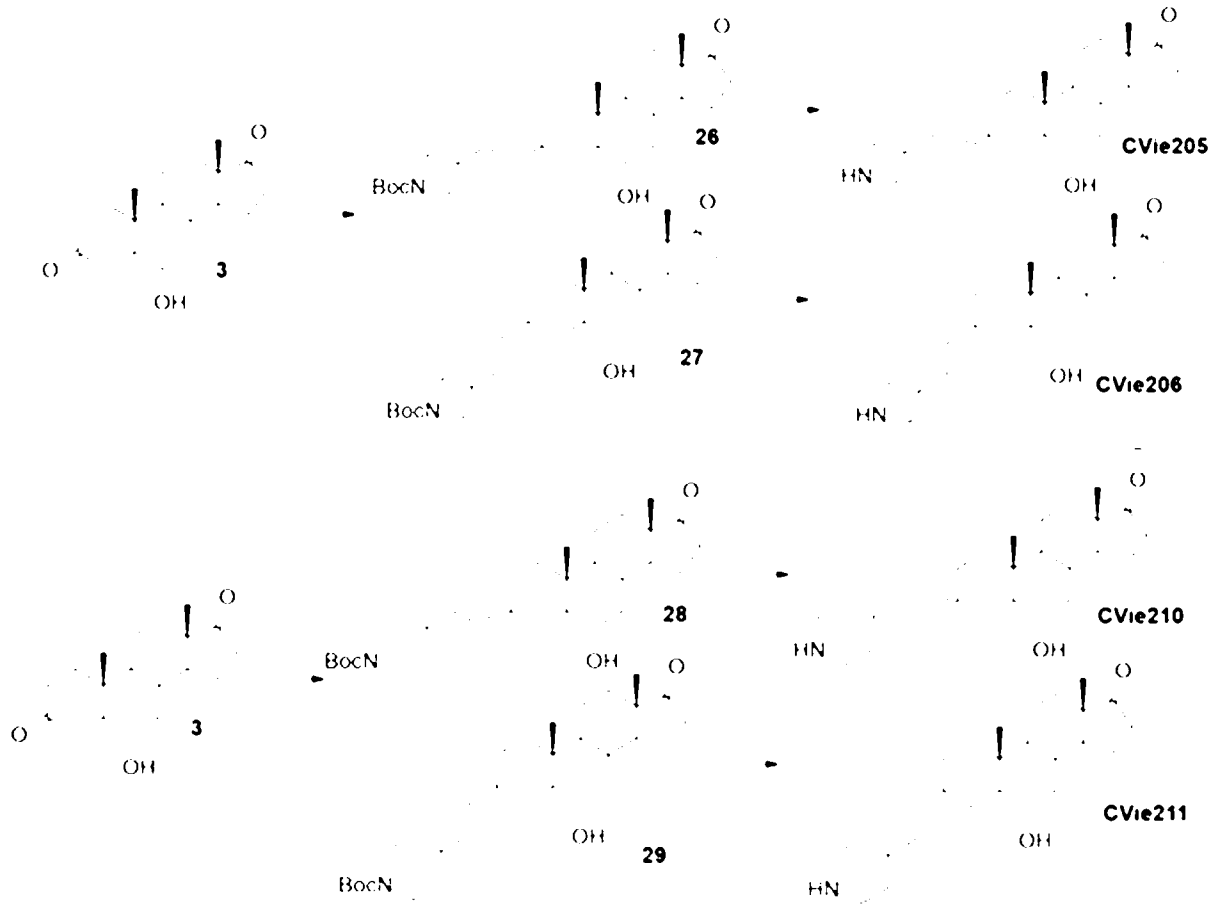
【0174】為了合成具有一級胺基作為式(I)中的X取代基的衍生物，使用上文為CVie201和CVie202的合成所述的相同的實驗條件對前體6進行複分解反應。

【0175】簡單來說，向雄烷-3-亞甲基-17-酮6在DCM中的溶液添加Hoveyda-Grubbs第二代催化劑。然後將雄烷-3-亞甲基-17-酮6與具有適合的Boc保護的胺的外亞甲基（例如，叔丁基戊-4-烯-1-基胺基甲酸酯或N-Boc-4-戊炔-1-胺）合併，產生非鏡像異構物25（25%產率）。將化合物25（50 mg，0,1 mmol，1 eq）用500 µL TFA/DCM（DCM中的三氟乙酸）的1:1混合物處理，然後在室溫攪拌，以直接裂解Boc基團。在室溫攪拌1分鐘後，將反應用EtOAc（50mL）稀釋並用飽和$NaHCO_3$水溶液（3x30mL）洗滌。將有機相在Na_2SO_4上乾燥，過濾並蒸發至乾，產生作為白色固體的(EZ)-3-(4-胺基亞丁基]-6α-羥基雄烷-17-酮（CVie209）（28 mg，75%）。

【0176】替代性地，將化合物25與三甲基甲矽烷基碘化物在醇性溶劑（例如，MeOH）中反應，導致Boc裂解並伴有環外雙鍵的遷移，以產生在C2與C3之間具有環內雙鍵的CVie207。簡單來說，在室溫下向非鏡像異構物25（50 mg，0,1mmol，1eq.）的溶液添加DCM中的1M TMSI（100µL，0.1 mmol，1 eq.）。在

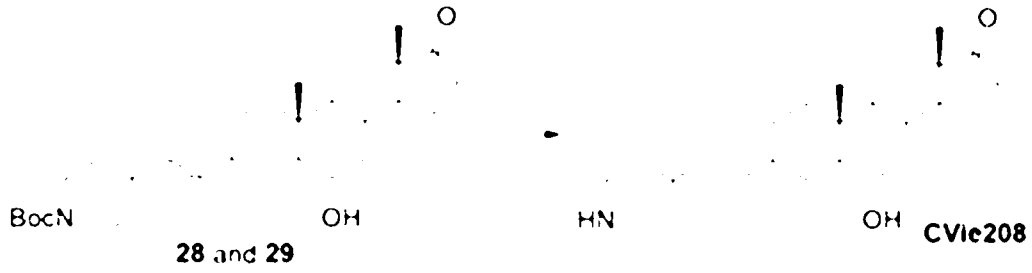
相同溫度下攪拌2h後，在真空中除去溶劑。向殘留物添加甲醇（2 mL）並在室溫放置1h。在真空中除去溶劑後，不需純化獲得CVie207。

具有環外不飽和性的環胺衍生物的合成：CVie205、CVie206、CVie210和CVie211



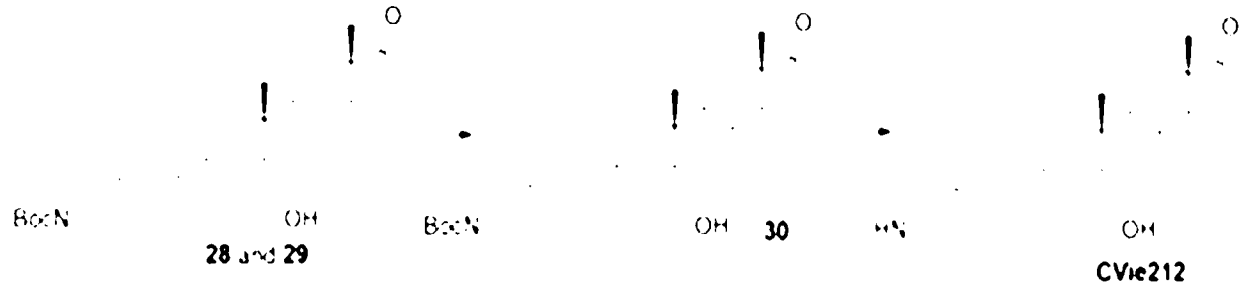
【0177】環胺衍生物的合成：如上為CVie203和CVie204所述的氫化鈉（NaH）-DMSO威悌反應來合成，並在同時利用適合的N-保護的鏻鹽例如N-Boc-4-(2-三苯基鏻乙基)氮雜環丁烷碘化物以產生化合物26和27，或利用N-Boc-3-(2-三苯基鏻乙基)哌啶碘化物以產生化合物28和29。在純化所述非鏡像異構物混合物後，透過用TFA酸水解裂解N-Boc基團，以產生CVie205、CVie206、CVie210和CVie211。

具有內環不飽和性的CVie208的合成（Boc去保護期間的C=C雙鍵遷移）



【0178】 如上為CVie207的合成所述用TMSI進一步處理化合物28和29產生CVie208。

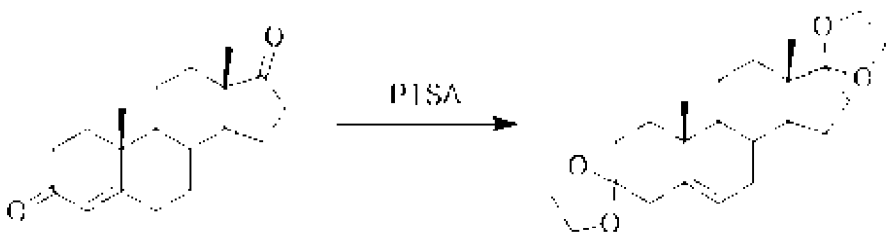
加氫和使用TFA的Boc裂解以產生CVie212



【0179】 替代性地，將化合物28和29的雙鍵催化加氫（H_2，Pd-C，EtOAc）以合成化合物30，然後在DCM中用TFA進行Boc裂解產生CVie212。

【0180】 帶有6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮的化合物的合成從共同中間體37開始來實現。化合物37本身從4-雄烯-3,17-二酮31開始來合成：將兩個酮組成部分用環狀縮醛保護32並同時遷移雙鍵，用重鉻酸鈉氧化烯丙基位置33，形成甲矽烷基烯醇醚35，用Me_3Al和甲醛進行羥甲基化（36），以及最終在酸性條件下裂解縮醛。所述合成在下面的段落中更詳細地描述。

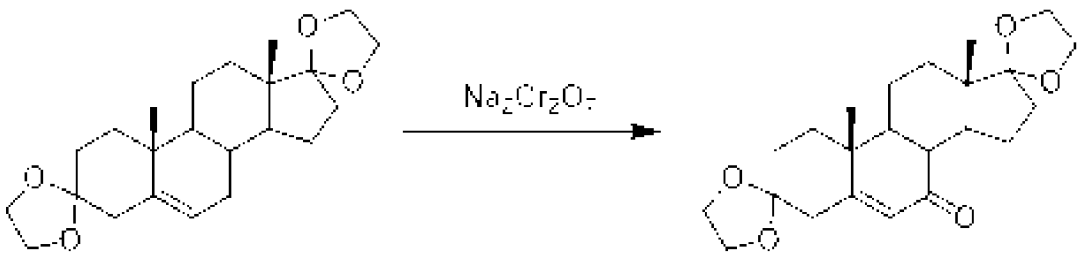
化合物32的合成：(20S,7R)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-12-烯



31 32

【0181】將雄-4-烯-3,17-二酮31（400.0 g，1.4 mol）和PTSA·H_2O（13.3 g，70.0 mmol）在乙二醇（8.0 L）中的混合物在100°C下攪拌，直至反應澄清。在真空下蒸餾約5.0 L二醇，以使沸騰溫度在80-85°C左右。將所述混合物冷卻到室溫。將混合物調整到pH~9。然後將混合物傾倒在冰水中。將所述混合物過濾，將固體用水洗滌、收集並用丙酮研磨，得到作為黃色固體的粗品化合物32（469.0 g，89%）。

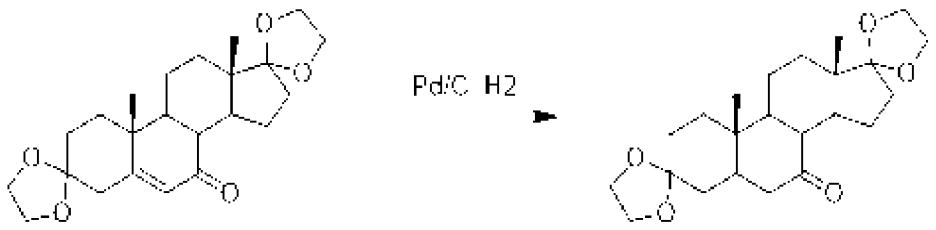
化合物33的合成：(20S,7R)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-12-烯-14-酮



32 33

【0182】將化合物32（440.0 g，1.2 mol）、HOSU（541.2 g，4.7 mol）和$Na_2Cr_2O_7 \cdot H_2O$（527.5 g，1.8 mol）在丙酮（8.0 L）中的混合物在50°C劇烈攪拌2天。在冷卻到室溫後，將混合物用Na_2SO_3水溶液淬火並攪拌20 min。將混合物傾倒在冰水中。將得到的混合物攪拌20 min，然後過濾。將固體用水洗滌、收集並在真空中乾燥，得到作為黃色固體的粗品化合物33（390.0 g，85%）。

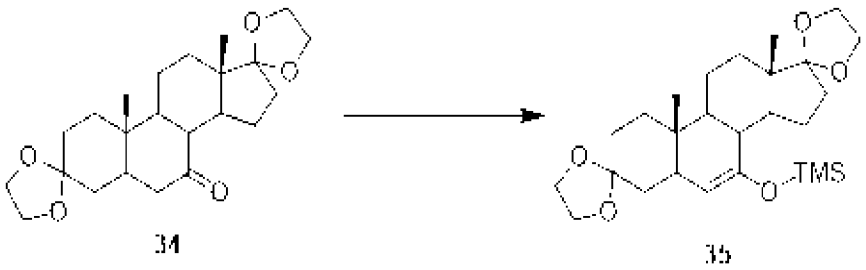
化合物34的合成：(7S,20S)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-14-酮



33 34

【0183】將化合物33（50.0 g，128.9 mmol）在EtOAc（1250 mL）中的混合物添加到Pd/C（16.0 g）。然後將所述混合物在H_2下在室溫攪拌過夜。TLC顯示反應完成。將混合物過濾，濃縮，並透過快速層析進行純化（PE/EA = 2/1），得到作為白色固體的化合物34（25.0 g，50.0%）。

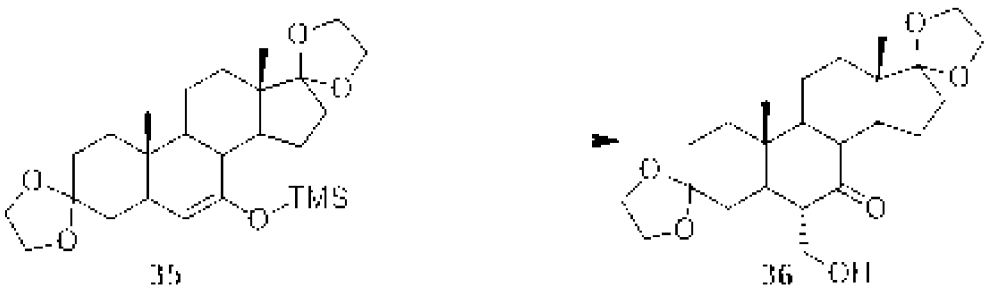
化合物35的合成：1-((20S,7R)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-13-烯-14-基氧基)-1,1-二甲基-1-矽雜乙烷



34 35

【0184】將化合物34（20.0 g，51.3 mmol）在無水THF（100.0 mL）中的混合物在-78℃下攪拌，然後逐滴添加甲苯中的1.5 M LDA（205.2 mL，307.8 mmol）。在相同溫度下攪拌1 hr後，逐滴添加Me_3SiCl（50.0 mL，400.1 mmol）。在-70℃攪拌3 hr後，將溫度升高到-30℃並添加三乙胺（33.5 g，331.5 mmol）。在相同溫度下攪拌1 hr後，將混合物升溫至室溫並添加水（200.0 mL）和EtOAc（100.0 mL）。將分離的水性層用EtOAc萃取。將合併的有機層用鹽水洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾並蒸發至乾。將殘留物透過快速層析進行純化（PE/EA = 2/1），得到作為白色固體的化合物35（14.3 g，60.3 %）。

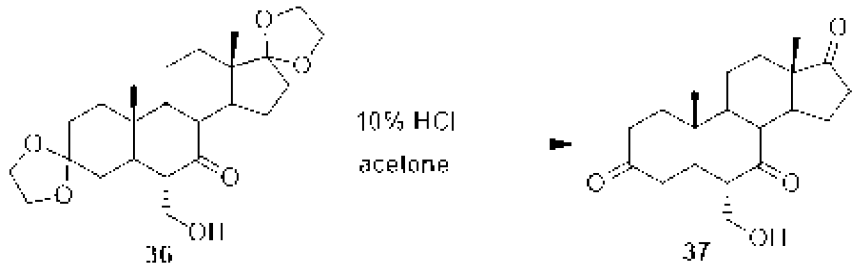
化合物36的合成：(13S,20S,7R)-13-(羥甲基)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-14-酮



35 36

【0185】將2,6-二苯基酚（10.0 g，27.6 mmol）在無水DCM（450.0 mL）中的混合物逐滴添加到Me_3Al在甲苯中的溶液（41.4 mL，82.9 mmol），同時用冰/水浴冷卻，使得溫度不超過室溫。在室溫攪拌1 hr後，將所述溶液在0°C冷卻，並逐滴添加三氧雜環己烷（24.8 g，276.0 mmol）在無水DCM（100.0 mL）中的溶液。將所述淺黃色溶液在0°C繼續攪拌1 hr，然後將溫度冷卻至-78°C。添加化合物35（10.0 g，27.6 mmol）在無水DCM（125 mL）中的溶液。在-78°C攪拌1 h後，將溫度升高到-20°C，並將反應混合物在該溫度下攪拌過夜。在室溫下添加5% $NaHCO_3$水溶液（85.0 mL）。將所述果凍狀混合物透過CELITE®墊過濾，用DCM充分洗滌。將分離的有機層用水洗滌並蒸發。向殘留物添加THF中的約1M TBAF（24.0 mL），並將所述溶液在室溫攪拌1.5 h。將所述溶液用水洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾並蒸發至乾。將殘留物透過快速層析進行純化，給出作為黃色固體的化合物36（6.5 g，71.4%）。

化合物37的合成：(6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基十氫-1H-環戊烷並[a]菲-3,7,17(2H,4H,8H)-三酮

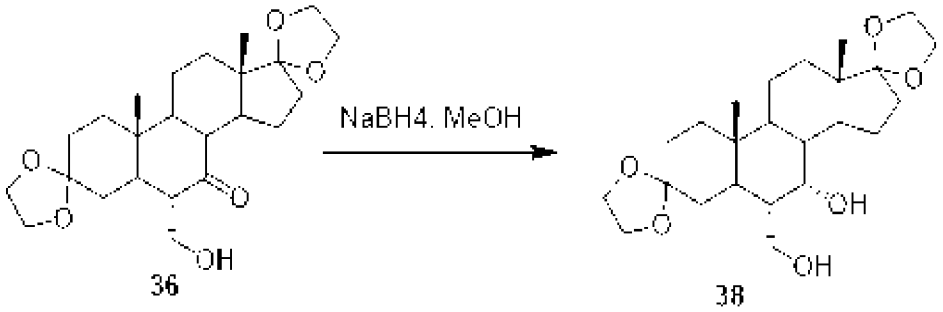


36 37

【0186】將化合物36（8.0 g，19.0 mmol）在丙酮（100.0 mL）中的混合物添加到10%HCl水溶液（50.0 mL）。然後將所述混合物加熱到70°C 1 h。TLC顯示反應完成。將混合物用5%NaOH水溶液淬火，並用DCM（50.0 mL * 2）萃取。

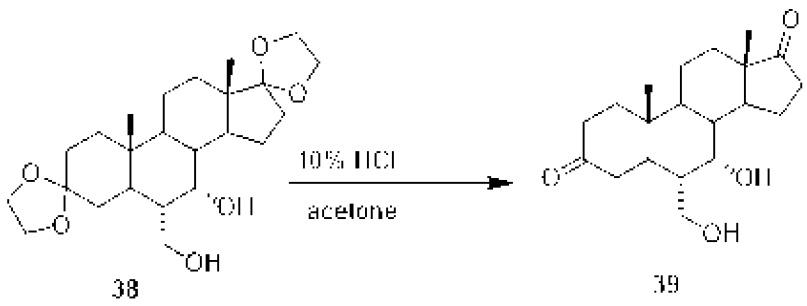
將合併的有機相用鹽水（50.0 mL）洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾，濃縮，並透過快速層析進行純化（DCM/EA = 4/1），得到粗產物，將其用乙醚研磨，得到作為白色固體的純產物37（3.3 g，52.4 %）。

化合物38的合成：(13S,14S,20S,7R)-13-(羥甲基)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-14-醇



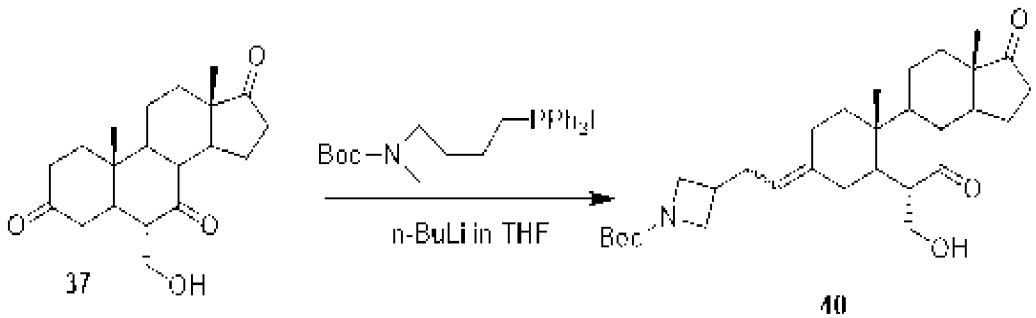
【0187】 在0°C下向化合物36（22.0 g，52.4 mmol）在MeOH（1000.0 mL）中的混合物緩慢添加$NaBH_4$（4.0 g，104.8 mmol）。然後將所述混合物在rt攪拌1 h。TLC顯示反應完成。將混合物用5% NaH_2PO_4水溶液（220.0 mL）淬火，並用DCM（300.0 mL * 3）萃取。將合併的有機相用鹽水（200.0 mL）洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾，濃縮，並透過快速層析進行純化（DCM/EA = 4/1），得到粗產物，將其用乙醚研磨，得到作為白色固體的化合物38（7.5 g，34.1 %）。

化合物39的合成：(8S,9S,15S,2R)-9-羥基-8-(羥甲基)-2,15-二甲基四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-5,14-二酮



【0188】向化合物38（5.7 g，13.5 mmol）在丙酮（70.0 mL）中的混合物添加10%HCl水溶液（35.0 mL）。然後，將所述混合物加熱到70°C 1 h。TLC顯示反應完成。將所述混合物用5%NaOH水溶液淬火，並用DCM（50.0 mL * 2）萃取。將合併的有機相用鹽水（50 mL）洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過快速層析進行純化（DCM/EA = 4/1），得到粗產物，將其用乙醚研磨，得到作為白色固體的純產物39（1.8 g，40.0 %）。

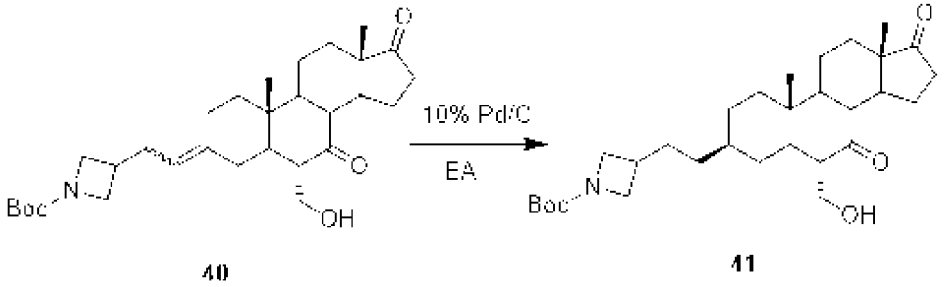
化合物40的合成：(2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)氮雜環丁烷-1-甲酸叔丁酯



【0189】在-78°C下向鏻鹽（2.57 g，4.5 mmol）在THF（25 mL）中的溶液添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5 M，3.6 mL，9.0 mmol）。將所述混合物在30°C

攪拌1小時。接下來，在-20℃下向所述混合物添加化合物37（500 mg，1.5 mmol），然後升溫至30℃ 2小時。將所述混合物用飽和NH_4Cl（25 mL）淬火，並用EtOAc（25 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物在矽膠上透過柱層析進行純化（己烷/EtOAc = 1/1），給出粗品化合物。將所述化合物透過反相柱進行純化，得到作為白色固體的純化合物40（60 mg，8%）。

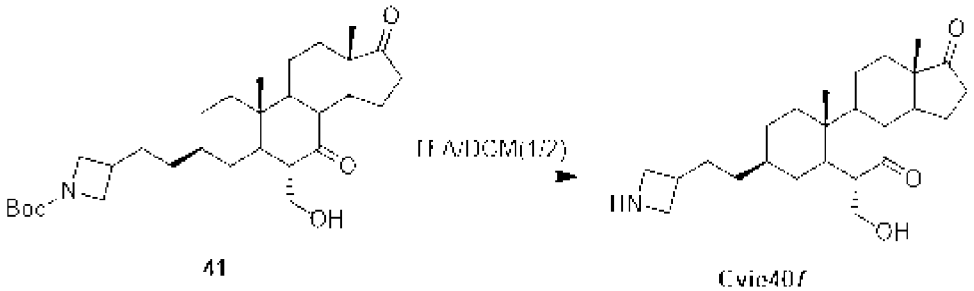
化合物41的合成：3-(2-((3S,6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)氮雜環丁烷-1-甲酸叔丁酯



40 41

【0190】 向化合物40（60 mg，0.12 mmol）在EA（3 mL）中的溶液添加Pd/C（60 mg）。然後將所述混合物在H_2下在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，產生作為白色固體的化合物41（52 mg，86%）。

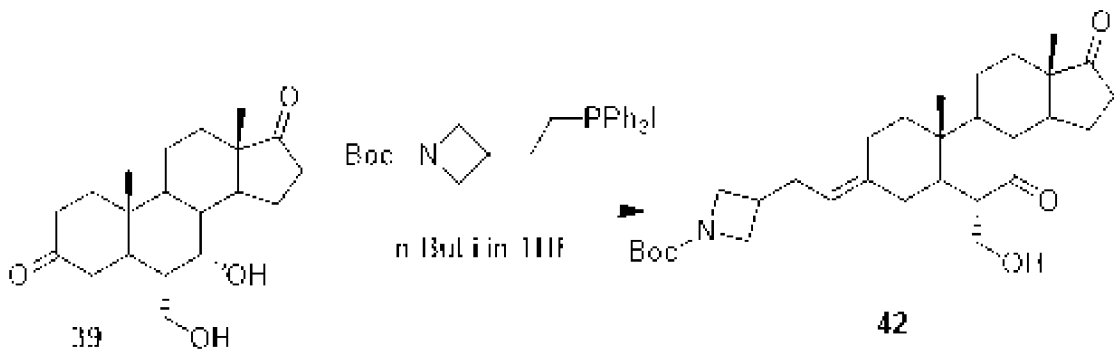
CVie407的合成：(3S,6S,10R,13S)-3-(2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



41 Cvie407

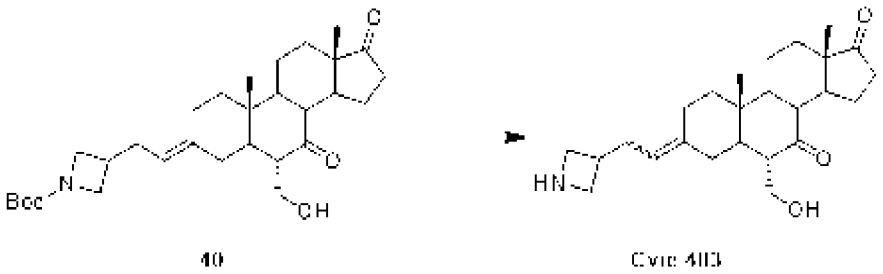
【0191】將化合物41（52 mg，0.10 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌1小時。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH 8-9。將混合物用DCM（25 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為白色固體的化合物Cvie407（13 mg，32%）。

化合物42的合成：3-((E)-2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)氮雜環丁烷-1-甲酸叔丁酯



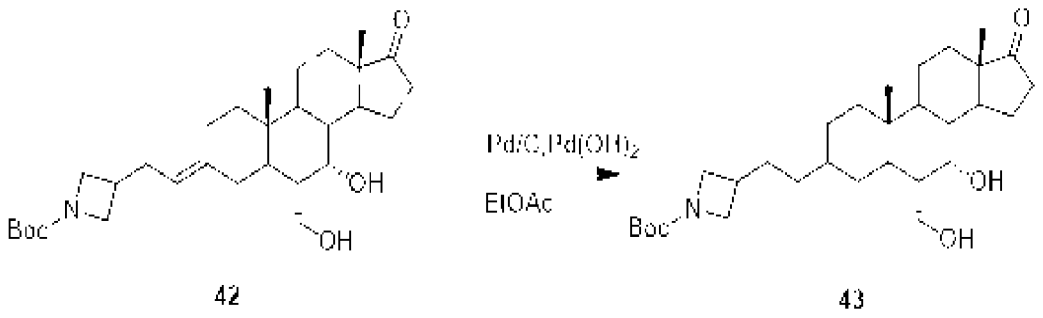
【0192】在-78℃下向化合物鏻鹽（514 mg，0.90 mmol）在THF（5 mL）中的溶液添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5 M，0.7 mL，1.80 mmol）。將所述混合物在40℃攪拌1小時。然後，在0℃下向所述混合物添加化合物39（100 mg，0.30 mmol），然後升溫至40℃過夜。將反應重複9次。將混合物用飽和NH_4Cl（80 mL）淬火，並用EtOAc（100 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物42（20 mg，1%）。

CVie403的合成：(6S,10R,13S)-3-(2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



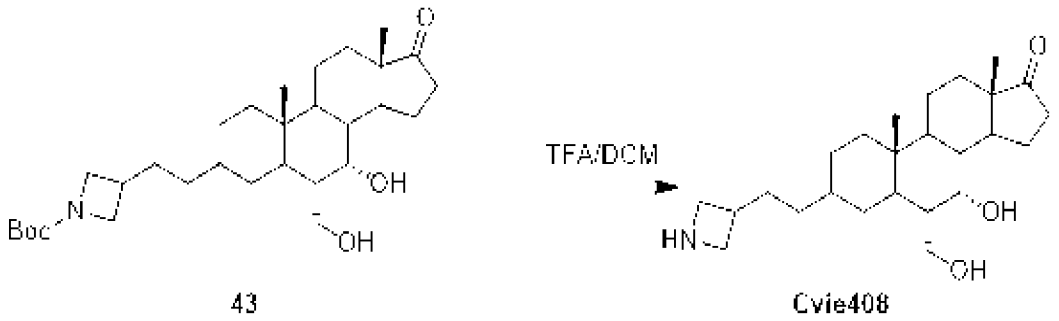
【0193】將化合物40（130 mg，0.26 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌1小時。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$鹼化至pH 8-9。將混合物用DCM（30 mL *3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie403（13 mg，產率13%）。

化合物43的合成：3-(2-((6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-17-氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)氮雜環丁烷-1-甲酸酯



【0194】將化合物42（20 mg，0.04 mmol）、Pd/C（10%，20 mg）和$Pd(OH)_2$（20%，20 mg）在EtOAc（2 mL）中的混合物在H_2下（在氣球中）在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，給出作為棕色固體的粗品化合物43（20 mg，100%）。

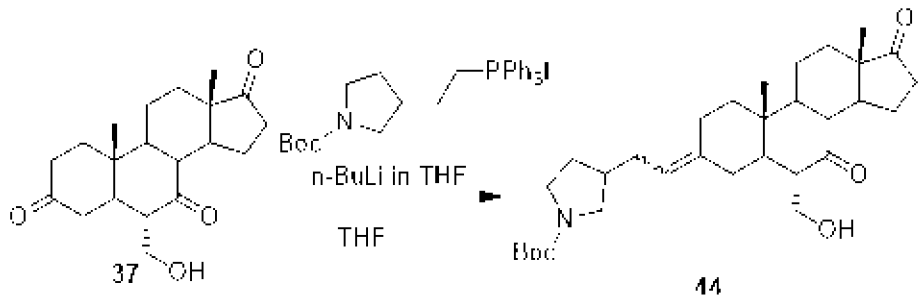
CVie408的合成：(6S,7S,10R,13S)-3-(2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基十四氫-1H-環戊烷並[a]菲-17(2H)-酮



43 Cvie408

【0195】 將化合物43（20 mg，0.04 mmol）在TFA/DCM（1:1，2 mL）中的混合物在0°C攪拌30分鐘。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調節到pH 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie408（6.4 mg，40%）。

化合物44的合成：3-(2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

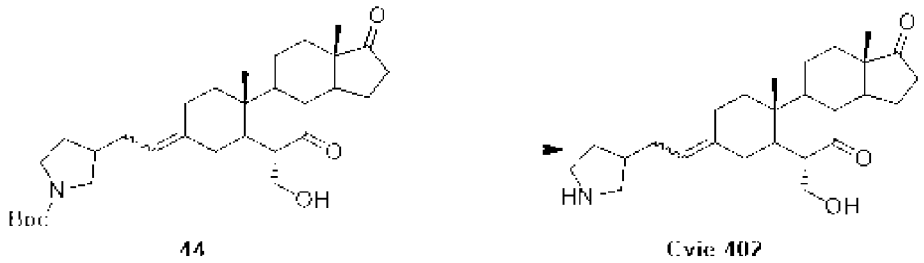


37 44

【0196】 在-78°C下向化合物鏻鹽（1.5 g，2.62 mmol）在THF（15 mL）中的溶液添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5M，1.57 mL，3.94 mmol）。將所述反應

混合物在35℃攪拌1小時。然後，在-20℃下向所述混合物添加化合物37（350 mg，1.05 mmol）的溶液，並升溫至室溫2小時。將混合物用飽和NH_4Cl（25 mL）淬火，並用EtOAc（25 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過快速層析進行純化（己烷:EA = 1:1）給出粗品化合物。然後將所述化合物透過反相柱進行純化，得到作為白色固體的純化合物44（53 mg，10%）。

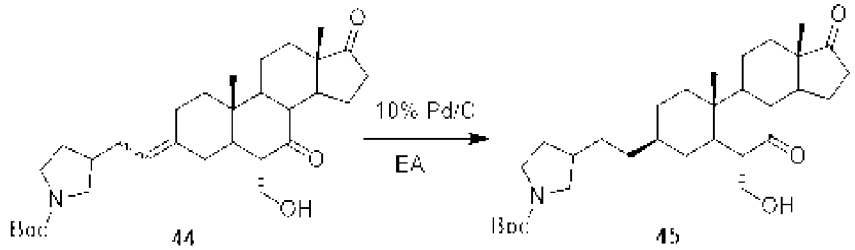
CVie402的合成：(6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(吡咯烷-3-基)亞乙基)十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



44 Cvie 402

【0197】將化合物44（89 mg，0.173 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌1小時。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH = 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為白色固體的化合物CVie402（38 mg，53%）。

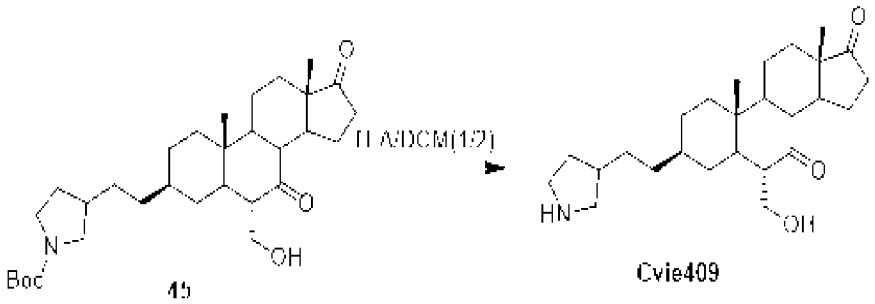
化合物45的合成：3-(2-((3S,6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



44 45

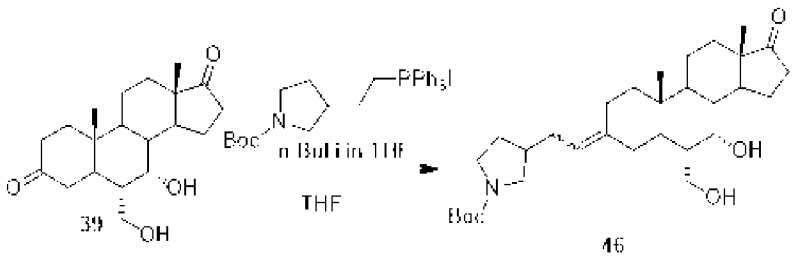
【0198】將化合物44（53 mg，0.103 mmol）在EA（3 mL）中的溶液添加到Pd/C（60 mg）。然後將所述混合物在H_2下在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，產生作為白色固體的化合物45（50 mg，94%）。

CVie409的合成：(3S,6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(吡咯烷-3-基)乙基)十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



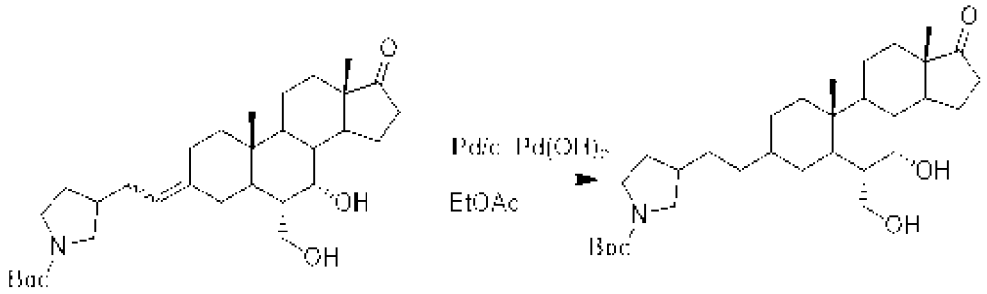
【0199】將化合物45（50 mg，0.09 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌1小時。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為白色固體的化合物CVie409（12 mg，32%）。

化合物46的合成：3-(2-((6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-17-氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



【0200】 在-78℃下向化合物鏻鹽（527 mg，0.90 mmol）在THF（5 mL）中的溶液添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5M，0.7 mL，1.80 mmol）。將所述反應混合物在35℃攪拌1小時。然後在0℃下向所述混合物添加化合物39（100 mg，0.30 mmol），然後升溫至35℃過夜。將反應重複四次。將所述混合物用飽和NH_4Cl（80 mL）淬火並用EtOAc（100 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，給出作為白色固體的化合物46（26 mg，3%）。

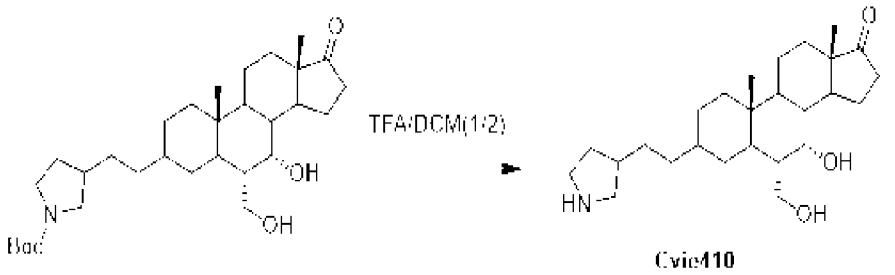
化合物47的合成：3-(2-((6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-17-氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



46 47

【0201】 將化合物46（26 mg，0.05 mmol）、Pd/C（10%，30 mg）和$Pd(OH)_2$（20%，30 mg）在EtOAc（3 mL）中的混合物在H_2下（在氣球中）在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，給出作為黃色固體的粗品化合物47（26 mg，100%）。

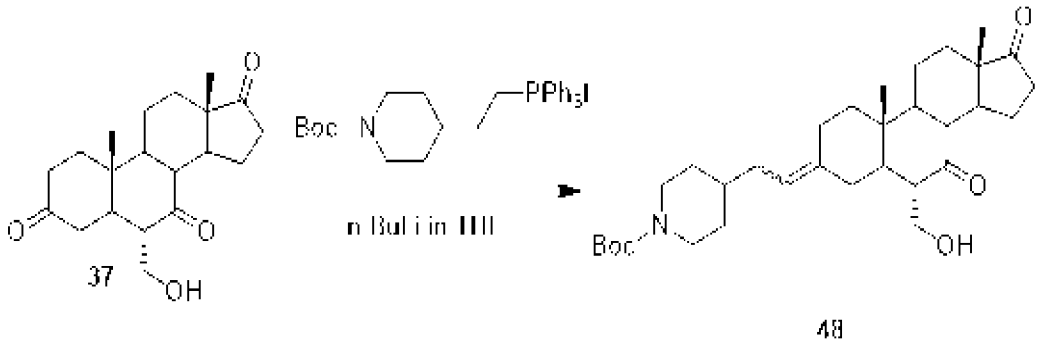
CVie410的合成：(6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(吡咯烷-3-基)乙基)十四氫-1H-環戊烷並[a]菲-17(2H)-酮



47

【0202】將化合物47（26 mg，0.05 mmol）在TFA/DCM（1:2，2 mL）中的溶液在0℃攪拌1小時。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH 8-9。將混合物用DCM（20 mL * 3）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie410（9 mg，43%）。

化合物48的合成：4-(2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯

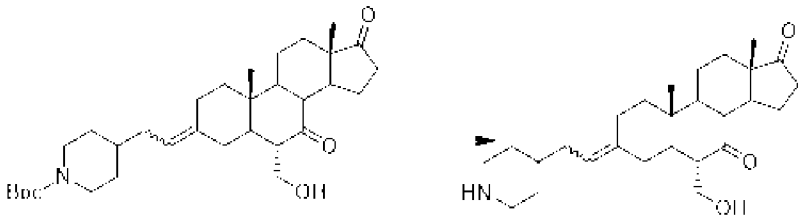


48

【0203】在-78℃下向化合物鏻鹽（2.16 g，3.60 mmol）在THF（16 mL）中的混合物添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5 M，2.90 mL，7.20 mmol）。將所述反應混合物在30℃攪拌1小時。然後在-20℃下向所述混合物添加化合物37（400 mg，

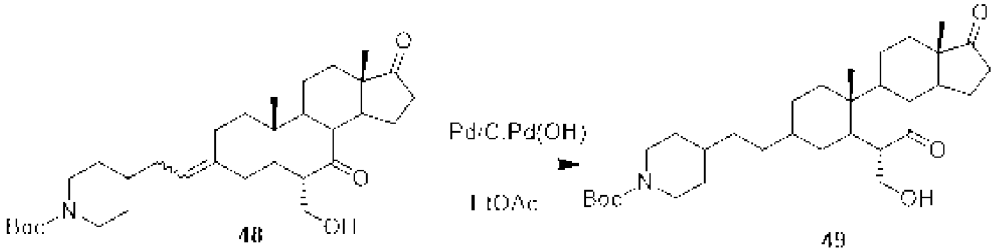
1.20 mmol）。將混合物在-20°C攪拌30分鐘，然後升溫至30°C 2小時。將混合物用飽和NH_4Cl（15 mL）淬火並用EtOAc（30 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，給出作為黃色固體的化合物48（28 mg，4%）。

CVie405的合成：(6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(哌啶-4-基)亞乙基)十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



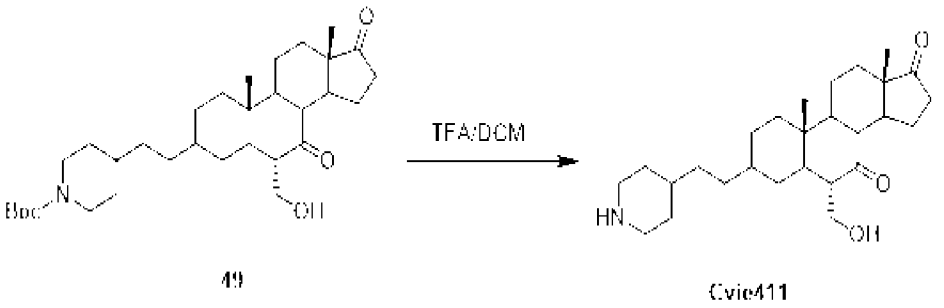
【0204】將化合物46（80 mg，0.152 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌30分鐘。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$鹼化至pH = 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie405（30 mg，46%）。

化合物49的合成：4-(2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯



【0205】將化合物48（28 mg，0.05 mmol）和Pd/C（10%，50 mg）在EtOAc（2 mL）中的混合物在H_2下（在氣球中）在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，給出作為黃色固體的粗品化合物49（28 mg，100%）。

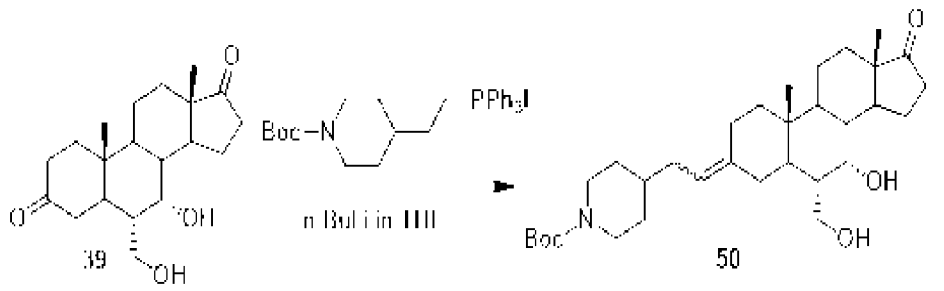
CVie411的合成：(6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(哌啶-4-基)乙基)十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



49 Cvie411

【0206】將化合物49（28 mg，0.05 mmol）在TFA/DCM（1mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌30分鐘。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie411（10 mg，43%）。

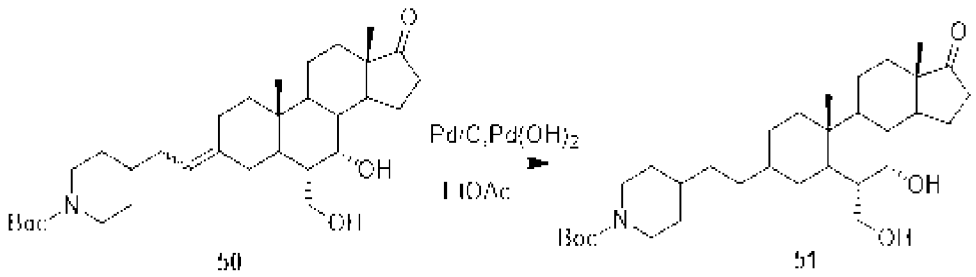
化合物50的合成：4-(2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯



39 50

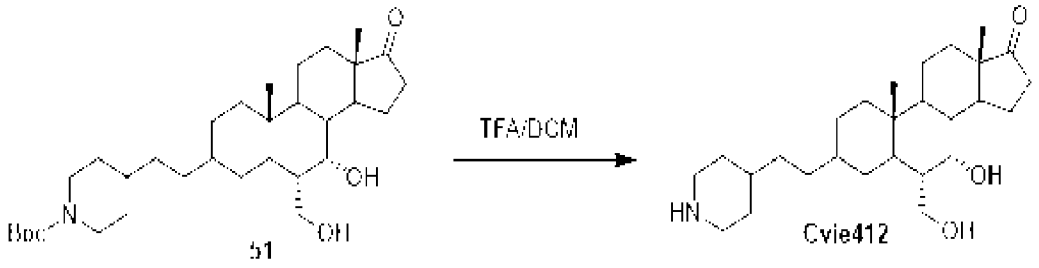
【0207】 在-78℃下向鏻鹽（540 mg，0.90 mmol）在THF（5 mL）中的溶液添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5 M，0.70 mL，1.80 mmol）。將反應混合物在40℃攪拌1小時。然後在0℃下向所述混合物添加化合物39（100 mg，0.30 mmol），然後升溫至40℃ 2小時。將反應重複5次。將所述混合物用飽和NH_4Cl（80 mL）淬火並用EtOAc（100 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，給出作為白色固體的粗品化合物50（35 mg，4%）。

化合物51的合成：4-(2-((6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-17-氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯



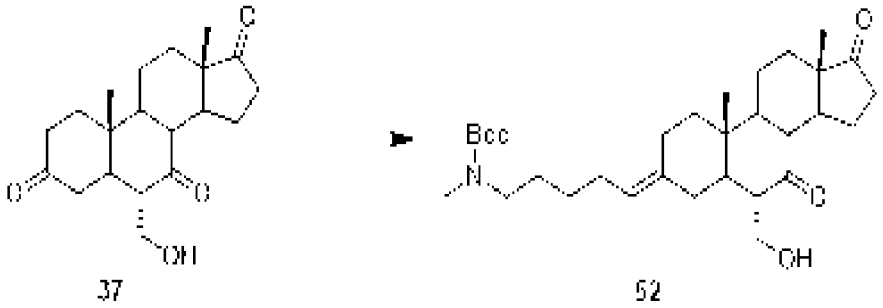
【0208】 將化合物50（35 mg，0.07 mmol）、Pd/C（10%，40 mg）和$Pd(OH)_2$（20%，40 mg）在EtOAc（2 mL）中的混合物在H_2下（在氣球中）在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，給出作為棕色固體的粗品化合物51（35 mg，100%）。

CVie412的合成：(6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(哌啶-4-基)乙基)十四氫-1H-環戊烷並[a]菲-17(2H)-酮



【0209】 將化合物51（35 mg，0.07 mmol）在TFA/DCM（1:2，2 mL）中的溶液在室溫攪拌30分鐘。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie412（13 mg，46%）。

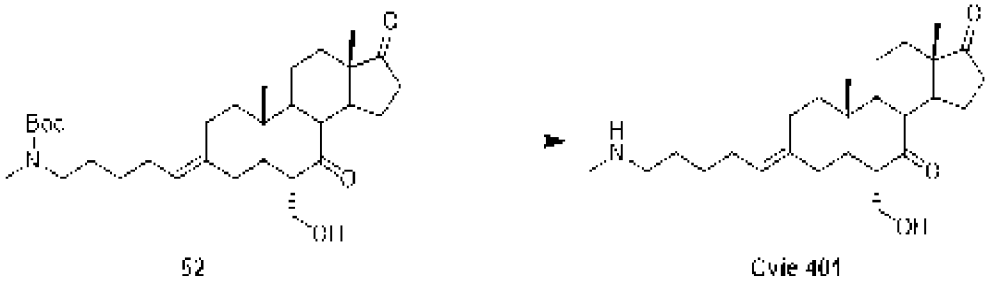
化合物52的合成：((E)-5-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)戊基)(甲基)胺基甲酸叔丁酯



【0210】 在-78℃下，向N-Boc-N-甲基-5-三苯基鏻戊烯胺碘化物（4.26 g，7.23 mmol）在THF（50 mL）中的混合物逐滴添加n-BuLi（3.18 mL，7.95 mmol）。將混合物在0℃攪拌20 min。然後將混合物冷卻至-30℃。然後向所述反應混合物

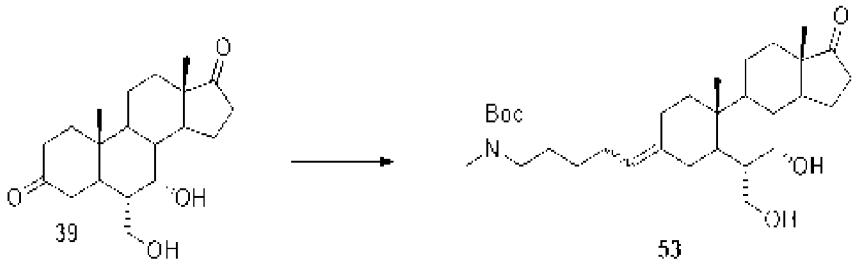
添加化合物37（800 mg，2.41 mmol）。將所述混合物在r.t攪拌過夜。將反應混合物用H_2O淬火並濃縮。將殘留物在矽膠上透過柱層析進行純化（PE/EtOAc = 1/2），然後透過製備HPLC進行純化，產生作為無色油狀物的化合物52（36 mg，200 mg）。

CVie401的合成：(6S,10R,13S,E)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(5-(甲基胺基)亞戊基)十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



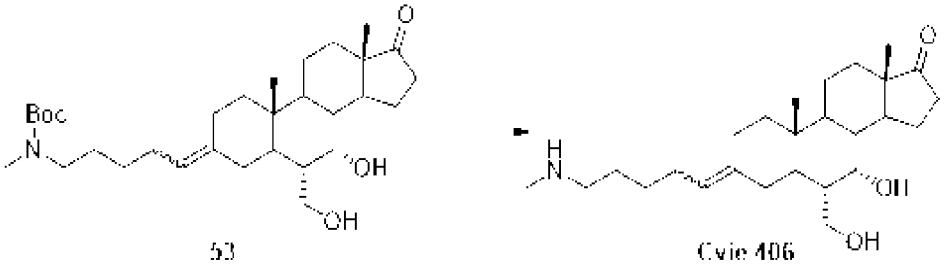
【0211】將化合物52（60 mg，0.116 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的混合物在室溫攪拌過夜。然後將混合物濃縮並用EtOAc稀釋，用飽和Na_2CO_3洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮，產生作為黃色油狀物的化合物CVie401（38 mg，79%）。

化合物53的合成：(5-((6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-17-氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)戊基)(甲基)胺基甲酸叔丁酯



【0212】 在-78°C下，向N-Boc-N-甲基-5-三苯基鏻戊烯胺碘化物（4.39 g，7.45 mmol）在THF（45 mL）中的混合物逐滴添加nBuLi在THF中的溶液（4.46 mL，2.5 N，11.16 mmol）。然後將混合物在0°C攪拌20 min。將混合物冷卻至-50°C並添加化合物39（830 mg，2.48 mmol）。將混合物在r.t攪拌過夜。將所述混合物用H_2O淬火，濃縮，並透過柱層析進行純化（PE/EtOAc = 1/1），然後透過製備HPLC進行純化，給出作為白色固體的化合物53（80 mg，300 mg）。

CVie406的合成：(6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(5-(甲基胺基)亞戊基)十四氫-1H-環戊烷並[a]菲-17(2H)-酮

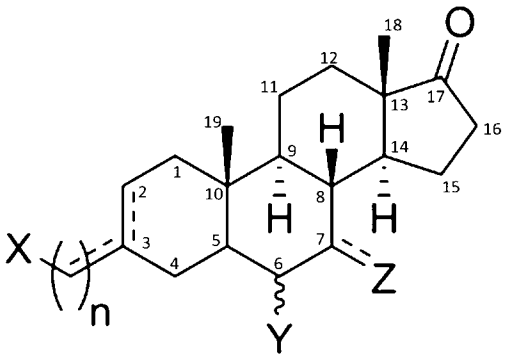


【0213】 將化合物53（80 mg，0.155 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌10分鐘。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$鹼化至pH = 8-9。將混合物用DCM（25 mL*2）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。

將殘留物透過製備HPLC進行純化，給出作為黃色固體的化合物CVie406（60 mg，94%）。

【0214】 本發明可以被描述在一個或多個下述方面或其組合中：

【0215】 方面1：一種化合物，其具有式(I)



其中，X是羧酸、羧酸酯及其生物電子等排體（例如，硫酸酯、磺酸、磷酸酯、膦酸酯和含氮雜環例如三唑和四唑）、一級醇、醚或胺基（例如，一級胺、二級胺或環胺）中的任一者；

n是1、2、3、4或5；

C3-C1’虛線表示選擇性的環外雙鍵C=C；

C2-C3虛線表示選擇性的環內雙鍵C=C；

C6處的Y是採取α-或β-構型的羥基（OH）或採取α-構型的羥甲基（CH_2OH）；

C7處的Z可以是-H或採取α-構型的-OH或酮。所述虛線表示在該位置中選擇性的羰基（C=O）。

或其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物。

【0216】 方面2：方面1所述的化合物，其中X選自下列所組成之群組：羧酸、羧酸酯、一級胺、二級胺和環胺。

【0217】 方面3：方面1所述的化合物，其中X是羧酸或羧酸酯。

【0218】 方面4：方面1所述的化合物，其中X不是一級胺、二級胺或環胺。

【0219】 方面5：方面1所述的化合物，其選自下列所組成之群組：(E)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(Z)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(E)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(Z)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(E)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(Z)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(E)-3-(4-胺基丁基)-6α-羥基雄-2-烯-17-酮氫碘酸鹽；3-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥基雄-2-烯-17-酮氫碘酸鹽；(EZ)-3-(4-胺基亞丁基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(E)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(Z)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(6α-羥基-17-酮雄烷-3β-基)乙酸乙酯；4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸；4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸乙酯；6-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸乙酯；6-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸；(E,Z)-3-(5-N-甲基胺基亞戊基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(E,Z)-3-[2-(吡咯烷-3-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(E,Z)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(E,Z)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(E,Z)-3-(5-N-甲基胺基亞戊基)-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；3β-[2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(吡咯烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；3β-[2-(吡咯烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；和3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮。

【0220】 方面6：方面1所述的化合物，其選自下列所組成之群組：(E)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(Z)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(E)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(Z)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(6α-羥基-17-酮雄烷-3β-基)乙酸乙酯；4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；4-(6β-

羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸；4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸乙酯；6-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸乙酯；和6-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸。

【0221】 方面7：方面1所述的化合物，其選自下列所組成之群組：4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸和2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸。

【0222】 方面8：方面1-7中的任一者所述的化合物，其中所述藥學上可接受的鹽選自氯化物、溴化物、硫酸鹽、磷酸鹽、硝酸鹽、福馬酸鹽、琥珀酸鹽、草酸鹽、蘋果酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽、檸檬酸鹽、甲磺酸鹽和苯甲酸鹽。

【0223】 方面9：一種藥物組合物，其用於心臟衰竭的治療方法中，所述藥物組合物包含一種或多種方面1-8中的任一者所述的化合物與至少一種藥學上可接受的載體及/或賦形劑的組合。

【0224】 方面10：方面9所述的藥物組合物，其被配製成用於腸內給藥、腸胃外給藥或吸入。

【0225】 方面11：方面10所述的藥物組合物，其被配製成用於口服給藥。

【0226】 方面12：方面11所述的藥物組合物，其以約1 mg/kg至約20 mg/kg的劑量給藥，選擇性地所述劑量在約1 mg/kg至約10 mg/kg之間。

【0227】 方面13：方面9所述的藥物組合物，其被配製成用於靜脈內給藥。

【0228】 方面14：方面13所述的藥物組合物，其以約0.125 mg/kg至約10 mg/kg的劑量給藥，選擇性地所述劑量在約0.25 mg/kg至約5 mg/kg之間。

【0229】 方面15：方面9所述的藥物組合物，其被配製成用於肌肉內注射。

【0230】 方面16：方面15所述的藥物組合物，其以約0.25 mg/kg至約50 mg/kg的劑量給藥，選擇性地所述劑量在約0.25 mg/kg至約35 mg/kg之間。

【0231】 方面17：方面9-16中的任一者所述的藥物組合物，其每天至少給藥一次。

【0232】 方面18：方面9-17中的任一者所述的藥物組合物，其還包含一種或多種另外的治療活性成分。

【0233】 方面19：方面18所述的藥物組合物，其中所述一種或多種另外的治療活性成分選自下列所組成之群組：ACE抑制劑、AIRB、利尿劑、Ca^{2+}通道阻滯劑、β-阻斷劑、毛地黃、NO供體、血管擴張劑、SERCA2a刺激劑、腦啡肽酶（NEP）抑制劑、肌球蛋白絲活化劑、重組鬆弛素-2媒介物、重組NP蛋白、可溶性鳥苷酸環化酶（sGC）的活化劑和血管收縮肽II受體的β-抑制蛋白配體。

【0234】 方面20：方面19所述的藥物組合物，其中所述利尿劑選自下列所組成之群組：呋塞米、布美他尼、托拉塞米、美托拉宗、醛固酮拮抗劑、噻嗪類利尿劑。

【0235】 方面21：方面19所述的藥物組合物，其中所述ACE抑制劑是利欣諾普或雷米普利。

【0236】 方面22：方面18所述的藥物組合物，其中所述一種或多種另外的治療活性成分選自下列所組成之群組：纈沙坦、坎地沙坦、奧美沙坦、替米沙坦、洛沙坦、沙庫比曲、卡維地洛、omecamtiv和美托洛爾。

【0237】 方面23：方面1-8中的任一者所述的化合物，其用作藥物。

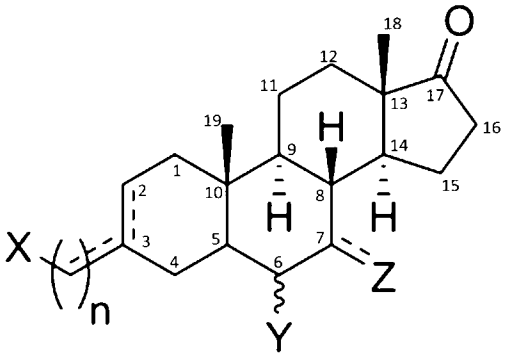
【0238】 方面24：方面23所述的化合物，其用於治療心臟衰竭。

【0239】 方面25：方面24所述的化合物，其用於治療急性心臟衰竭。

【0240】 方面26：方面24所述的化合物，其用於治療慢性心臟衰竭。

【0241】 方面27：一種治療患有心臟衰竭的個體的方法，所述方法包括下述步驟：（1）提供患有心臟衰竭的個體；（2）向所述個體給藥治療有效量的藥物組合物，所述藥物組合物包含(i)藥學上可接受的載體和(ii)顯著純SERCA2a刺激劑或其藥學上可接受的鹽、溶劑化物或水合物；以及（3）測量一種或多種心臟功能參數；其中所述藥物組合物的給藥導致心臟功能改善。

【0242】 方面28：方面27所述的方法，其中所述顯著純SERCA2a刺激劑具有通式(I)：



其中：

X選自下列所組成之群組：羧酸、羧酸酯、羧酸或羧酸酯的生物電子等排體（例如，硫酸酯、磺酸、磷酸酯、膦酸酯和含氮雜環例如三唑和四唑）、一級醇、醚或胺基（例如，一級胺、二級胺或環胺）中的任一者；

Y是採取α-構型的羥基（OH）、採取β-構型的羥基（OH）或採取α-構型的羥甲基（CH_2OH）；

Z選自下列所組成之群組：氫（H）、採取α-構型的羥基（OH）和酮（O）；

n在1至5之間；並且

虛線表示選擇性的雙鍵（C=C）。

【0243】 方面29：方面28所述的方法，其中X選自下列所組成之群組：羧酸、羧酸酯、一級胺、二級胺和環胺。

【0244】 方面30：方面28所述的方法，其中X是羧酸或羧酸酯。

【0245】 方面31：方面28所述的方法，其中X不是一級胺、二級胺或環胺。

【0246】 方面32：方面28所述的方法，其中所述顯著純SERCA2a刺激劑選自下列所組成之群組：(E)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(Z)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(E)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(Z)-4-(6β-

羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(E)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(Z)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(E)-3-(4-胺基丁基)-6α-羥基雄-2-烯-17-酮氫碘酸鹽；3-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥基雄-2-烯-17-酮氫碘酸鹽；(E,Z)-3-(4-胺基亞丁基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(E)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；(Z)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮;(6α-羥基-17-酮雄烷-3β-基)乙酸乙酯;4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸；4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸乙酯；6-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸乙酯；6-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸；(E,Z)-3-(5-N-甲基胺基亞戊基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(E,Z)-3-[2-(吡咯烷-3-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(E,Z)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(E,Z)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；(E,Z)-3-(5-N-甲基胺基亞戊基)-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；3β-[2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(吡咯烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；3β-[2-(吡咯烷-3-基)乙基]6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；和3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮。

【0247】 方面33：方面28所述的方法，其中所述顯著純SERCA2a刺激劑選自下列所組成之群組：(E)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(Z)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(E)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(Z)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；(6α-羥基-17-酮雄烷-3β-基)乙酸乙酯；4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸；4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸乙酯;6-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸乙酯；和6-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸。

【0248】 方面34：方面28所述的方法，其中所述顯著純SERCA2a刺激劑選自下列所組成之群組：4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸和2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸。

【0249】 方面35：方面28-34中的任一者所述的方法，其中所述藥學上可接受的鹽選自氯化物、溴化物、硫酸鹽、磷酸鹽、硝酸鹽、福馬酸鹽、琥珀酸鹽、草酸鹽、蘋果酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽、檸檬酸鹽、甲磺酸鹽和苯甲酸鹽。

【0250】 方面36：方面28-35中的任一者所述的方法，其中所述藥物組合物口服給藥。

【0251】 方面37：方面36所述的方法，其中所述藥物組合物以約1 mg/kg至約20 mg/kg的劑量給藥，選擇性地所述劑量在約1 mg/kg至約10 mg/kg之間。

【0252】 方面38：方面28-35中的任一者所述的方法，其中所述藥物組合物靜脈內給藥。

【0253】 方面39：方面38所述的方法，其中所述藥物組合物以約0.125 mg/kg至約10 mg/kg的劑量給藥，選擇性地所述劑量在約0.25 mg/kg至約5 mg/kg之間。

【0254】 方面40：方面28-35中的任一者所述的方法，其中所述藥物組合物肌肉內給藥。

【0255】 方面41：方面40所述的方法，其中所述藥物組合物以約0.25 mg/kg至約50 mg/kg的劑量給藥，選擇性地所述劑量在約0.25 mg/kg至約35 mg/kg之間。

【0256】 方面42：方面28-41中的任一者所述的方法，其中所述藥物組合物包含一種或多種另外的治療活性成分。

【0257】 方面43：方面42所述的方法，其中所述一種或多種另外的治療活性成分選自下列所組成之群組：ACE抑制劑、AIRB、利尿劑、Ca^{2+}通道阻滯劑、β-阻斷劑、毛地黃、NO供體、血管擴張劑、SERCA2a刺激劑、腦啡肽酶（NEP）

抑制劑、肌球蛋白絲活化劑、重組鬆弛素-2媒介物、重組NP蛋白、可溶性鳥苷酸環化酶（sGC）的活化劑和血管收縮肽II受體的β-抑制蛋白配體。

【0258】 方面44：方面43所述的方法，其中所述利尿劑選自下列所組成之群組：呋塞米、布美他尼、托拉塞米、美托拉宗、醛固酮拮抗劑、噻嗪類利尿劑。

【0259】 方面45：方面43所述的方法，其中所述ACE抑制劑是利欣諾普或雷米普利。

【0260】 方面46：方面42所述的方法，其中所述一種或多種另外的治療活性成分選自下列所組成之群組：纈沙坦、坎地沙坦、奧美沙坦、替米沙坦、洛沙坦、沙庫比曲、卡維地洛、omecamtiv和美托洛爾。

【0261】 方面47:方面28-46中的任一者所述的方法,其中所述個體是人類。

【0262】 方面48：方面28-47中的任一者所述的方法，其中所述一種或多種心臟功能參數選自下列所組成之群組：Ca^{2+}暫態（CaT）幅度、Ca^{2+}誘導的Ca^{2+}釋放（CICR）、90%再極化時的動作電位持續時間（APD_{90}）的刺激率依賴性、舒張期膜電位（E_{diast}）、最大去極化速度（dV/dt_{max}）、心率、心臟壓力、收縮壓、舒張壓、LVEF、E/e'比率、E/Ea比率、E/A比率和每搏輸出量。

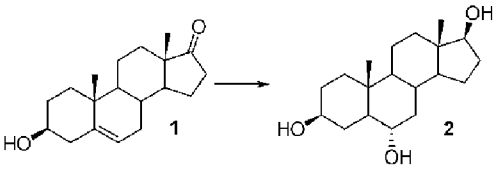
【0263】 方面49：方面28-48中的任一者所述的方法，其中所述測量步驟在所述給藥步驟之前、期間及/或之後進行。

【0264】 下面的實施例進一步說明本發明。

<u>實施例1：式(I)的化合物的製備</u>

【0265】 在下面的實施例中，除非另有陳述，否則化學化合物、溶劑、反應物和任何其他材料來自於商業化來源。通常，式(I)的化合物從脫氫表雄酮（普拉睪固酮）開始透過多步合成來製備。脫氫表雄酮是商業化產品，或者可以從4-雄烯-3,17-二酮（雄烯二酮）開始按照已知的方法來製備。

5α-雄烷-3β,6α,17β-三醇的製備

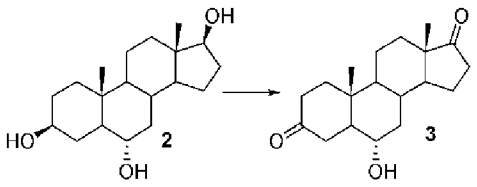


【0266】如全部內容透過引用併入本文的De Munari等（J. Med. Chem., 2003, 46(17):3644-54）中所描述，適用於合成6-α-3,17-雄烷二酮(2)的中間體從脫氫表雄酮1透過硼氫化和隨後的氧化來生產。簡單來說，將脫氫表雄酮1（5 g，17.5 mmol，1 eq.）在THF（85 mL）中的溶液在-20°C和Ar下攪拌。然後向所述攪拌的溶液添加THF中的1M BH_3·THF錯合物（44 mL，44 mmol，2.5 eq.），並將攪拌在室溫繼續3小時。小心地逐滴添加H_2O（85 mL），然後逐滴添加$NaBO_3$·$4H_2O$（5.4 g，35 mmol，2 eq）。在室溫攪拌過夜後，將所述混合物過濾。將固體用THF洗滌，然後捨棄。將澄清液用NaCl飽和並用THF萃取（3 × 40 mL）。將合併的有機萃取液在NaCl和Na_2SO_4上乾燥、過濾並蒸發至乾。將5α-雄烷-3β,6α,17β-三醇2粗產物從EtOAc/MeOH（2/1，10 mL/g）結晶，給出白色固體（3.8 g，70%）。

【0267】5α-雄烷-3β,6α,17β-三醇2的光譜數據：

【0268】^{1}H NMR (DMSO-d6) δ 4.44 (m, 1H, OH), 4.42 (m, 1H, OH), 4.24 (d, 1H, OH), 3.42 (dt, 1H, 16-Ha), 3.26 (m, 1H, 3-H), 3.12 (m, 1H, 6-H), 0.72 (s, 3H, CH_3), 0.60 (s, 3H, CH_3)。mp 232-234°C。

6α-羥基雄烷-3,17-二酮的製備

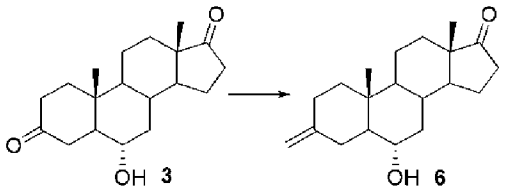


【0269】 中間體3從2透過C3和C17位置處的選擇性氧化來獲得。在0°C下向5α-雄烷-3β,6α,17β-三醇2（2 g，6.5 mmol，1 eq）在二噁烷/H_2O/吡啶（54/10/1 mL）中的攪拌的溶液添加NBS（3.4 g，19.5 mmol，3 eq）。在添加後，允許所述混合物升溫至室溫並攪拌過夜。將所述橙色溶液用水（50 mL）稀釋並用$Na_2S_2O_3$（350 mg）淬火。在真空下蒸發掉有機溶劑，直至白色固體出現。將所述固體過濾並用水洗滌。在40°C下乾燥後，獲得作為白色固體的6α-羥基雄烷-3,17-二酮3（1.3 g，70%）。

【0270】 6α-羥基雄烷-3,17-二酮3的光譜數據：

【0271】 ^{1}H NMR (丙酮-d6) δ 3.61 (d, 1H, OH), 3.48 (m, 1H, 6-H), 1.11 (s, 3H, CH_3), 0.86 (s, 3H, CH_3)。mp 204-206°C，文獻值為206-207（Hammerschmidt & Spiteller, 1973）

雄烷-3-亞甲基-17-酮的合成



【0272】 然後透過在C3羰基上的選擇性威悌反應和隨後與5-戊烯酸的複分解偶聯，將6-α-3,17-雄烷二酮3轉變成外甲烷衍生物6（雄烷-3-亞甲基-17-酮）。在-5°C下，向甲基三苯基溴化鏻（1,66 g，6 mmol，4 eq.）在THF（10 mL）中的

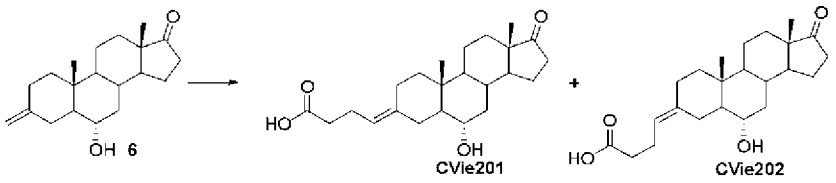
懸液添加t-BuOK（670 mg，6 mmol，4 eq.）。所述溶液立即變色成亮橙色。10分鐘後，添加6α-羥基雄烷-3,17-二酮3（450 mg，1.5 mmol，1eq.），同時保持溫度低於0°C。在添加後，立即透過添加1M HCl水溶液（15 mL）將反應淬火，並用EtOAc萃取（3x20mL）。將合併的有機相在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾。將所述粗萃取物透過柱層析進行純化（洗脫劑EtOAc:石油精4:6），產生376 mg（83%）作為白色泡沫的雄烷-3-亞甲基-17-酮6。

【0273】 雄烷-3-亞甲基-17-酮6的光譜數據：

【0274】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 4.63 (dt, 2H, 3α-CH_2), 3.47 (td, 1H, 6-H), 2.55 (ddd, 1H, 16Ha), 2.44 (ddd, 1H, 16-Hb), 0.89 (s, 3H, CH_3), 0.86 (s, 3H, CH_3), 0.80 – 0.70 (m, 1H, 5-H)。

【0275】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 220.79 (17-C), 148.22 (3-C), 107.40 (3-CH_2), 69.85 (6-C), 13.79 (CH_3), 12.91 (CH_3)。

透過複分解反應從前體6直接合成CVie 20和202



【0276】 向雄烷-3-亞甲基-17-酮6（100 mg，0.33 mmol，1 eq）在DCM（1 mL）中的溶液添加Hoveyda-Grubbs第二代催化劑（12 mg，0.015 mmol，0.05 eq.）。然後將所述溶液在回流下加熱，並且每20分鐘用10 μL 4-戊烯酸處理（總共330 μL，3.3 mmol，10 eq.）。在添加結束後，將混合物繼續回流2h。將反應混合物真空濃縮並透過快速層析進行純化（洗脫劑丙酮:石油精3:7+0.1% HCO_2H），以

獲得兩種不同的白色固體(E)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（4.8 mg，4%）（CVie201）和(Z)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（7.2 mg，6%）（CVie202）。

【0277】 CVie201的光譜數據：

【0278】 ^{1}H NMR (氯仿-d) δ 5.10 (t, J = 7.3 Hz, 1H, 3α-H), 3.50 (td, J = 10.3, 9.8, 6.0 Hz, 1H, 6-H), 2.91 (d, 1H, 16-Ha), 0.89 (s, 3H, CH_3), 0.86 (s, 3H, CH_3), 0.73 (m, 1H, 5-H)。

【0279】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 221.30 (17-C), 178.72 (CO_2), 139.71 (3-C), 119.89(3α-C), 69.95(6-C), 54.03 (5-C), 24.03 (16-C), 13.93(CH_3), 13.06(CH_3)。

【0280】 MS (ESI)：為$C_{23}H_{33}O_4^-$[M^-]計算的值為373,2。實測值：373.4

【0281】 CVie202的光譜數據：

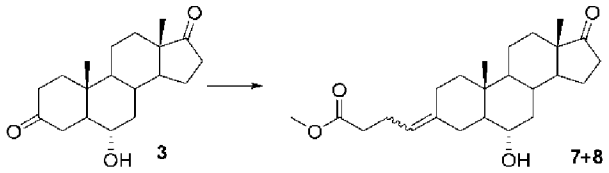
【0282】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 5.10 (t, 1H, 3α -H), 3.50 (td, 1H, 6-H), 2.91 (d, 1H, 16-Ha), 0.89 (s, 3H, CH_3), 0.86 (s, 3H, CH_3), 0.73 (t, 1H, 5-H)。

【0283】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 220.86 (17-C), 177.66 (CO_2), 139.84 (C-3), 119.47 (Ca), 70.08 (C-6), 13.78(CH_3), 12.91 (CH_3)。

【0284】 或者，透過修改威悌反應來獲得CVie201和CVie202。在一種方法（路線A）中，利用極性溶劑例如DMSO和鹼例如NaH使甜菜鹼中間體穩定。第二種方法（路線B）允許使用非質子性溶劑例如THF作為鹼使氧雜磷雜環丁烷中間體穩定。路線A產生非鏡像異構物的混合物（60%的Z/順式CVie202；30%的E/反式CVie201），而路線B提供源自於氧雜磷雜環丁烷中間體的CVie202。任一程序都需要產生如下所述的非鏡像異構物7及/或8。

CVie 201和202透過威悌反應的替代性合成

路線A



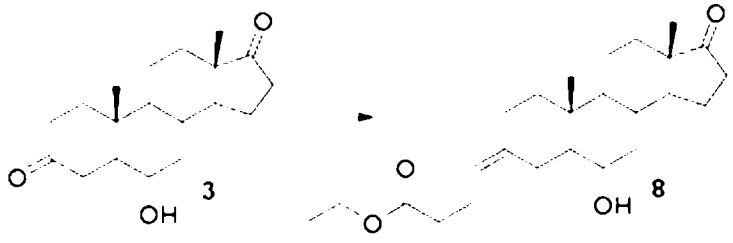
【0285】 在Ar氣環境下向無水DMSO（1 mL）小心地添加礦物油中的60% NaH（100 mg，2.56 mmol，8 eq.）。將得到的溶液在60°C攪拌20分鐘。在室溫冷卻後，添加(3-羧基丙基)三苯基溴化鏻（550 mg，1.28 mmol，4eq.）。立即出現亮橙色顏色。將溶液攪拌2h。然後向所述混合物添加6α-羥基雄烷-3,17-二酮3（100 mg，0.32 mmol，1 eq.）。允許得到的溶液在室溫繼續攪拌4h。將反應混合物用EtOAc（25mL）稀釋，並用1M HCl水溶液（3 x 30mL）洗滌。將有機層在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾，得到25mg粗品材料。

【0286】 將所述粗品材料首先溶解在MeOH（1.5mL）中，然後添加EDC鹽酸鹽（115mg，0.6mmol，2eq.）和DMAP（5mg，0.03 mmol，0.1 eq.）。將所述溶液在室溫攪拌3h。在真空濃縮後，將粗品固體溶解在EtOAc（15 mL）中並用1M HCl水溶液（3 x 10mL）洗滌。將粗產物在矽膠上透過快速層析進行純化（丙酮:Pet.Sp 3:7），得到25 mg包含非鏡像異構物7和8的混合物的透明油狀物（20%）。

【0287】 兩種非鏡像異構物7和8的光譜資料：

【0288】 ^{1}H NMR (氯仿-d) δ 5.16-4.96 (m, 1H, 3α-H), 3.66 (s, 3H, CH_3O), 3.47 (m, 1H, 6-OH), 0.89 (s, 3H,CH_3), 0.86 (s, 3H, CH_3), 0.74 (m, 1H, 5-H)。

路線B



【0289】 在Ar氣環境和-40°C下，向(3-羧基丙基)三苯基溴化鏻（8.5 g，20 mmol，6eq.）的無水THF（33 mL）懸液小心地添加THF中的1M LiHMDS溶液（40 mL，40mmol，12 eq.）。將所述溶液在-40°C攪拌過夜，直至出現亮橙色。然後在-40°C下向所述溶液添加6α-羥基雄烷-3,17-二酮3（1g，3.3mmol，1 eq.）。在室溫攪拌過夜後，將反應混合物用1M HCl水溶液（300mL）淬火並用EtOAc（3 x3 50mL）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾。

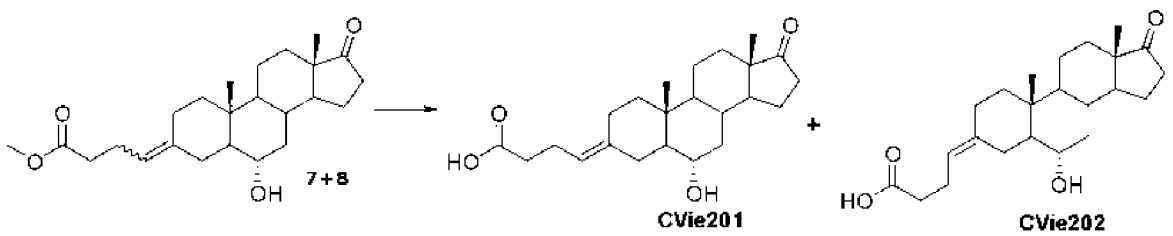
【0290】 將所述粗品材料溶解在無水EtOH（17 mL）中，然後添加EDC鹽酸鹽（1.26mg，6.6mmol，2eq.）和DMAP（50mg，0.3 mmol，0.1 eq.）。允許所述混合物在室溫攪拌3h。將反應在EtOAc（150mL）中稀釋並用1M HCl水溶液（3 x 100mL）洗滌。將粗產物在矽膠上透過快速層析進行純化（丙酮:Pet.Sp 3:7）得到910mg（72%）化合物8。

【0291】 化合物8的光譜數據：

【0292】 ^{1}H NMR (氯仿-d) δ 5.07 (t, 1H, 3α-H), 4.10 (q, 2H, OCH_2), 3.47 (td, 1H, 6-H), 2.91 (d, 1H), 0.88 (s, 3H, CH_3), 0.85 (s, 3H, CH_3), 0.71 (m, 1H, 5-H)。

【0293】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 173.67 (17-C), 139.60 (3α-C), 119.94(3-C), 69.98 (6-C), 60.41 (OCH_2), 51.33 (5-C), 40.37 (CH_3), 13.92 (CH_3), 13.08 (CH_3)。

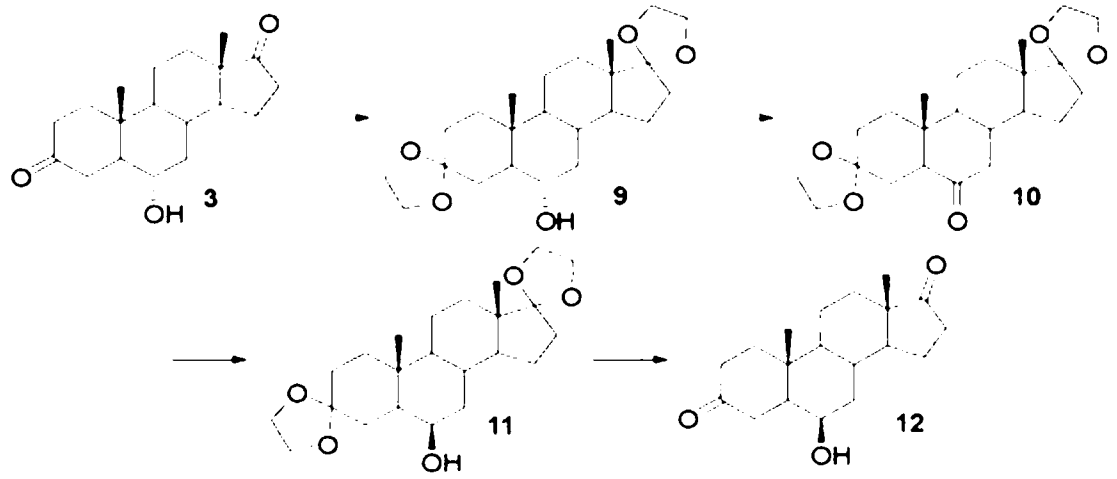
甲基（或乙基）酯的最終水解



【0294】 向甲基酯7和8（25 mg，0.06 mmol，1eq.）在THF（600 µL）和水（200 µL）中的溶液添加1M LiOH水性溶液（150 µL，2.5eq.）。2h後，將反應用水（10 mL）稀釋，並透過添加1M HCl直至溶液達到pH 1進行淬火。將水性相用EtOAc（3 x 15mL）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾。將粗品透過快速層析進行純化（AcOEt:Pet.Sp. 7:3 1% HCOOH）。獲得兩種白色固體，對應於E（7 mg，31%）和Z（12 mg，54%）非鏡像異構物（分別為CVie201和CVie202）。

【0295】 ^{1}H NMR (氯仿-d) δ 5.12 (bt, 1H, 3α-H), 3.51-3.42 (m, 1H, 6-H), 0.90 (s, 3H, CH_3), 0.86 (s, 3H, CH_3), 0.79-0.69 (m, 1H, 5-H)。

CVie 203和204的合成方式：中間體化合物12的合成



【0296】 為了製備CVie203和CVie204，首先從6-α-3,17-雄烷二酮3生產前體12。透過與乙二醇和酸催化劑（p-tSA或樟腦磺酸）的組合在甲苯中反應，將6-α-3,17-雄烷二酮3的羰基作為二縮酮進行保護，得到化合物9。將化合物9用PCC或其他氧化劑氧化給出化合物10，然後將其用$NaBH_4$或KBH_4還原，產生C6-羥基選擇性地採取β-構型的的被保護的醇11。如De Munari等（J. Med. Chem., 2003, 46(17):3644-54）中所述在丙酮中透過酸性處理對所述環狀二縮酮進行最後裂解，得到前體12。

【0297】 簡單來說，將6α-羥基雄烷-3,17-二酮（1.5 g，4.9 mmol，1 eq）、乙二醇（10.5 mL，88 mmol，36eq）和PTSA（561 mg，2.9 mmol，0.6 eq）在甲苯（160 mL）中的溶液使用Dean-Stark分水器在回流下攪拌12 h。在冷卻至室溫後，將所述混合物用5% $NaHCO_3$水溶液中和。分離有機層並用H_2O（2×40 mL）洗滌，在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾，產生作為白色固體化合物的3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6α-醇9（1.9 g，98%）。

【0298】 3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6α-醇9的光譜數據：

【0299】 ^1H NMR (DMSO-d6) δ4.25 (d, 1H, OH), 3.88-3.70 (m, 8H, OCH_2), 3.11 (m, 1H, 6-H), 0.74 (s, 3H, CH_3), 0.73 (s, 3H, CH_3)。

【0300】 在0°C下，向3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6α-醇（3 g，14 mmol，1 eq）9和抗壞血酸鈉（1.2 g，14 mmol，4eq.）在無水CH_2Cl_2（87 mL）中的溶液添加PCC（148 mg，0.69 mmol，4 eq）。將所述混合物在室溫攪拌過夜。將混合物用1M HCl水溶液（3 x 30mL）和水（3 x 30 mL）洗滌。將有機層在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾。將粗品在矽膠柱上透過快速層析進行純化（洗脫劑丙酮:石油精 2:8）。獲得作為白色固體的3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6-酮10（1.53 g（96%））。

【0301】 3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6-酮10的光譜數據：

【0302】 ^1H NMR (丙酮-d6) δ 3.97-3.76 (m, 8H, CH_2O), 2.19 (dd, 1H, 16-Ha), 0.84 (s, 3H, CH_3), 0.75 (s, 3H, CH_3)。

【0303】 在0°C下向3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6-酮10（1 g，2.5 mmol，1 eq）在MeOH（13 mL）中的攪拌的懸液添加$NaBH_4$（144 mg，3 mmol，1.2 eq）。在0°C下2 h後，逐滴添加H_2O（40 mL）。將所述混合物用EtOAc（3×40 mL）萃取。將合併的有機萃取液在Na_2SO_4上乾燥、過濾並蒸發至乾，以給出白色固體，其是3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6β-醇11（915 mg，92%）。

【0304】 3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6β-醇11的光譜數據：

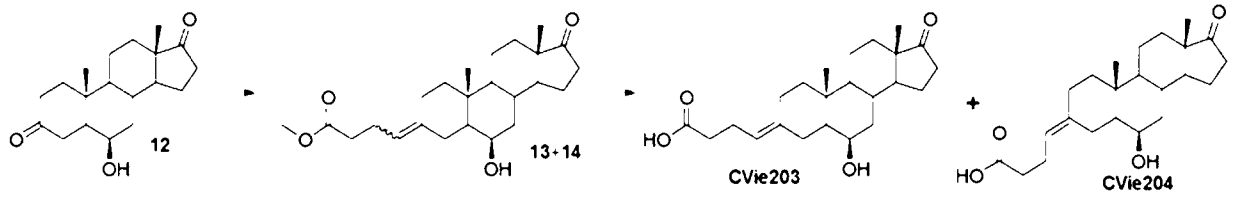
【0305】 ^{1}H NMR (丙酮-d6) δ 3.95-3.75 (m, 8H, OCH_2), 3.70 (m, 1H, 6-H), 3.33 (d, 1H, 6-OH), 1.05 (s, 3H, CH_3), 0.84 (s, 3H, CH_3)。

【0306】 向3,3:17,17-雙(亞乙二氧基)雄烷-6β-醇11（910 mg，2.3 mmol，1 eq）在丙酮（46 mL）中的溶液在5分鐘內添加分成小份的PTSA（2.26 g，11.5 mmol，5 eq）。在室溫攪拌1 h後，透過添加5% $NaHCO_3$水溶液直至pH 7，將所述溶液淬火。在攪拌5分鐘後出現白色固體。在真空中除去揮發物。將懸液用CH_2Cl_2（3 x 30 mL）萃取，並將合併的有機萃取液用鹽水（40 mL）洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾並蒸發。將得到的固體與正己烷/EtOAc 8/2（10 mL）攪拌45分鐘，然後透過過濾進行收集。將所述固體在45°C乾燥3小時。得到568 mg（81%）白色固體（即6β-羥基雄烷-3,17-二酮12）。

【0307】 6β-羥基雄烷-3,17-二酮12的光譜數據：

【0308】 ^{1}H NMR (DMSO-d6) δ 4.47 (d, 1H, OH), 3.57 (m, 1H, 6-H), 1.13 (s, 3H, CH_3), 0.81 (s, 3H, CH_3)。

12轉變成最終的CVie 203和204



【0309】 然後使用上文為CVie201和CVie202描述的相同程序，透過威悌反應從前體12獲得CVie203和CVie204。利用NOESY實驗來鑑定兩種異構物中C3-C1'雙鍵處的構型。

【0310】 簡單來說，在Ar氣環境下向無水DMSO（1 mL）添加礦物油中的60% NaH（100 mg，2.56 mmol，8 eq.）。將得到的溶液在60°C攪拌20分鐘。在

室溫冷卻後，添加(3-羧基丙基)三苯基溴化鏻（550 mg，1.28 mmol，4eq.）。立即出現亮橙色顏色。將所述溶液攪拌2h。然後向所述混合物添加6β-羥基雄烷-3,17-二酮12（100 mg，0.32 mmol，1 eq.）。允許得到的溶液在室溫繼續攪拌4h。將反應混合物用EtOAc（25mL）稀釋並用1M HCl水溶液（3 x 30mL）洗滌。將有機層在Na_2SO_4上乾燥並蒸發至乾，得到25mg粗品材料。

【0311】 然後將所述粗品材料溶解在MeOH（1.5mL）中。添加EDC鹽酸鹽（115mg，0.6mmol, 2eq.）和DMAP（5mg，0.03 mmol，0.1 eq.）。將所述溶液在室溫攪拌3h。在真空濃縮後，將粗品固體溶解在EtOAc（15 mL）中並用1M HCl水溶液（3 x 10mL）洗滌。將所述粗產物在矽膠上透過快速層析進行純化（丙酮:Pet.Sp 3:7），得到非鏡像異構物13和14的混合物，產率分別為17%和30%。

【0312】 化合物13的光譜數據：

【0313】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 5.07 (bs, 1H, 3α-H), 3.85 (d, 1H, 6-H), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 2.54 – 2.39 (m,2H, 3γ-H), 1.10 (s, 3H, CH_3), 0.89 (s, 3H,CH_3), 0.80 – 0.69 (m, 1H, 5-H)。

【0314】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 219.74 (17-C), 167.24 (CO_2), 140.38 (3-C), 119.60 (3α-C), 71.52 (6-C), 54.45 (5-C), 51.22 (OCH_3), 14.09 (CH_3), 13.86 (CH_3)。

【0315】 化合物14的光譜數據：

【0316】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 5.07 (s, 1H, 3α-H), 3.89 (d, 1H, 6-H), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 2.46 (dd, 1H, 16-Ha), 1.10 (s, 3H, CH_3), 0.89 (s, 3H, CH_3), 0.79 – 0.64 (m, 1H, 5-H)。

【0317】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 221.21 (17-C), 176.10 (CO_2), 140.33 (3-C), 119.39 (3α-C), 71.75 (6-C), 54.49 (5-C), 51.20 (OCH_3) 15.24 (CH_3), 13.87 (CH_3)。

【0318】將反應混合物真空濃縮並透過快速層析進行純化（洗脫劑丙酮:石油精 3:7+0.1% HCO_2H），得到兩種不同的白色固體(E)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（CVie203）和(Z)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸（CVie204）。

【0319】化合物CVie203的光譜數據：

【0320】^{1}H NMR (400 MHz, 丙酮-d6) δ 4.84 (bt, 1H, 3α-H), 3.55 (d, 1H, 6-H), 0.90 (s, 3H, CH_3), 0.61 (s, 3H, CH_3), 0.51 (ddd, 1H, 5-H)。

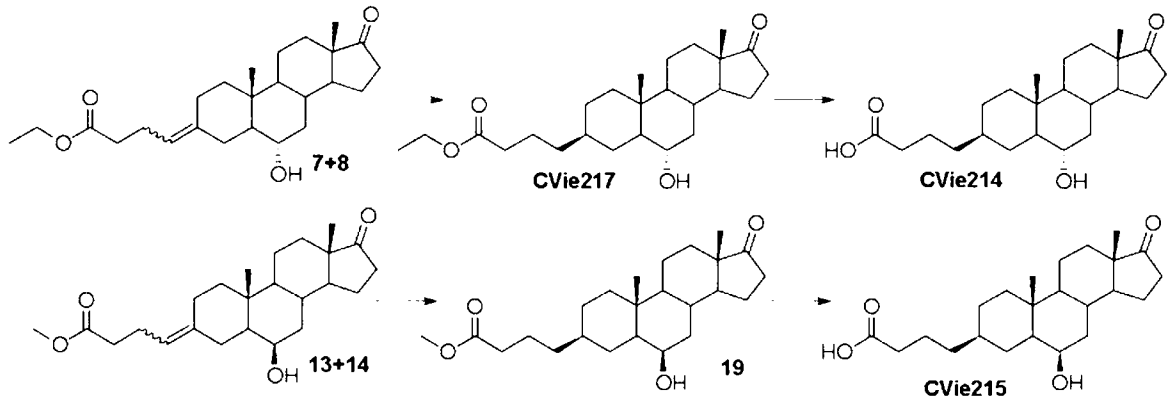
【0321】^{13}C NMR (101 MHz, 丙酮-d6) δ 218.86 (17-C), 173.42(CO_2), 140.74 (3-C), 119.29(3α-C), 70.18 (6-C), 14.74 (CH_3), 13.18 (CH_3)。

【0322】化合物CVie204的光譜數據：

【0323】^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 5.07 (s, 1H, 3α-H), 3.88 (s, 1H, 6-H), 1.08 (s, 3H, CH_3), 0.88 (s, 3H, CH_3), 0.72 (s, 1H, 5-H)。

【0324】^{13}C NMR (101 MHz, 丙酮) δ 216.39 (17-C), 173.80 (CO_2), 135.48(3-C), 113.80 (3α-C), 66.52 (6-C), 10.07 (CH_3), 8.70 (CH_3)。

透過加氫和酯水解生產CVie214、CVie215和CVie217



【0325】化合物CVie217從上述非鏡像異構物7+8的混合物生產。簡單來說，所述非鏡像異構物的C3-C1'雙鍵的加氫在EtOAc中使用Pd-C催化來進行。得到的化合物是CVie217。C3處形成的立體中心的構型透過NOESY實驗來鑑定。然

後將化合物CVie217用THF中的1M LiOH或NaOH水解，以產生CVie214。同樣地，將非鏡像異構物13+14在EtOAc中使用Pd-C催化進行加氫，以產生酯化合物19，然後將其用THF中的1M LiOH或NaOH水解，以產生CVie215。

【0326】 化合物19的光譜數據：

【0327】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 3.83 (bs, 1H, 6-H), 3.66 (bs, 3H, OCH_3), 2.44 (dd, 1H, 16-Ha), 2.28 (t, 2H, 3γ-H), 0.99 (s, 3H, CH_3), 0.88 (s, 3H, CH_3), 0.79 – 0.70 (m, 1H, 5-H)。

【0328】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 221.43 (17-C), 174.25 (CO_2), 71.96 (6-C), 51.25 (OCH_3), 15.74 (CH_3), 13.86(CH_3)。

【0329】 化合物CVie214的光譜數據：

【0330】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 3.43 (bt, 1H, 6-H), 2.44 (dd, 1H, 16Ha), 2.31 (t, 2H, 3γ-H), 0.84 (s, 3H, CH_3), 0.77 (s, 3H, CH_3)。

【0331】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 221.35 (17-C), 179.11 (CO_2), 69.90 (6-C), 13.78 (CH_3), 13.37(CH_3)。

【0332】 化合物CVie215的光譜數據：

【0333】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 3.85 (s, 1H, 6-H), 2.45 (dd, 1H, 16-Ha), 2.34 (t, 2H, 3γ-H), 1.00 (s, 3H, CH_3), 0.89 (s, 3H, CH_3), 0.74 (d, 1H, 5-H)。

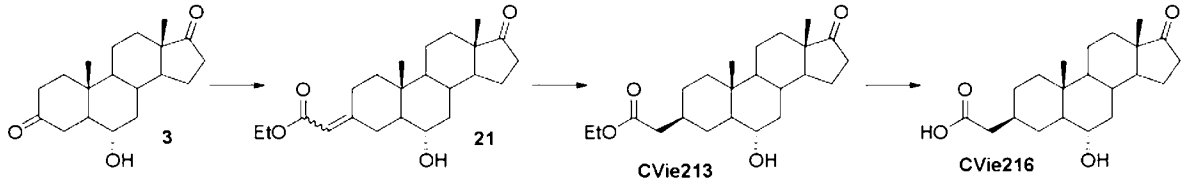
【0334】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 221.50 (17-C), 179.04 (CO_2H), 72.03 (6-C), 15.76 (CH_3), 13.87 (CH_3)。

【0335】 化合物CVie217的光譜數據：

【0336】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 4.09 (q, 2H, CH_2O), 3.40 (td, 1H, 6-H), 2.49 – 2.36 (dd, 1H, 16-Ha), 2.24 (t, 2H, 3δ-H), 0.83 (s, 3H, CH_3), 0.76 (s, 3H, CH_3)。

【0337】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 220.91 (17-C), 173.77 (CO_2), 69.63 (6-C), 60.14 (CH_2O), 14.23 (CH_3), 13.76 (CH_3), 13.36 (CH_3)。

透過威悌反應和隨後的C=C加氫和酯水解生產CVie213和CVie216



【0338】 化合物6-α-3,17-雄烷二酮3也被用作透過Horner-Emmons反應合成CVie213和CVie216的起始點。首先，在Ar氣環境和0°C下，向礦物油中的60% NaH（1.3 g，33 mmol，5 eq）在DMF（200 mL）中的懸液小心地添加磷醯基乙酸三乙酯（6.5 mL，33 mmol，5 eq）。將得到的溶液在室溫升溫並攪拌20分鐘。然後在0°C下添加6-α-3,17-雄烷二酮3（2 g，6.5 mmol，1 eq）。在室溫攪拌過夜後，透過小心地添加H_2O（100 mL）將反應淬火，並用Et_2O（3 x 150mL）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥並真空蒸發。將粗品在矽膠柱上透過快速層析進行純化（丙酮:石油精 3:7），產生2.1g（86%）兩種非鏡像異構物的透明油狀混合物（化合物21）。

【0339】 非鏡像異構物化合物21的光譜數據：

【0340】 ^{1}H NMR (氯仿-d) δ 5.60 (d,Hz, 1H, 3α-H), 4.08 (q, 2H, CH_2O), 3.45 (dq,1H, 6-H), 2.41 (dd, 1H, 16-Ha), 0.90 (s, 3H, CH_3), 0.82 (s, 3H, CH_3), 0.77-0.66 (m, 1H, 5-H)。

【0341】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 220.85 (17-C), 166.81 (CO_2), 161.87 (3-C), 113.75 (3α-C), 69.41 (6-C), 13.76 (CH_3), 13.00 (CH_3)。

【0342】 在Ar氣環境下，向非鏡像異構物化合物21（2g，5.3 mmol，1 eq）在EtOAc（200 mL）中的脫氣的溶液添加10% Pd-C（700 mg）。在三個真空/氫氣循環後，允許反應在H_2氣環境下在室溫攪拌過夜。在透過真空/Ar循環除去氫氣後，將反應混合物在CELITE®上過濾。將過濾的溶液蒸發至乾。不需純化獲得1.8 g（90%）CVie213產物。用THF中的1M LiOH或NaOH進一步水解CVie213產生CVie216。

【0343】 化合物CVie213的光譜數據：

【0344】 ^{1}H NMR (氯仿-d) δ 4.12 (q, 2H, OCH_2), 3.38 (td, 1H, 6-H), 2.42 (dd, 1H, 16-Ha), 2.27 (t, 2H, 3α-CH_2), 0.82 (s, 3H, CH_3), 0.76 (s, 3H, CH_3)。

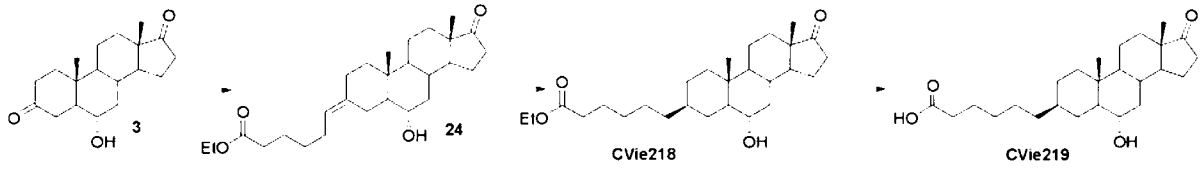
【0345】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 221.03 (17-C), 172.93 (CO_2), 69.43 (6-C), 13.76 (CH_3), 13.32(CH_3)。

【0346】 化合物CVie216的光譜數據：

【0347】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 3.43 (td, 1H, 6-H), 2.45 (dd, 1H, 16-Ha), 2.28 (t, 3α-H), 0.85 (s, 3H, CH_3), 0.80 (s, 3H, CH_3)。

【0348】 ^{13}C NMR (101 MHz, 丙酮) δ 220.44 (17-C), 174.27 (CO_2), 68.57 (6-C), 12.99 (CH_3), 12.59 (CH_3)。

透過威悌反應和隨後的C=C加氫和酯水解生產CVie218和CVie219



【0349】 同樣地，將6-α-3,17-雄烷二酮3與適合的三苯基鏻鹽（例如，5-羧基三苯基溴化鏻、LiHMDS、THF，然後是EtOH（或MeOH））反應，產生化合物24。接下來，在氫氣存在下使用Pd-C催化將化合物24催化加氫產生CVie218，

其在C-3位置處包括C6鏈。用THF中的1M LiOH或NaOH將CVie218水解產生CVie219。

【0350】 化合物CVie218的光譜數據：

【0351】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 4.15 – 4.05 (m, 2H, OCH_2), 3.40 (td, 1H, 6-H), 2.43 (dd, 1H, 16-Ha), 2.26 (td, 2H, 3ε-H), 0.84 (s, 3H, CH_3), 0.76 (s, 3H, CH_3)。

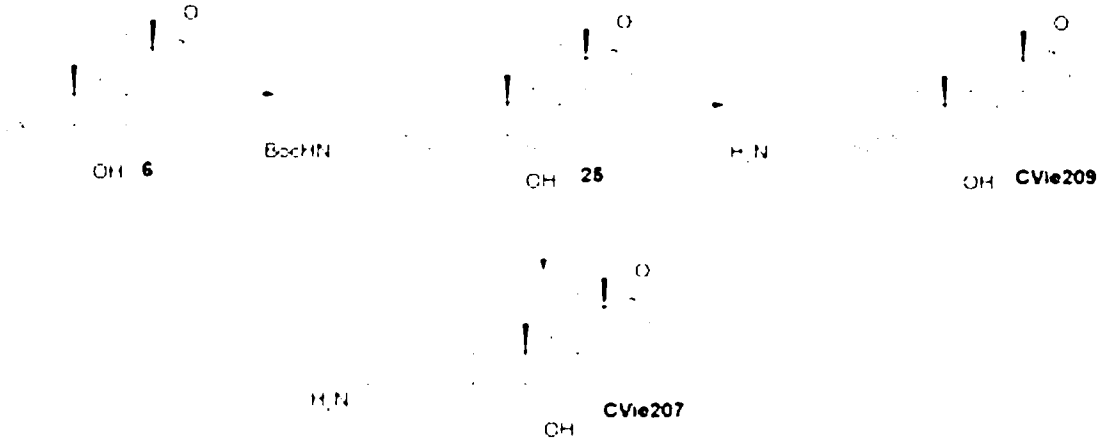
【0352】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 220.91 (17-C), 173.87 (CO_2), 69.81 (6-C), 60.14 (CH_2O), 14.24 (CH_3), 13.79 (CH_3), 13.39 (CH_3)。

【0353】 化合物CVie219的光譜數據：

【0354】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 3.47 – 3.39 (bt, 1H, 6-H), 2.44 (dd, 1H, 17-Ha), 2.33 (t, 2H, 3ε-H), 0.85 (s, 3H, CH_3), 0.77 (s, 3H, CH_3)。

【0355】 ^{13}C NMR (101 MHz，氯仿-d) δ 221.06 (17-C), 178.93 (CO_2), 69.91 (6-C), 13.80 (CH_3), 13.39 (CH_3)。

透過使用Boc保護的胺的複分解反應和隨後的Boc去保護從前體6合成具有一級胺基的衍生物



【0356】 對於具有一級胺基作為式(I)中的X取代基的衍生物的合成來說，使用上文為CVie201和CVie202的合成所述的相同的實驗條件對前體6進行複分解反應。

【0357】 簡單來說，向雄烷-3-亞甲基-17-酮6在DCM中的溶液添加Hoveyda-Grubbs第二代催化劑。然後使用適合的Boc保護的胺（例如，戊-4-烯-1-基胺基甲酸叔丁酯或N-Boc-4-戊炔-1-胺）將雄烷-3-亞甲基-17-酮6與外亞甲基合併，產生非鏡像異構物25（25%產率）。將化合物25（50 mg，0,1 mmol，1 eq）用500 µL TFA/DCM（DCM中的三氟乙酸）的1:1混合物處理，然後在室溫攪拌，以直接裂解Boc基團。在室溫攪拌1分鐘後，將反應用EtOAc（50mL）稀釋並用飽和$NaHCO_3$水溶液（3x30mL）洗滌。將有機相在Na_2SO_4上乾燥，過濾並蒸發至乾，產生作為白色固體的(EZ)-3-(4-胺基亞丁基]-6α-羥基雄烷-17-酮（CVie209）（28 mg，75%）。

【0358】 非鏡像異構物混合物25的光譜資料：

【0359】 ^{1}H NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 5.18 – 5.03 (m, 1H, 3α -H), 3.46 (td, 1H, 6-H), 1.44 (s, 9H, t-Bu), 0.90 (d, J = 1.8 Hz, 3H, CH_3), 0.86 (s, 3H, CH_3), 0.74 (m, 1H, 5-H)。

【0360】 CVie209的光譜數據：

【0361】 ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 5.13 (d, 1H, 3α-H), 3.40 (tt, 1H, 6-H), 3.35 – 3.28 (m, 2H, 3γ-H), 0.96 (s, 3H, CH_3), 0.87 (s, 3H, CH_3), 0.83 – 0.70 (m, 1H, 5-H)。

【0362】 ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 224.41 (17-C), 143.00 (3A-C), 142.68 (3αB-C), 124.31 (3αA-C), 124.02 (3αB-C), 72.75 (C-6), 16.70 (CH_3), 15.78 (CH_3)。

【0363】 替代性地，將化合物25與三甲基甲矽烷基碘化物在醇性溶劑（例如，MeOH）中反應，導致Boc裂解並伴有環外雙鍵的遷移，以產生在C2與C3之

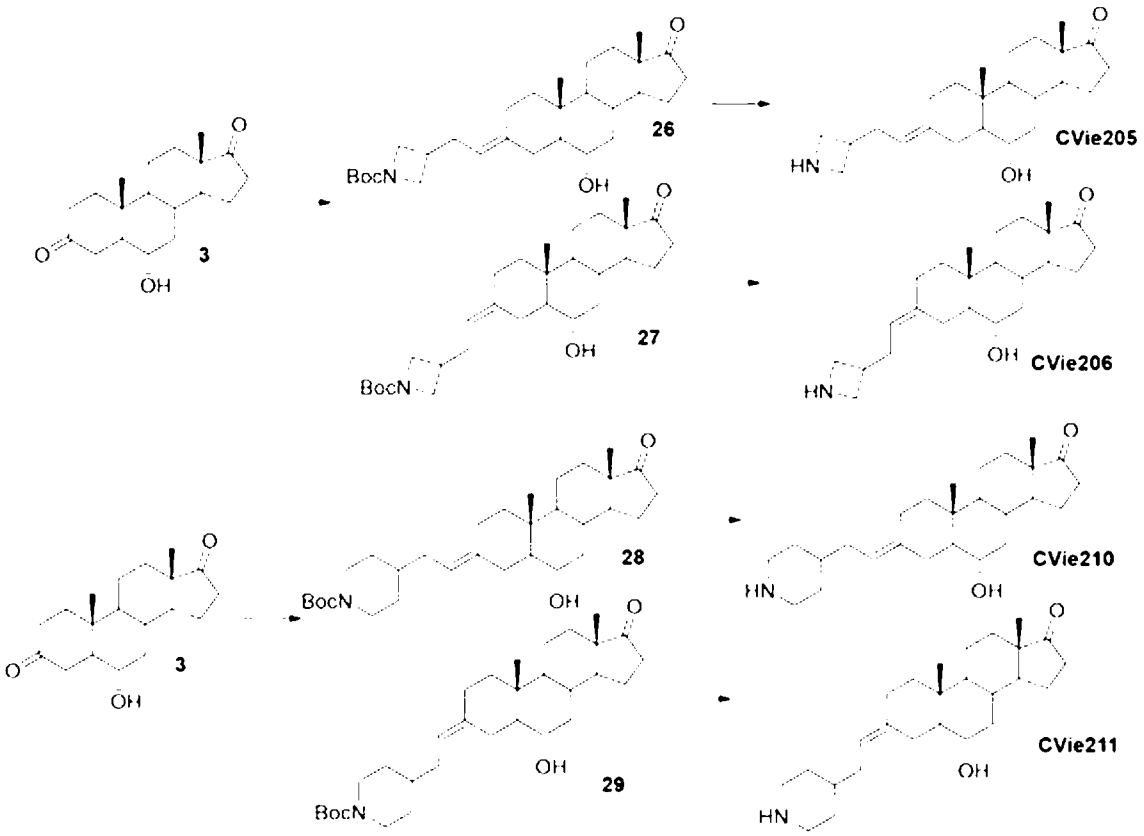
間具有環內雙鍵的CVie207。簡單來說，在室溫下向非鏡像異構物25（50 mg，0,1mmol, 1eq.）的溶液添加DCM中的1M TMSI（100μL，0,1 mmol，1 eq.）。在相同溫度下攪拌2h後，在真空中除去溶劑。向殘留物添加甲醇（2 mL）並在室溫放置1h。在真空中除去溶劑後，不需純化獲得CVie207。

【0364】 CVie207的光譜數據：

【0365】 ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 5.36 (d, 1H, H-2), 3.44 (td, 1H, 6-H), 2.94 (t, 2H, 3γ-H), 2.45 (dd, 1H, 16-Ha), 0.88 (s, 3H, CH_3), 0.79 (s, 3H, CH_3)。

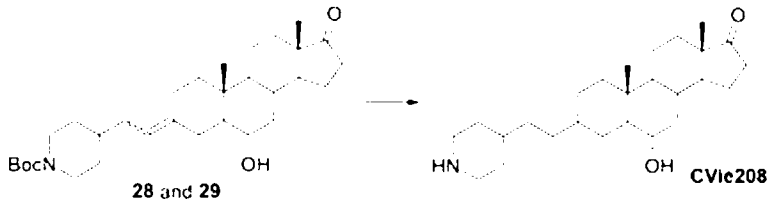
【0366】 ^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 222.35 (17-C), 134.89 (3-C), 119.69 (2-C), 70.31 (6-H), 12.75 (CH_3), 12.07 (CH_3)。

具有環外不飽和性的環胺衍生物的合成：CVie205、CVie206、CVie210和CVie211



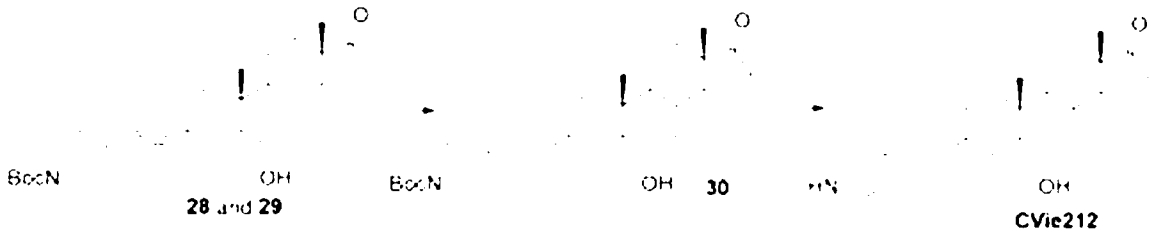
【0367】 環胺衍生物透過如上為CVie203和CVie204所述的氫化鈉（NaH）-DMSO威悌反應並同時利用適合的N-保護的鏻鹽來合成，例如，N-Boc-4-(2-三苯基鏻乙基)氮雜環丁烷碘化物）以產生化合物26和27，或利用N-Boc-3-(2-三苯基鏻乙基)哌啶碘化物以產生化合物28和29。在純化所述非鏡像異構物混合物後，透過用TFA酸水解裂解N-Boc基團，以產生CVie205、CVie206、CVie210和CVie211。

具有內環不飽和性的CVie208的合成（Boc去保護期間的C=C雙鍵遷移）



【0368】 如上為CVie207的合成所述用TMSI進一步處理化合物28和29產生CVie208。

加氫和使用TFA的Boc裂解以產生CVie212

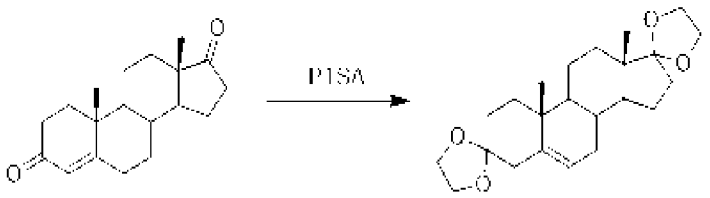


【0369】 替代性地，將化合物28和29的雙鍵催化加氫（H_2，Pd-C，EtOAc）以合成化合物30，然後在DCM中用TFA進行Boc裂解產生CVie212。

【0370】 如下實現帶有6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮的化合物的合成：從共同中間體37開始。化合物37本身從4-雄烯-3,17-二酮31開始，透過將兩個酮組成部

分用環狀縮醛保護32並同時遷移雙鍵，用重鉻酸鈉氧化烯丙基位置33，形成甲矽烷基烯醇醚35，用Me_3Al和甲醛進行羥甲基化（36），以及最終在酸性條件下裂解縮醛來合成。所述合成在下面的段落中更詳細地描述。

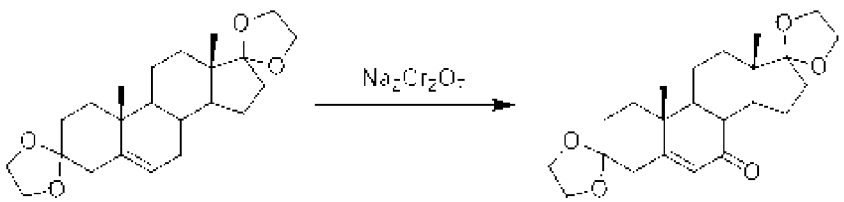
化合物32的合成：(20S,7R)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-12-烯



31 32

【0371】 將雄-4-烯-3,17-二酮31（400.0 g，1.4 mol）和PTSA·H_2O（13.3 g，70.0 mmol）在乙二醇（8.0 L）中的混合物在100°C下攪拌，直至反應透亮。將約5.0 L二醇在真空下蒸餾，以使沸騰溫度在80-85°C左右。將所述混合物冷卻到室溫。將混合物調整到pH~9。然後將混合物傾倒在冰水中。將所述混合物過濾，將固體用水洗滌、收集並用丙酮研磨，得到作為黃色固體的粗品化合物32（469.0 g，89%）。

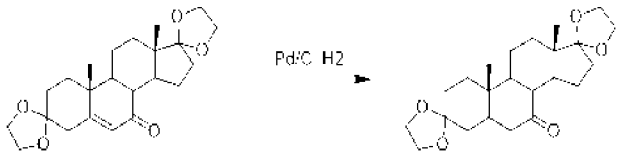
化合物33的合成：(20S,7R)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-12-烯-14-酮



32 33

【0372】將化合物32（440.0 g，1.2 mol）、HOSU（541.2 g，4.7 mol）和$Na_2Cr_2O_7·H_2O$（527.5 g，1.8 mol）在丙酮（8.0 L）中的混合物在50°C劇烈攪拌2天。在冷卻到室溫後，將混合物用Na_2SO_3水溶液淬火並攪拌20 min。將混合物傾倒在冰水中。將得到的混合物攪拌20 min，然後過濾。將固體用水洗滌、收集並在真空中乾燥，得到作為黃色固體的粗品化合物33（390.0 g，85%）。

化合物34的合成：(7S,20S)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-14-酮



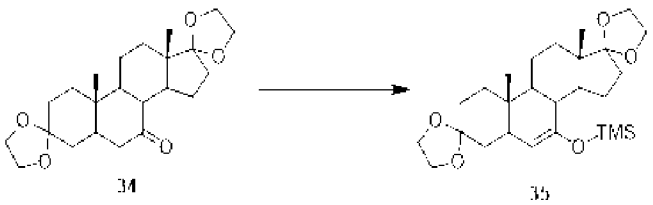
33 34

【0373】將化合物33（50.0 g，128.9 mmol）在EtOAc（1250 mL）中的混合物添加到Pd/C（16.0 g）。然後將所述混合物在H_2下在室溫攪拌過夜。TLC顯示反應完成。將混合物過濾，濃縮，並透過快速層析進行純化（PE/EA = 2/1），得到作為白色固體的化合物34（25.0 g，50.0%）。

【0374】(7S,20S)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-14-酮34的光譜數據：

【0375】^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 3.85-3.75 (m, 8H), 2.44-2.35 (m, 2H), 2.08-2.03 (m, 1H), 1.87-1.79 (m, 2H), 1.70-1.49 (m, 8H), 1.41-1.28 (m, 4H), 1.17-1.10 (m, 2H), 1.03 (s, 3H), 1.00-0.97 (m, 1H), 0.76 (s, 3H)。

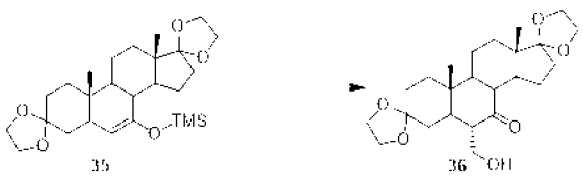
化合物35的合成：1-((20S,7R)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-13-烯-14-基氧基)-1,1-二甲基-1-矽雜乙烷



34 35

【0376】將化合物34（20.0 g，51.3 mmol）在無水THF（100.0 mL）中的混合物在-78℃下攪拌，然後逐滴添加甲苯中的1.5 M LDA（205.2 mL，307.8 mmol）。在相同溫度下攪拌1 hr後，逐滴添加Me_3SiCl（50.0 mL，400.1 mmol）。在-70℃攪拌3 hr後，將溫度升高到-30℃並添加三乙胺（33.5 g，331.5 mmol）。在相同溫度下攪拌1 hr後，將混合物升溫至室溫並添加水（200.0 mL）和EtOAc（100.0 mL）。將分離的水相用EtOAc萃取。將合併的有機層用鹽水洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾並蒸發至乾。將殘留物透過快速層析進行純化（PE/EA = 2/1），得到作為白色固體的化合物35（14.3 g，60.3 %）。

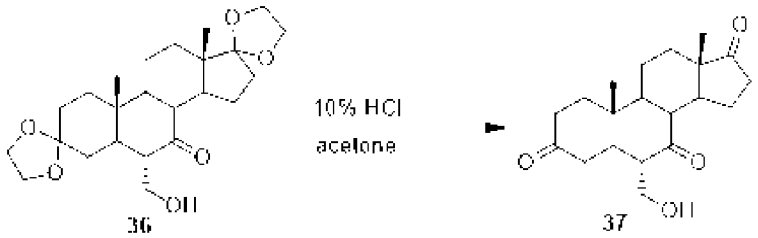
化合物36的合成：(13S,20S,7R)-13-(羥甲基)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-14-酮



35 36

【0377】將2,6-二苯基酚（10.0 g，27.6 mmol）在無水DCM（450.0 mL）中的混合物逐滴添加到Me_3Al在甲苯中的溶液（41.4 mL，82.9 mmol），同時用冰/水浴冷卻，使得溫度不超過室溫。在室溫攪拌1 hr後，將所述溶液在0℃冷卻，並逐滴添加三氧雜環己烷（24.8 g，276.0 mmol）在無水DCM（100.0 mL）中的溶液。將所述淺黃色溶液在0℃繼續攪拌1 hr，然後將溫度冷卻至-78℃。添加化合物35（10.0 g，27.6 mmol）在無水DCM（125 mL）中的溶液。在-78℃攪拌1 h後，將溫度升高到-20℃，並將反應混合物在該溫度下攪拌過夜。在室溫下添加5% $NaHCO_3$水溶液（85.0 mL）。將所述果凍狀混合物透過CELITE®墊過濾，用DCM充分洗滌。將分離的有機層用水洗滌並蒸發。向殘留物添加THF中的約1M TBAF（24.0 mL），並將所述溶液在室溫攪拌1.5 h。將所述溶液用水洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾並蒸發至乾。將殘留物透過快速層析進行純化，給出作為黃色固體的化合物36（6.5 g，71.4%）。

化合物37的合成：(6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基十氫-1H-環戊烷並[a]菲-3,7,17(2H,4H,8H)-三酮



36 37

【0378】將化合物36（8.0 g，19.0 mmol）在丙酮（100.0 mL）中的混合物添加到10%HCl水溶液（50.0 mL）。然後將所述混合物加熱到70℃ 1h。TLC顯示反應完成。將混合物用5%NaOH水溶液淬火，並用DCM（50.0 mL * 2）萃取。將

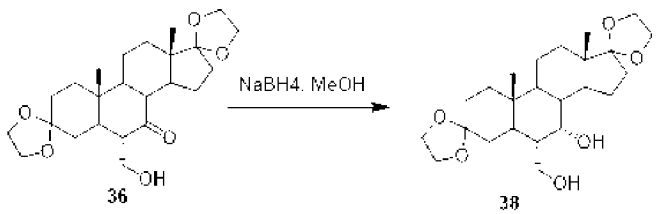
合併的有機相用鹽水（50.0 mL）洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾，濃縮，並透過快速層析進行純化（DCM/EA = 4/1），得到粗產物，將其用乙醚研磨，得到作為白色固體的純產物37（3.3 g，52.4 %）。

【0379】(6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基十氫-1H-環戊烷並[a]菲-3,7,17(2H,4H,8H)-三酮37的光譜數據：

【0380】^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 4.14 (t, 1H), 3.63-3.59 (m, 1H), 3.50-3.47 (m, 1H), 2.74-2.69 (m, 1H), 2.42-2.27 (m, 5H), 2.15-1.93 (m, 3H), 1.87-1.79 (m, 1H), 1.68-1.59 (m, 3H), 1.54-1.44 (m, 2H), 1.32-1.06 (m, 7H), 0.81 (s, 3H)。

【0381】LCMS [流動相：在6.0 min內從55%水（0.05% FA）和45% CH_3CN（0.05% FA）到55%水（0.05% FA）和45% CH_3CN（0.05% FA），最後在這些條件下0.5 min]，純度>90%，Rt = 2.514 min；MS計算值：332.2；MS實測值：333.2 $[M+1]^+$。

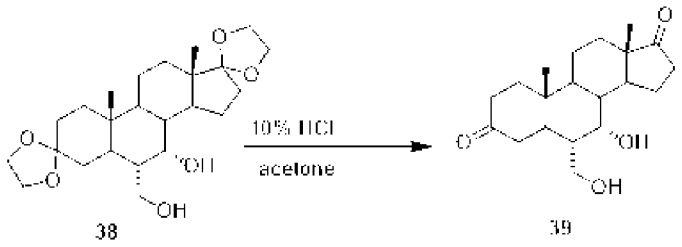
化合物38的合成：(13S,14S,20S,7R)-13-(羥甲基)-7,20-二甲基二螺[1,3-二氧雜環戊烷-2,5'-四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-14',2''-1,3-二氧雜環戊烷]-14-醇



【0382】在0°C下向化合物36（22.0 g，52.4 mmol）在MeOH（1000.0 mL）中的混合物緩慢添加$NaBH_4$（4.0 g，104.8 mmol）。然後將所述混合物在rt攪拌1 h。TLC顯示反應完成。將混合物用5% NaH_2PO_4水溶液（220.0 mL）淬火，並

用DCM（300.0 mL * 3）萃取。將合併的有機相用鹽水（200.0 mL）洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾，濃縮，並透過快速層析進行純化（DCM/EA = 4/1），得到粗產物，將其用乙醚研磨，得到作為白色固體的化合物38（7.5 g，34.1 %）。

化合物39的合成：(8S,9S,15S,2R)-9-羥基-8-(羥甲基)-2,15-二甲基四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-5,14-二酮



【0383】向化合物38（5.7 g，13.5 mmol）在丙酮（70.0 mL）中的混合物添加10%HCl水溶液（35.0 mL）。然後，將所述混合物加熱到70°C 1 h。TLC顯示反應完成。將所述混合物用5%NaOH水溶液淬火，並用DCM（50.0 mL * 2）萃取。將合併的有機相用鹽水（50 mL）洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過快速層析進行純化（DCM/EA = 4/1），得到粗產物，將其用乙醚研磨，得到作為白色固體的純產物39（1.8 g，40.0 %）。

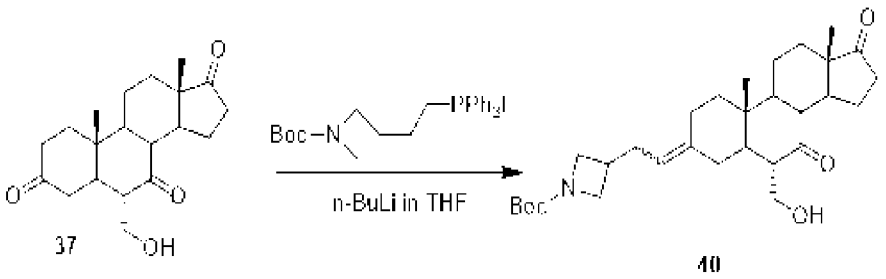
【0384】(8S,9S,15S,2R)-9-羥基-8-(羥甲基)-2,15-二甲基四環[8.7.0.0<2,7>.0<11,15>]十七烷-5,14-二酮39的光譜數據：

【0385】^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ4.37 (brs, 1H), 4.27 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 3.87-3.86 (m, 1H), 3.44-3.42 (m, 2H), 2.45-1.87 (m, 10H), 1.63-1.23 (m, 9H), 0.99 (s, 3H), 0.81 (s, 3H)。

【0386】LCMS [流動相：在6.0 min內從55%水（0.05% FA）和45% CH_3CN（0.05% FA）到55%水（0.05% FA）和45% CH_3CN（0.05% FA），最後在這些

條件下0.5 min]，純度>90%，Rt = 2.515 min；MS計算值：334.2；MS實測值：352.2 $[M+18]^+$。

化合物40的合成：(2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)氮雜環丁烷-1-甲酸叔丁酯

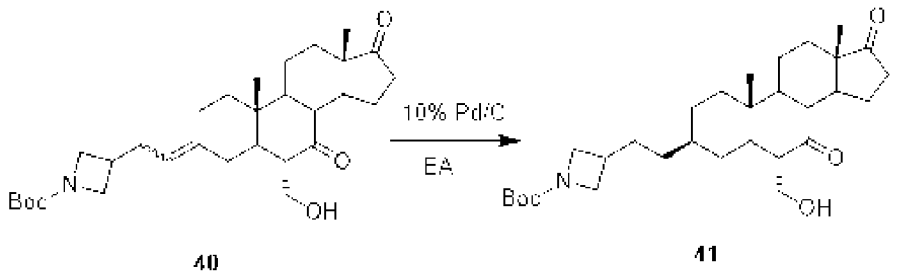


【0387】 在-78℃下向鏻鹽（2.57 g，4.5 mmol）在THF（25 mL）中的溶液添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5 M，3.6 mL，9.0 mmol）。將所述混合物在30℃攪拌1小時。接下來，在-20℃下向所述混合物添加化合物37（500 mg，1.5 mmol），然後升溫至30℃ 2小時。將所述混合物用飽和NH_4Cl（25 mL）淬火，並用EtOAc（25 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物在矽膠上透過柱層析進行純化（己烷/EtOAc = 1/1），給出粗品化合物。將所述化合物透過反相柱進行純化，得到作為白色固體的純化合物40（60 mg，8%）。

【0388】 化合物40的數據：

【0389】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikwa Diamonsil plus；流動相：B(ACN)：A（0.02%NH_4Ac+5%ACN）；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 1.820 min；MS計算值：499，MS實測值：400 $[M+H-Boc]^+$。

化合物41的合成：3-(2-((3S,6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)氮雜環丁烷-1-甲酸叔丁酯

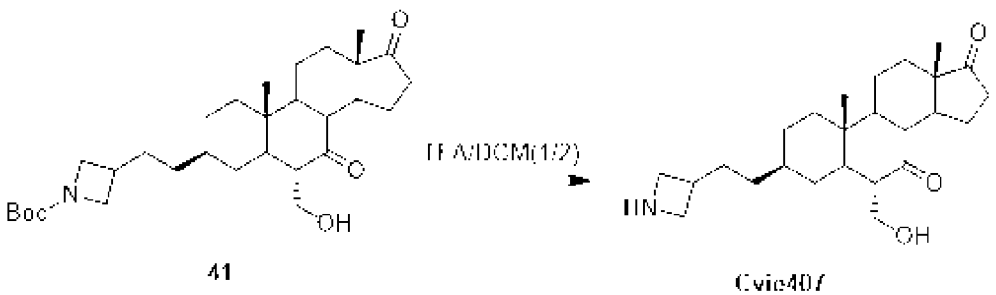


40 41

【0390】 向化合物40（60 mg，0.12 mmol）在EA（3 mL）中的溶液添加Pd/C（60 mg）。然後將所述混合物在H_2下在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，產生作為白色固體的化合物41（52 mg，86%）。

【0391】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikma Diamonsil plus；流動相：B(ACN)：A (0.02%NH_4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 1.911 min；MS計算值：501，MS實測值：402 $[M+H-Boc]^+$。

CVie407的合成：(3S,6S,10R,13S)-3-(2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



41 Cvie407

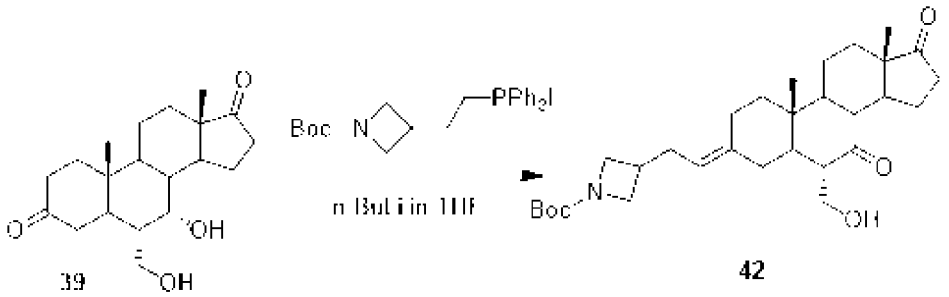
【0392】 將化合物41（52 mg，0.10 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌1小時。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH 8-9。將混合物用DCM（25 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為白色固體的化合物Cvie407（13 mg，32%）。

【0393】 CVie407的光譜數據：

【0394】 ^1H NMR (CD_3OD, 400 MHz):δ 3.86-3.82 (m, 2H), 3.71-3.67 (m, 1H), 3.54-3.47 (m, 2H), 2.78-2.67 (m, 2H), 2.56-2.39 (m, 3H), 2.15-2.06 (m, 1H), 1.85-1.50 (m, 12H), 1.21-1.14 (m, 9H), 1.07-1.01 (m, 2H), 0.88 (s, 3H)。

【0395】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*50 mm；流動相：B (ACN) ：A (0.02%NH_4Ac)；梯度：6.5 min內的（B%）-5-95-POS；Rt = 3.114 min；MS計算值：401，MS實測值：402 $[M+H]^+$。

化合物42的合成：3-((E)-2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)氮雜環丁烷-1-甲酸叔丁酯

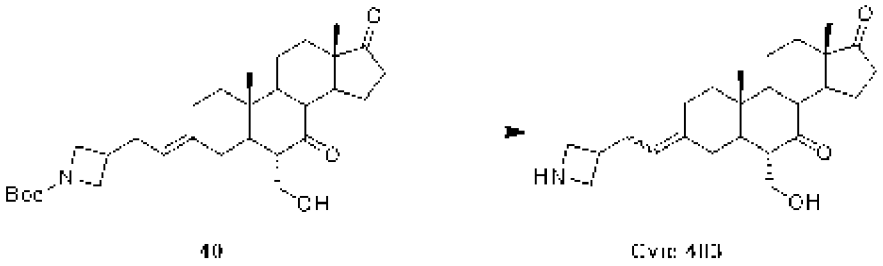


【0396】 在-78℃下向化合物鏻鹽（514 mg，0.90 mmol）在THF（5 mL）中的溶液添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5 M，0.7 mL，1.80 mmol）。將所述混合物在40℃攪拌1小時。然後，在0℃下向所述混合物添加化合物39（100 mg，0.30 mmol），然後升溫至40℃過夜。將反應重複9次。將混合物用飽和NH_4Cl（80

mL）淬火，並用EtOAc（100 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物42（20 mg，1%）。

【0397】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikwa Diamonsil plus；流動相：B (ACN)：A (0.02%NH_4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 1.945 min；MS計算值：501，MS實測值：402 $[M+H-Boc]^+$。

CVie403的合成：(6S,10R,13S)-3-(2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



40 CVie 403

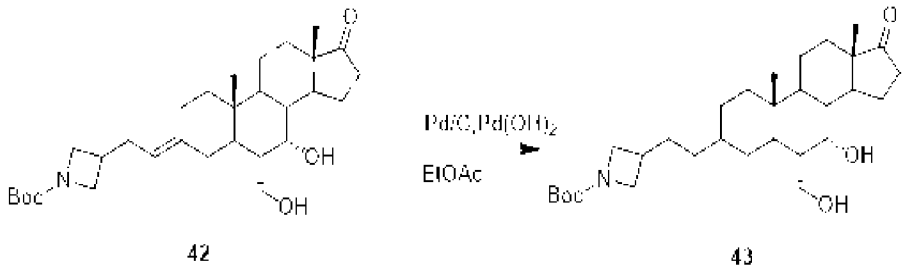
【0398】 將化合物40（130 mg，0.26 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌1小時。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$鹼化至pH 8-9。將混合物用DCM（30 mL *3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie403（13 mg，產率13%）。

【0399】 CVie403的光譜數據：

【0400】 ^1H NMR (CD_3OD, 400 MHz):δ 5.00-4.96 (m, 1H), 3.92-3.81 (m, 3H), 3.66-3.62 (m, 1H), 3.54-3.52 (m, 2H), 2.77-2.73 (m, 1H), 2.67-2.61 (m, 2H), 2.49-2.43 (m, 2H), 2.38-2.29 (m, 2H), 2.23-2.18 (m, 2H), 2.06-1.96 (m, 2H), 1.83-1.76 (m, 2H), 1.71-1.61 (m, 3H), 1.51-1.35 (m, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.12-1.05 (m, 2H), 0.98-0.90 (m, 1H), 0.80 (s, 3H)。

【0401】 LCMS柱：Rt = 3.964 min；MS計算值：399，MS實測值：400 $[M+H]^+$。

化合物43的合成：3-(2-((6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-17-氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)氮雜環丁烷-1-甲酸酯

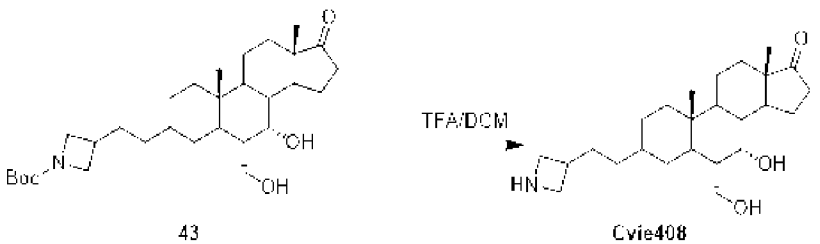


42 43

【0402】 將化合物42（20 mg，0.04 mmol）、Pd/C（10%，20 mg）和$Pd(OH)_2$（20%，20 mg）在EtOAc（2 mL）中的混合物在H_2下（在氣球中）在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，給出作為棕色固體的粗品化合物43（20 mg，100%）。

【0403】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikma Diamonsil plus；流動相：B(ACN)：A (0.02%NH4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 1.978 min；MS計算值：503，MS實測值：404 $[M+H-Boc]^+$。

CVie408的合成：(6S,7S,10R,13S)-3-(2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基十四氫-1H-環戊烷並[a]菲-17(2H)-酮



43 Cvie408

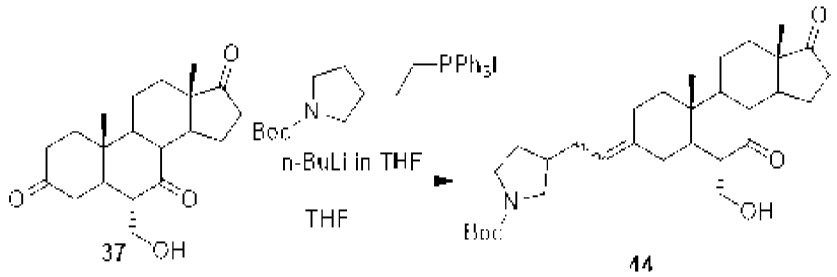
【0404】將化合物43（20 mg，0.04 mmol）在TFA/DCM（1:1，2 mL）中的混合物在0°C攪拌30分鐘。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調節到pH 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie408（6.4 mg，40%）。

【0405】CVie408的光譜數據：

【0406】^{1}H NMR (CD_3OD, 400 MHz): δ 4.08 (s, 1H), 3.84 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 3.77-3.68 (m, 2H), 3.52-3.48 (m, 2H), 2.81-2.73 (m, 1H), 2.52-2.44 (m, 1H), 2.18-2.06 (m, 2H), 1.86-1.71 (m, 4H), 1.69-1.59 (m, 6H), 1.52-1.43 (m, 2H), 1.39-1.30 (m, 4H), 1.24-1.15 (m, 4H), 1.12-1.04 (m, 1H), 0.95-0.92 (m, 1H), 0.90(s, 3H), 0.87 (s, 3H)。

【0407】LCMS柱：柱：C18；柱尺寸：4.6*50 mm；流動相：B (ACN)：A (0.02%NH_4Ac)；梯度：6.5 min內的（B%）-5-95-POS；Rt = 3.078 min；MS計算值：403，MS實測值：404 $[M+H]^+$。

化合物44的合成：3-(2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

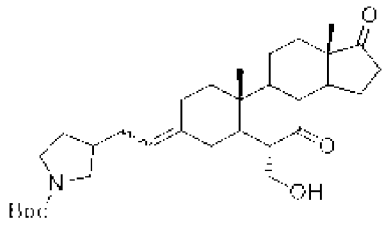


【0408】在-78°C下向化合物鏻鹽（1.5 g，2.62 mmol）在THF（15 mL）中的溶液添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5M，1.57 mL，3.94 mmol）。將所述反應混合物在35°C攪拌1小時。然後，在-20°C下向所述混合物添加化合物37（350 mg，

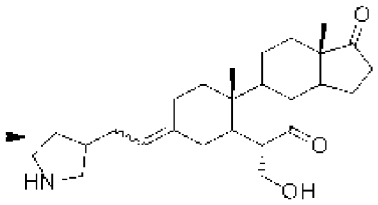
1.05 mmol）的溶液，並升溫至室溫2小時。將混合物用飽和NH_4Cl（25 mL）淬火，並用EtOAc（25 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過快速層析進行純化（己烷:EA = 1:1）給出粗品化合物。然後將所述化合物透過反相柱進行純化，得到作為白色固體的純化合物44（53 mg，10%）。

【0409】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikma Diamonsil plus；流動相：B (ACN) ： A (0.02%NH_4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 2.017 min；MS計算值：513，MS實測值：414 $[M+H-Boc]^+$。

CVie402的合成：(6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(吡咯烷-3-基)亞乙基)十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



44



Cvie 402

【0410】 將化合物44（89 mg，0.173 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌1小時。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH = 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為白色固體的化合物CVie402（38 mg，53%）。

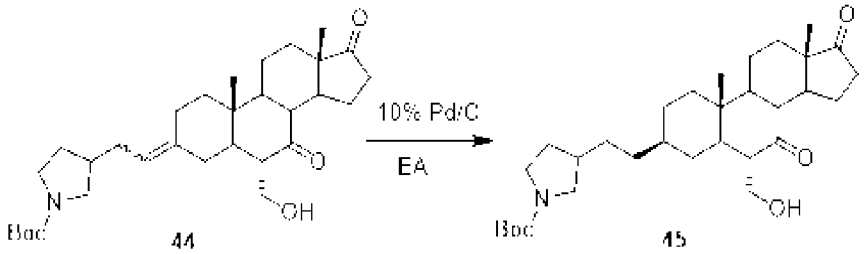
【0411】 CVie402的光譜數據：

【0412】 ^1H NMR (CD_3OD, 400 MHz): δ 5.08-5.05 (m, 1H), 3.88-3.82 (m, 1H), 3.63-3.59 (m, 1H), 3.12-3.02 (m, 2H), 2.99-2.92 (m, 1H), 2.66-2.55 (m, 3H), 2.48-2.42 (m, 2H), 2.37-2.30 (m, 1H), 2.23-2.19 (m, 1H), 2.15-2.04 (m, 2H), 2.03-1.91 (m, 4H),

1.83-1.78 (m, 2H), 1.75-1.61 (m, 3H), 1.51-1.34 (m, 4H), 1.19-1.17 (m, 3H), 1.12-1.03 (m, 2H), 0.97-0.90 (m, 1H), 0.80 (s, 3H)。

【0413】 LCMS柱：Rt = 3.060 min；MS計算值：413，MS實測值：414$[M+H]^+$。

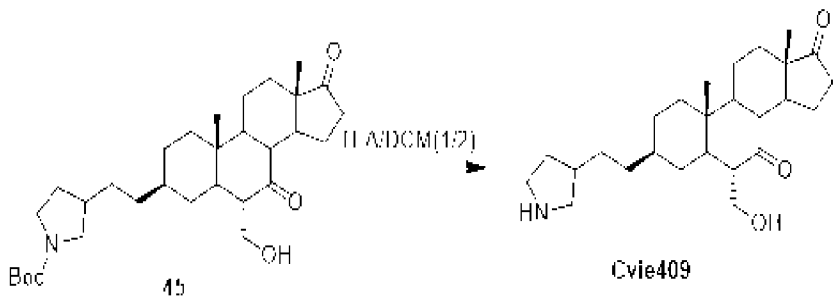
化合物45的合成：3-(2-((3S,6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



【0414】 將化合物44（53 mg，0.103 mmol）在EA（3 mL）中的溶液添加到Pd/C（60 mg）。然後將所述混合物在H_2下在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，產生作為白色固體的化合物45（50 mg，94%）。

【0415】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikma Diamonsil plus；流動相：B (ACN) ：A (0.02%NH_4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 1.984 min；MS計算值：515，MS實測值：416 $[M+H-Boc]^+$。

CVie409的合成：(3S,6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(吡咯烷-3-基)乙基)十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



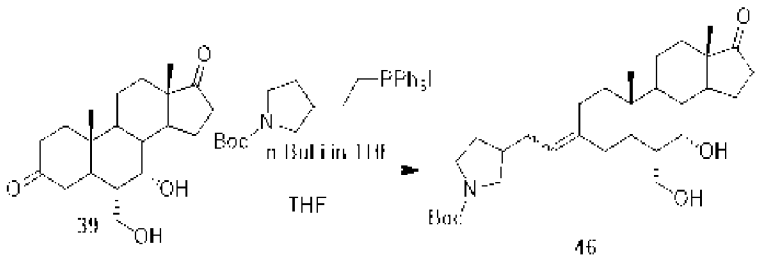
【0416】 將化合物45（50 mg，0.09 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌1小時。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為白色固體的化合物CVie409（12 mg，32%）。

【0417】 CVie409的光譜數據：

【0418】 ^{1}H NMR (CD_3OD, 400 MHz):δ 3.87-3.82 (m, 1H), 3.70-3.64 (m, 1H), 3.28-3.24 (m, 1H), 3.21-3.16 (m, 1H), 3.11-3.04 (m, 1H), 2.72-2.62 (m, 2H), 2.57-2.51 (m, 1H), 2.47-2.39 (m, 2H), 2.17-2.05 (m, 3H), 1.85-1.70 (m, 5H), 1.66-1.49 (m, 8H), 1.38-1.34 (m, 2H), 1.25-1.19 (m, 6H), 1.14-1.10 (m, 2H), 0.88 (s, 3H)。

【0419】 LCMS柱：柱：C18；柱尺寸：4.6*50 mm；流動相：B(ACN) ：A(0.02%NH_4Ac)；梯度：6.5 min內的（B%）-5-95-POS；Rt = 3.180 min；MS計算值：415，MS實測值：416 $[M+H]^+$

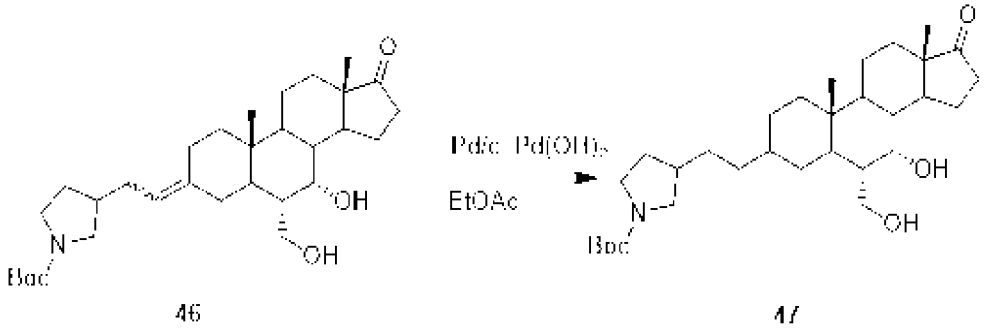
化合物46的合成：3-(2-((6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-17-氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



【0420】 在-78℃下向化合物鏻鹽（527 mg，0.90 mmol）在THF（5 mL）中的溶液添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5M，0.7 mL，1.80 mmol）。將所述反應混合物在35℃攪拌1小時。然後在0℃下向所述混合物添加化合物39（100 mg，0.30 mmol），然後升溫至35℃過夜。將反應重複四次。將所述混合物用飽和NH_4Cl（80 mL）淬火並用EtOAc（100 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，給出作為白色固體的化合物46（26 mg，3%）。

【0421】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikma Diamonsil plus；流動相：B (ACN) ： A (0.02%NH_4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 2.000 min；MS計算值：515，MS實測值：416 $[M+H-Boc]^+$。

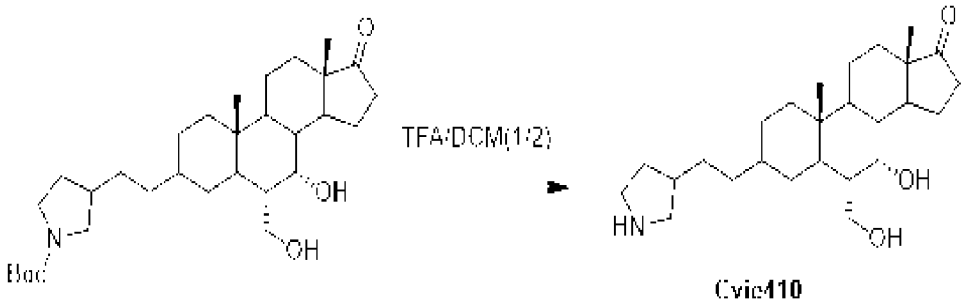
化合物47的合成：3-(2-((6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-17-氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



【0422】 將化合物46（26 mg，0.05 mmol）、Pd/C（10%，30 mg）和$Pd(OH)_2$（20%，30 mg）在EtOAc（3 mL）中的混合物在H_2下（在氣球中）在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，給出作為黃色固體的粗品化合物47（26 mg，100%）。

【0423】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikma Diamonsil plus；流動相：B (ACN) ： A (0.02%NH_4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt =2.059 min；MS計算值：517，MS實測值：418 $[M+H-Boc]^+$。

CVie410的合成：(6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(吡咯烷-3-基)乙基)十四氫-1H-環戊烷並[a]菲-17(2H)-酮



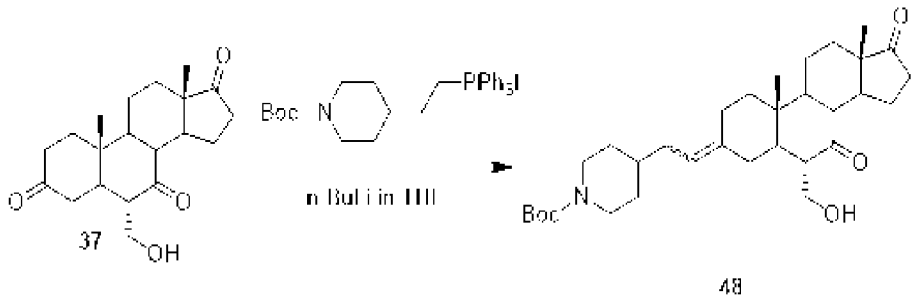
【0424】 將化合物47（26 mg，0.05 mmol）在TFA/DCM（1:2，2 mL）中的溶液在0°C攪拌1小時。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH 8-9。將混合物用DCM（20 mL * 3）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie410（9 mg，43%）。

【0425】 CVie410的光譜數據：

【0426】 ^{1}H NMR (CD_3OD, 400 MHz): δ 3.95 (s, 1H), 3.64-3.57 (m, 2H), 3.12-3.07 (m, 1H), 3.04-2.96 (m, 1H), 2.93-2.89 (m, 1H), 2.48-2.44 (m, 1H), 2.38-2.32 (m, 1H), 2.05-1.93 (m, 4H), 1.69-1.57 (m, 5H), 1.55-1.46 (m, 4H), 1.37-1.33 (m, 4H), 1.25-1.18 (m, 5H), 1.08-0.90 (m, 3H), 0.82-0.80 (m, 1H), 0.77 (s, 3H), 0.75 (s, 3H)。

【0427】 LCMS柱：柱：C18；柱尺寸：4.6*50 mm；流動相：B(ACN) ：A(0.02%NH_4Ac)；梯度：6.5 min內的（B%）-5-95-POS；Rt = 3.139 min；MS計算值：417，MS實測值：418 $[M+H]^+$。

化合物48的合成：4-(2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯

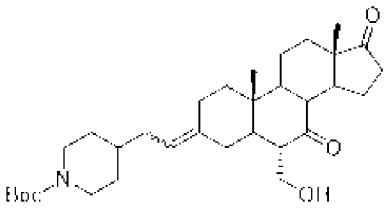


【0428】 在-78°C下向化合物鏻鹽（2.16 g，3.60 mmol）在THF（16 mL）中的混合物添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5 M，2.90 mL，7.20 mmol）。將所述反應混合物在30°C攪拌1小時。然後在-20°C下向所述混合物添加化合物37（400 mg，1.20 mmol）。將混合物在-20°C攪拌30分鐘，然後升溫至30°C 2小時。將混合物用飽和NH_4Cl（15 mL）淬火並用EtOAc（30 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，給出作為黃色固體的化合物48（28 mg，4%）。

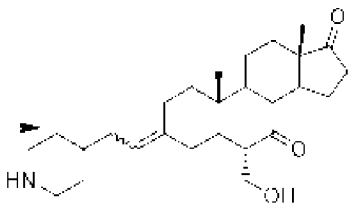
【0429】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikma Diamonsil plus；流動相：B (ACN)：A (0.02%NH_4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-30-95-

POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 2.013 min；MS計算值：527，MS實測值：428 $[M+H-Boc]^+$。

CVie405的合成：(6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(哌啶-4-基)亞乙基)十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



46



Cvie 405

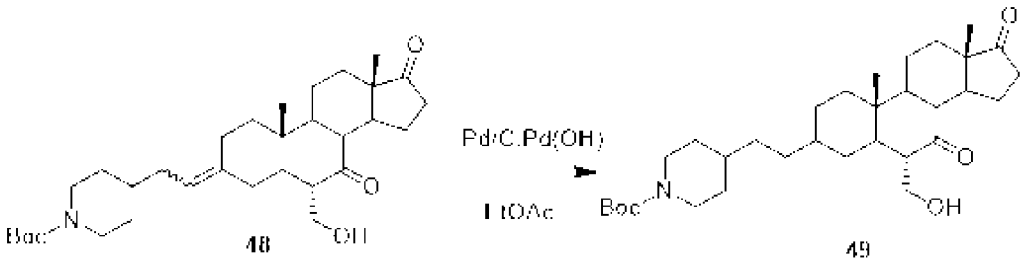
【0430】 將化合物46（80 mg，0.152 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌30分鐘。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$鹼化至pH = 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie405（30 mg，46%）。

【0431】 CVie405的光譜數據：

【0432】 ^1H NMR (CD_3OD, 400 MHz): δ 5.14 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 3.88-3.80 (m, 1H), 3.74-3.66 (m, 1H), 3.09-3.06 (m, 2H), 2.67-2.49 (m, 6H), 2.45-2.38 (m, 1H), 2.33-2.26 (m, 1H), 2.19-2.04 (m, 2H), 2.01-1.83(m, 3H), 1.80-1.69 (m, 6H), 1.61-1.47 (m, 2H), 1.45-1.34 (m, 2H), 1.30-1.25 (m, 5H), 1.19-1.08(m, 4H), 1.04-0.90 (m, 1H), 0.88 (s, 3H)。

【0433】 LCMS柱：Rt = 3.219 min；MS計算值：427，MS實測值：428 $[M+H]^+$。

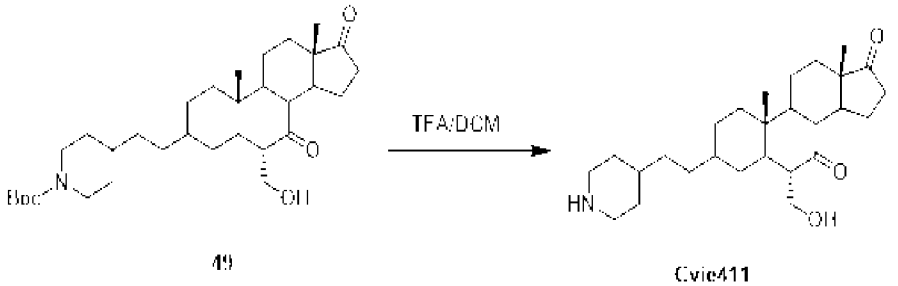
化合物49的合成：4-(2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯



【0434】 將化合物48（28 mg，0.05 mmol）和Pd/C（10%，50 mg）在EtOAc（2 mL）中的混合物在H_2下（在氣球中）在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，給出作為黃色固體的粗品化合物49（28 mg，100%）。

【0435】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikwa Diamonsil plus；流動相：B(ACN)：A (0.02%NH_4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 2.109 min；MS計算值：529，MS實測值：430 $[M+H-Boc]^+$。

CVie411的合成：(6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(哌啶-4-基)乙基)十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



【0436】 將化合物49（28 mg，0.05 mmol）在TFA/DCM（1mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌30分鐘。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並

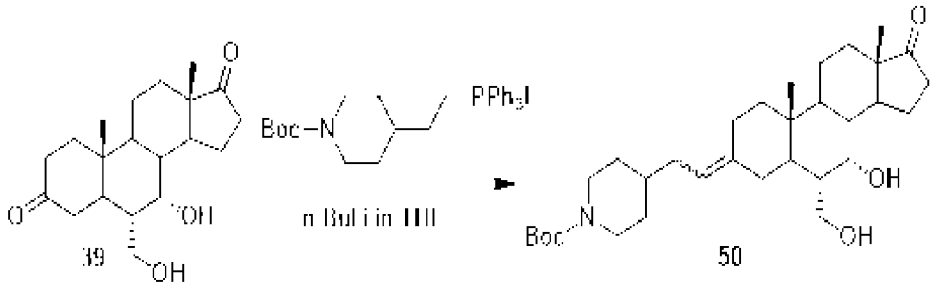
濃縮。將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie411（10 mg，43%）。

【0437】 CVie411的光譜數據：

【0438】 ^{1}H NMR (CD_3OD, 400 MHz): δ 3.85-3.81 (m, 1H), 3.71-3.66 (m, 1H), 3.07-3.04 (m, 2H), 2.69 (t, J = 11.2 Hz, 1H), 2.63-2.51 (m, 3H), 2.48-2.39 (m, 2H), 2.15-2.05 (m, 1H), 1.84-1.72 (m, 7H), 1.63-1.46 (m, 4H), 1.37-1.33 (m, 6H), 1.28-1.14 (m, 7H), 1.09-0.98 (m, 3H), 0.88 (s, 3H)。

【0439】 LCMS柱：柱：C18；柱尺寸：4.6*50 mm；流動相：B (ACN) : A (0.02%NH_4Ac)；梯度：6.5 min內的（B%）-5-95-POS；Rt = 4.188 min；MS計算值：429，MS實測值：430 $[M+H]^+$。

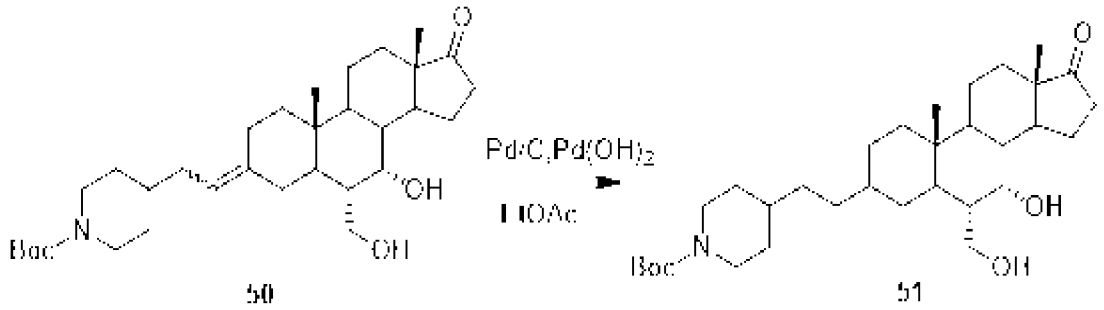
化合物50的合成：4-(2-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯



【0440】 在-78℃下向鏻鹽（540 mg，0.90 mmol）在THF（5 mL）中的溶液添加n-BuLi在THF中的溶液（2.5 M，0.70 mL，1.80 mmol）。將反應混合物在40℃攪拌1小時。然後在0℃下向所述混合物添加化合物39（100 mg，0.30 mmol），然後升溫至40℃ 2小時。將反應重複5次。將所述混合物用飽和NH_4Cl（80 mL）淬火並用EtOAc（100 mL * 3）萃取。將合併的有機層濃縮，並將殘留物透過製備HPLC進行純化，給出作為白色固體的粗品化合物50（35 mg，4%）。

【0441】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikma Diamonsil plus；流動相：B(ACN)：A (0.02%NH_4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 2.104 min；MS計算值：529，MS實測值：430 $[M+H-Boc]^+$。

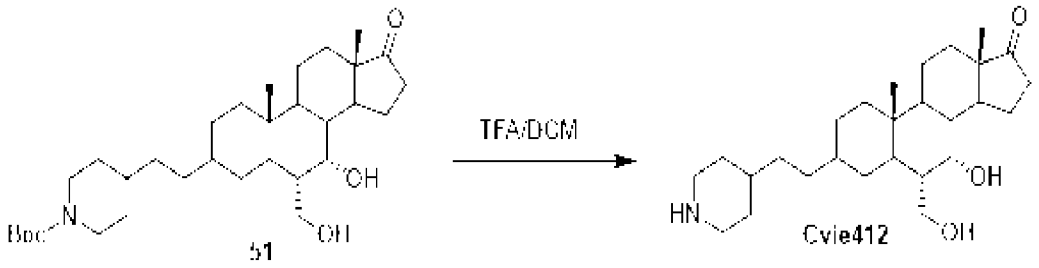
化合物51的合成：4-(2-((6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-17-氧代十六氫-1H-環戊烷並[a]菲-3-基)乙基)哌啶-1-甲酸叔丁酯



【0442】 將化合物50（35 mg，0.07 mmol）、Pd/C（10%，40 mg）和$Pd(OH)_2$（20%，40 mg）在EtOAc（2 mL）中的混合物在H_2下（在氣球中）在室溫攪拌過夜。將混合物過濾並將濾液濃縮，給出作為棕色固體的粗品化合物51（35 mg，100%）。

【0443】 LCMS柱：C18；柱尺寸：4.6*30 mm 5 μm；Dikma Diamonsil plus；流動相：B(ACN)：A (0.02%NH_4Ac+5%ACN)；梯度：3 min內的（B%）-5-95-POS；流速1.5 mL/min，停止時間3min。Rt = 2.126 min；MS計算值：531，MS實測值：432 $[M+H-Boc]^+$。

CVie412的合成：(6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(2-(哌啶-4-基)乙基)十四氫-1H-環戊烷並[a]菲-17(2H)-酮



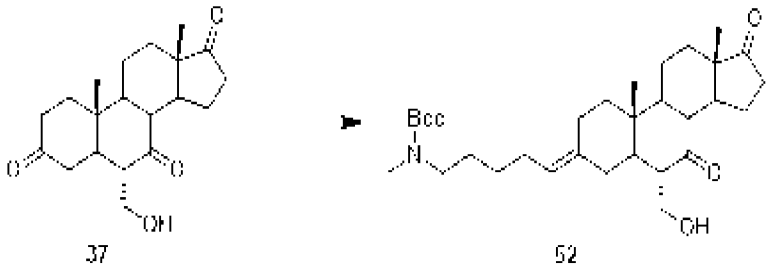
【0444】 將化合物51（35 mg，0.07 mmol）在TFA/DCM（1:2，2 mL）中的溶液在室溫攪拌30分鐘。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$稀釋，以調整到pH 8-9。將混合物用DCM（25 mL *3）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。將殘留物透過製備HPLC進行純化，產生作為黃色固體的化合物CVie412（13 mg，46%）。

【0445】 CVie412的光譜數據：

【0446】 ^1H NMR (CD_3OD, 400 MHz): δ 4.04 (s, 1H), 3.72-3.61 (m, 2H), 3.09-3.06 (m, 2H), 2.63 (t, J = 11.6 Hz, 2H), 2.48-2.41 (m, 1H), 2.13-2.03 (m, 2H), 1.75-1.66 (m, 5H), 1.63-1.55 (m, 5H), 1.45-1.35 (m, 3H), 1.31-1.17 (m, 10H), 1.10-1.03 (m, 2H), 0.89 (s, 1H), 0.87 (s, 3H), 0.84 (s, 3H)。

【0447】 LCMS柱：柱：C18；柱尺寸：4.6*50 mm; 流動相：B(ACN) ： A (0.02%NH_4Ac)；梯度：6.5 min內的（B%）-5-95-POS；Rt = 3.203 min；MS計算值：431，MS實測值：432 $[M+H]^+$。

化合物52的合成：((E)-5-((6S,10R,13S)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-7,17-二氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)戊基)(甲基)胺基甲酸叔丁酯



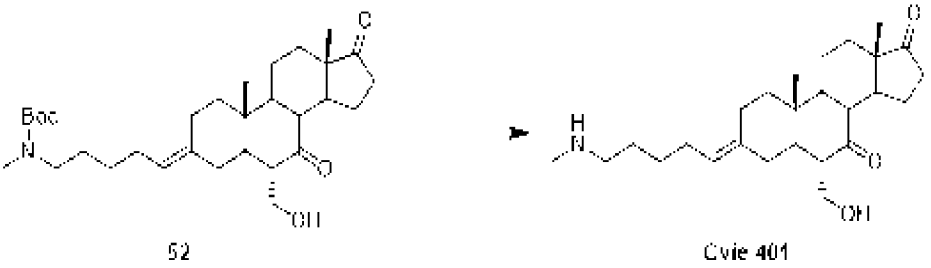
37 52

【0448】 在-78°C下，向N-Boc-N-甲基-5-三苯基鏻戊烯胺碘化物（4.26 g，7.23 mmol）在THF（50 mL）中的混合物逐滴添加n-BuLi（3.18 mL，7.95 mmol）。將混合物在0°C攪拌20 min。然後將混合物冷卻至-30°C。然後向所述反應混合物添加化合物37（800 mg，2.41 mmol）。將所述混合物在r.t攪拌過夜。將反應混合物用H_2O淬火並濃縮。將殘留物在矽膠上透過柱層析進行純化（PE/EtOAc = 1/2），然後透過製備HPLC進行純化，產生作為無色油狀物的化合物52（36 mg，200 mg）。

【0449】 化合物52的光譜數據：

【0450】 ^{1}H NMR (CD_3OD, 400 MHz): 5.16-5.12 (m, 1H), 3.89-3.85 (m, 1H), 3.77-3.73 (m, 1H), 3.22-3.19 (m, 2H), 2.83 (s, 3H), 2.75-2.60 (m, 2H), 2.60-2.50 (m, 2H), 2.46-2.41 (m, 1H), 2.33-2.27 (m, 1H), 2.15-2.02 (m, 4H), 1.90-1.79 (m, 2H), 1.77-1.71 (m, 3H), 1.60-1.52 (m, 4H), 1.50 (s, 9H), 1.45-1.42 (m, 1H), 1.34-1.29 (m, 2H), 1.26 (s, 3H), 1.24-1.21 (m, 1H), 1.19-1.05 (m, 2H), 1.05-0.99 (m, 1H)。

CVie401的合成：(6S,10R,13S,E)-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(5-(甲基胺基)亞戊基)十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-7,17(2H,8H)-二酮



52 Cvie 401

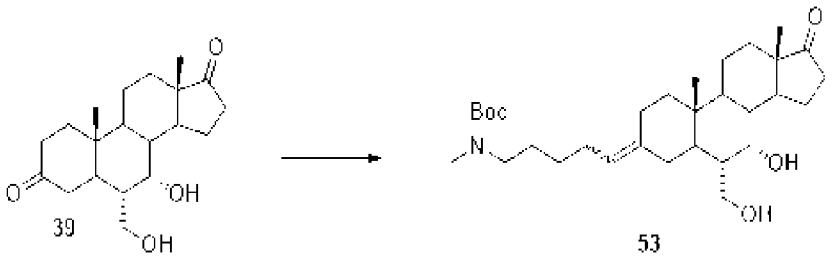
【0451】將化合物52（60 mg，0.116 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的混合物在室溫攪拌過夜。然後將混合物濃縮並用EtOAc稀釋，用飽和Na_2CO_3洗滌，在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮，產生作為黃色油狀物的化合物CVie401（38 mg，79%）。

【0452】CVie401的光譜數據：

【0453】^{1}H NMR (CD_3OD, 400 MHz): 5.36 (s, 1H), 3.89-3.86 (m, 1H), 3.71-3.67 (m, 1H), 2.80-2.77 (m, 2H), 2.73-2.67 (m, 1H), 2.55-2.39 (m, 6H), 2.15-2.01 (m, 4H),1.92-1.85 (m, 1H),1.77-1.69 (m, 4H), 1.65-1.45 (m, 7H), 1.38-1.25 (m, 6H), 1.19 (s, 3H), 0.89 (s, 4H)。

【0454】LCMS：Rt = 2.128 min，$[M+1]^+$ = 416。

化合物53的合成：(5-((6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-17-氧代十二氫-1H-環戊烷並[a]菲-3(2H,4H,10H)-亞基)戊基)(甲基)胺基甲酸叔丁酯



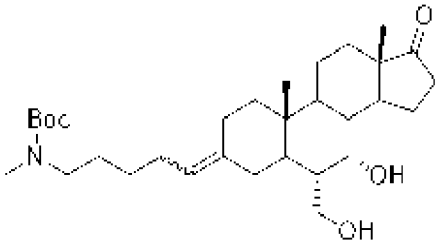
39 53

【0455】 在-78°C下，向N-Boc-N-甲基-5-三苯基鏻戊烯胺碘化物（4.39 g，7.45 mmol）在THF（45 mL）中的混合物逐滴添加nBuLi在THF中的溶液（4.46 mL，2.5 N，11.16 mmol）。然後將混合物在0°C攪拌20 min。將混合物冷卻至-50°C並添加化合物39（830 mg，2.48 mmol）。將混合物在r.t攪拌過夜。將所述混合物用H_2O淬火，濃縮，並透過柱層析進行純化（PE/EtOAc = 1/1），然後透過製備HPLC進行純化，給出作為白色固體的化合物53（80 mg，300 mg）。

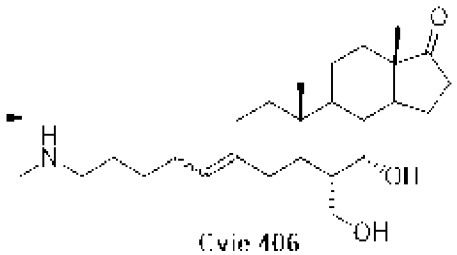
【0456】 化合物53的光譜數據：

【0457】 ^1H NMR (CD_3OD, 400 MHz): 5.10-5.08 (m, 1H), 4.05 (s, 1H), 3.78-3.72 (m, 1H), 3.23-3.20 (m, 2H), 2.83 (s, 3H), 2.56-2.53 (m, 1H), 2.48-2.41 (m, 1H), 2.12-2.10 (m, 1H), 2.07-2.00 (m, 5H), 1.85-1.81 (m, 1H), 1.74-1.51 (m, 10H), 1.49 (s, 9H), 1.39-1.30 (m, 4H), 1.21-1.18 (m, 1H), 1.08-1.04 (m, 1H), 0.96 (s, 3H), 0.88 (s, 3H)。

CVie406的合成：(6S,7S,10R,13S)-7-羥基-6-(羥甲基)-10,13-二甲基-3-(5-(甲基胺基)亞戊基)十四氫-1H-環戊烷並[a]菲-17(2H)-酮



53



Cvie 406

【0458】 將化合物53（80 mg，0.155 mmol）在TFA/DCM（1 mL/2 mL）中的溶液在室溫攪拌10分鐘。將所述混合物用飽和$NaHCO_3$鹼化至pH = 8-9。將混合物用DCM（25 mL*2）萃取。將合併的有機層在Na_2SO_4上乾燥，過濾並濃縮。

將殘留物透過製備HPLC進行純化，給出作為黃色固體的化合物CVie406（60 mg，94%）。

【0459】 LCMS柱：Rt = 0.370 min；MS計算值：417，MS實測值：418$[M+H]^+$。

實施例2. 用於測量生物活性的通用程序

實施例動物護理

【0460】 本研究符合美國國立衛生研究院出版的《實驗室動物的護理和使用指南》（Guide of the Care and Use of Laboratory Animals）（NIH第85-23號出版物，1996年修訂）以及參與機構認可的動物護理指南。

分離的左心室心肌細胞中的測量

【0461】 在使用酶溶液透過逆行冠狀動脈輸注（Rocchetti M等，J Pharmacol Exper Therap 2005, 313(1):207–215）分別從大鼠和豚鼠心室新鮮解離的肌細胞中，表徵了化合物對（i）SR Ca^{2+}攝取功能和（ii）動作電位（AP）的影響。

統計分析

【0462】 完整動物實驗：資料被報告為平均值 ± SD。統計分析透過Student's t-檢驗（配對t檢驗）來進行。

【0463】 分離的肌細胞實驗：資料被報告為平均值 ± SE。對於重複測量值來說，透過雙向ANOVA對包括多個平均值的曲線進行比較；藥物誘導的總體曲線陡度的變化根據"X因數組"相互作用的顯著性來定義。由於Ca^{2+}衰減的單指數擬合不充分，因此在報告了CaT資料的少數幾種細胞中未估算τ_{decay}；樣本量（N）以相應數字報告。STV對平均APD的依賴性透過線性回歸來量化。在所有比較中，$P<0.05$被認為是統計顯著的。

實施例3. 式(I)的化合物的體外篩選

狗腎Na^+/K^+ ATP酶活性的抑制

【0464】正如本文中別處提到的，本發明的化合物是純或顯著純的SERCA2a刺激劑。因此，這些化合物將對Na^+/K^+ ATP酶的酶活性表現出很少或沒有抑制。因此，測試了所述化合物對犬腎Na^+/K^+ ATP酶的抑制效應。

【0465】腎Na^+/K^+ ATP酶的純化按照Jørgensen描述的方法來進行（Methods Enzymol. 1988, 156:29-43）。在戊巴比妥麻醉（來自於義大利衛生部的進口授權0009171-09/04/2015-DGSAF-COD_UO-P，2015）下，從1-3歲的雄性比格犬（WuXi AppTec, Suzhou Co., Ltd. 1318 Wuzhong Ave., Wuzhong District Suzhou, 215104 P.R. China）切下腎臟。將腎臟切片，將外髓質切下並懸浮（1g/10 mL）在含有250 mM蔗糖、30 mM組氨酸和5 mM EDTA的pH 7.2的蔗糖-組氨酸溶液中。使用Ultra Turrax均質器將所述組織均勻化。將樣品以6,000 g離心15 min。接下來，倒出上清液並以48,000 g離心30 min。將沉澱懸浮在蔗糖-組氨酸緩衝液中，並與溶解在含有25 mM咪唑和1 mM EDTA的pH 7.5的梯度緩衝液中的十二烷基硫酸鈉（SDS）溶液孵育。將所述樣品在蔗糖不連續梯度（10、15和29.4%）頂部分層，並以60,000 g離心115 min。將沉澱物懸浮在梯度緩衝液中。

【0466】如所述（Ferrandi M.等，Hypertension 1996, 28:1018-25），透過測量^{32}P從^{32}P-ATP的釋放來測定Na^+/K^+ ATP酶活性。將濃度逐漸提高的標準品哇巴因或測試化合物與0.3 μg純化的狗腎酶在最終體積為120 μl的培養基中，在37°C孵育10 min，所述培養基含有140 mM NaCl，3 mM $MgCl_2$，50 mM Hepes-Tris，3 mM ATP，pH 7.5。然後添加10 μl含有10 mM KCl和20 nCi 的^{32}P-ATP（3-10 Ci/mmol，Perkin Elmer）的溶液。允許反應在37°C繼續15 min，然後透過用20% v/v冰冷的高氯酸酸化來終止。使用活性炭（Norit A, Serva）透過離心分離^{32}P，並對放射活性進行計數。抑制活性被表示為在不存在哇巴因或測試化合物的情

況下進行的對照樣品的百分數。使用多參數非線性回歸最佳擬合程式（KaleidagraphTM, Sinergy Software）來計算引起Na^+/K^+ ATP酶活性的50%抑制的化合物濃度（IC_{50}）。

【0467】如表1中所示，化合物CVie201、CVie202、CVie203、CVie204、CVie213、CVie214、CVie215、CVie216、CVie217、CVie218和CVie219不抑制純化的Na^+/K^+ ATP酶的酶活性，並且得到的以μM為單位表示的$IC_{50} > 100$ μM。化合物CVie205、Cvie206、CVie207、CVie208、CVie209、CVie210、CVie211、CVie212、CVie401、CVie402、CVie403、CVie404、CVie405、CVie406、CVie407、CVie408、CVie409、CVie410、CVie411和CVie412僅僅輕微抑制Na^+/K^+ ATP酶（IC_{50}範圍在0.8至24 μM之間）（表1）。

【0468】已將化合物與參考藥物地高辛（IC_{50} 0.18 μM）和伊司他星（IC_{50} 0.14 μM）進行比較（表1）。

表1. 狗腎Na^+/K^+ ATP酶的抑制

化合物	IC_{50}, μM
地高辛	0.18
伊司他星	0.14
CVie201	> 100
CVie202	> 100
CVie203	> 100
CVie204	> 100
CVie205	7
CVie206	5.9
CVie207	3.9
CVie208	10.4
CVie209	0.8
CVie210	13.1
CVie211	8.3
CVie212	3.5
CVie213	> 100
CVie214	> 100

CVie215	> 100
CVie216	> 100
CVie217	> 100
CVie218	> 100
CVie219	> 100
CVie401	24.0
CVie402	4.6
CVie403	2.9
CVie405	7.9
CVie406	1.9
CVie407	3.5
CVie408	3.3
CVie409	3.4
CVie410	3.7
CVie411	1.9
CVie412	3.0

來自於正常豚鼠的心臟來源的SR微粒體中的SERCA2a ATP酶活性

【0469】 也在源自於正常豚鼠心臟組織的SR微粒體中測試了濃度範圍為1-200 nM的本文揭露的化合物刺激SERCA2a活性的能力。使用2月齡豚鼠（350-450 g，來自於Envigo, Udine, Italy）製備心臟SERCA2a微粒體。將豚鼠在戊巴比妥麻醉下處死。快速切下左心室（LV）並立即在液氮中冷凍。按照Nediani C.等（J Biol Chem. 1996, 271:19066-7）描述的方法處理LV組織。將組織懸浮在4 x體積的含有10 mM $NaHCO_3$、pH 7、1 mM PMSF、10 μg/ml抑肽酶和亮抑酶肽的緩衝液中，然後使用Ultra Turrax均質器均勻化。將樣品以12,000g離心15分鐘。將得到的上清液過濾，並以100,000g離心30 min。透過將沉澱物用0.6 M KCl、30 mM組氨酸、pH 7懸浮並進一步以100,000g離心30 min，提取收縮性蛋白。將最終的沉澱物用0.3 M蔗糖、30 mM組氨酸、pH 7重構，並分成等分試樣儲存在-80°C下直至使用。

【0470】 正如所述（Micheletti R.等，Am J Card 2007, 99:24A-32A），SERCA2a活性在體外被測量為在不存在和存在測試化合物的情況下，在不同

Ca^{2+}濃度（100-4000 nM）下的^{32}P-ATP水解。將濃度逐漸提高的每種化合物（範圍為1至200 nM）與2 μg富含SERCA2a的微粒體在80 μl含有100 mM KCl、5 mM $MgCl_2$、1 μM A23187、20 mM Tris、pH 7.5的溶液中，在4°C預孵育5 min。然後添加20 μl含有50 nCi ^{32}P-ATP（3-10 Ci/mmol，Perkin Elmer）的5 mM Tris-ATP。ATP水解在37°C下繼續15 min，並透過使用100 μl 20% v/v冰冷的高氯酸酸化來終止反應。使用活性炭（Norit A, SERVA）透過離心分離^{32}P，並測量放射活性。SERCA2a依賴性活性被鑑定為總水解活性被10 μM環匹阿尼酸抑制的部分（Seidler NW等，J Biol Chem. 1989, 264:17816-23）。

【0471】 透過使用S形方程擬合劑量-回應曲線，並計算最大速度下的活性（Vmax）和Ca^{2+}的Kd（Synergy Software KaleidaGraph 3.6）。化合物在正常豚鼠製備物中的效應被表示為在不存在化合物的情況下運行的對照樣品的Kd Ca^{2+}的降低百分數（暗示對Ca^{2+}親和力的增加）（表2）。這種效應表明化合物在Ca^{2+}濃度的生理範圍內提高SERCA2a活性（(Rocchetti M等，J Pharmacol Exp Ther. 2005, 313:207-15；Rocchetti M等，J Pharmacol Exp Ther. 2008, 326:957-65；Ferrandi M等，Br J Pharmacol 2013, 169:1849-1861）。資料為平均值±SD，n =實驗次數，*至少$p< 0.05$。

【0472】 在奈莫耳濃度下，測試化合物在來自於豚鼠心臟製備物的微粒體中降低Ca^{2+}劑量回應曲線的SERCA2a Kd Ca^{2+}（表2）。這些結果表明所述化合物在Ca^{2+}濃度的生理範圍內提高SERCA2a活性，並建議了鬆弛性效果。伊司他星被用作對比物，表明了它刺激SERCA2a的能力（表2）。與此不同，地高辛不能刺激SERCA2a活性（Ferrandi M等，Br J Pharmacol 2013, 169:1849-61；Rocchetti M等，J Pharmacol Exp Ther 2005, 313:207-215）。

表 2. 在來自於正常豚鼠的心臟來源的 SR 微粒體中測試化合物對 SERCA2a Kd Ca^{2+}的影響

化合物	濃度 nM	Kd Ca^{2+} (nM) 平均值 ± SD	與對照相比 Kd 降低的% *p<0.05
伊司他星	0	562.9 ± 68.12 (n=12)	0
	1 nM	524.1 ± 57.41 (n=9)	-7%
	10 nM	464.3 ± 52.35 (n=13)	-18%*
	100 nM	462.35 ± 59.12 (n=13)	-18%*
CVie201	0	533.7 ± 51.4 (n=7)	0
	10 nM	459.4 ± 57.1 (n=6)	-14%*
	100 nM	454.1 ± 53.2 (n=5)	-15%*
CVie202	0	466.3 ± 18.7 (n=4)	0
	10 nM	448.0 ± 9.4 (n=4)	-4%
	100 nM	435.6 ± 24.9 (n=4)	-7%
	200 nM	437.0 ± 26.4 (n=3)	-6%
CVie203	0	454.8 ± 27.9 (n=5)	0
	10 nM	418.3 ± 36.5 (n=5)	-8%
	100 nM	385.8 ± 33.3 (n=5)	-15%*
	200 nM	392.9 ± 31.3 (n=5)	-14%*
CVie204	0	435.3 ± 20.7 (n=5)	0
	100 nM	493.4 ± 106.6 (n=5)	+13%
	200 nM	423.8 ± 82.7 (n=5)	-3%
CVie205	0	786.2 ± 56.9 (n=5)	0
	100 nM	655.8 ± 56.6 (n=5)	-16.7%*
	200 nM	683.1 ± 46.4 (n=5)	-13.1%*
CVie206	0	786.2 ± 56.94 (n=5)	0
	100 nM	678.2 ± 86.7 (n=5)	-13.7%*
	200 nM	667.3 ± 55.57 (n=5)	-15.1%*
CVie208	0	447.3 ± 62.9 (n=5)	0
	100 nM	361.8 ± 72.2 (n=5)	-19.1%*
	200 nM	350.1 ± 109.2 (n=5)	-21.7%
CVie212	0	508.9 ± 123 (n=11)	0
	10 nM	409 ± 121 (n=7)	-19.6%*
	100 nM	406.1 ± 82.9 (n=11)	-20.2%*
CVie213	0	490.6 ± 118.9 (n=13)	0
	10 nM	431.5 ± 128.9 (n=8)	-12%
	100 nM	377.9 ± 113.5 (n=13)	-23%*
	200 nM	406.6 ± 123.5 (n=9)	-17%*
CVie214	0	541.1 ± 45.7 (n=5)	0
	1 nM	473.5 ± 40.4 (n=5)	-13%*
	10 nM	466.5 ± 62.4 (n=5)	-14%*
	100 nM	427.1 ± 48.9 (n=5)	-21%*
	200 nM	408.7 ± 60.1 (n=5)	-24%*
CVie215	0	568.4 ± 46.2 (n=5)	0

	1 nM	530.0 ± 47.9 (n=5)	-7%
	10 nM	459.2 ± 80.3 (n=5)	-19%*
	100 nM	436.9 ± 74.1 (n=5)	-23%*
CVie216	0	587.9 ± 54.0 (n=5)	0
	1 nM	529.0 ± 75.8 (n=5)	-10%
	10 nM	465.4 ± 73.4 (n=5)	-21%*
	100 nM	442.9 ± 85.1 (n=5)	-25%*
	200 nM	462.7 ± 76.3 (n=5)	-21%*
CVie217	0	954.1 ± 145.99 (n=7)	0
	1 nM	763.1 ± 102.57 (n=5)	-20%
	10 nM	718.6 ± 141.93 (n=5)	-24.7%*
	100 nM	763.8 ±119.89 (n=5)	-20%*
	200 nM	673.6 ± 150.44 (n=5)	-29.4%*
CVie218	0	725.15 ± 76.09 (n=5)	0
	1 nM	705.13 ± 88.79 (n=4)	-3%
	10 nM	676.84 ± 13.75 (n=4)	-7%*
	100 nM	586.51 ± 50.49 (n=5)	-19.1%*
	200 nM	618.51 ± 48.01 (n=5)	-15%*
CVie219	0	577.87 ± 92.8 (n=6)	0
	1 nM	517.1 ± 100.76 (n=6)	-10.5%
	10 nM	485.25 ± 81.17 (n=6)	-16%*
	100 nM	465.4 ± 61.14 (n=6)	-19.5%*
	200 nM	478.73 ± 109.21 (n=6)	-17.2%*
CVie407	0	428.4 ± 104.9 (n=5)	0
	100 nM	390.3 ± 91.45 (n=5)	-8.9%
	200 nM	428.3 ± 87.27 (n=5)	0%
CVie408	0	449.2 ± 67.99 (n=4)	0
	100 M	356.3 ± 33.84 (n=4)	-20.7%*
	200 nM	354.8 ± 66.94 (n=4)	-21%*
CVie411	0	428.4 ± 104.8 (n=5)	0
	100 nM	427.7 ± 76.59 (n=5)	0%
	200 nM	407.3 ± 111.03 (n=5)	-4.9%
CVie412	0	449.2 ± 67.9 (n=4)	0
	100 nM	363.5 ± 74.13 (n=4)	-19.1%
	200 nM	361 ± 76.3 (n=4)	-19.6%*

實施例4. 在分離的心室肌細胞中對CVie214和CVie216的研究

大鼠心室肌細胞中的SR Ca^{2+}攝取功能

【0473】 為了測試化合物在舒張功能障礙模型中的效應，透過單次尾靜脈注射鏈脲佐菌素（STZ 50 mg/kg，Sigma-Aldrich）使Sprague Dawley雄性大鼠（150-

175 g）變為糖尿病。STZ被新鮮製備在pH 4.5的0.1 M檸檬酸鈉緩衝液中。在1周後測量空腹血糖，並且具有> 300 mg/dl的值的大鼠被認為患有糖尿病。在STZ注射後9周，在分離的左心室肌細胞中評估藥物對SR Ca^{2+}攝取功能的影響。將肌細胞在特定藥物存在下孵育至少30 min，以保證其細胞膜通透。統計分析透過“組比較”模型來進行。

【0474】 藥物對SR Ca^{2+}攝取速率的影響使用SR“載入方案”來評估，所述方案被特別設計用於排除Na/Ca交換劑（NCX）的貢獻並評估從低水準的SR Ca^{2+}載量開始的攝取速率。在電壓鉗條件下，透過落射螢光動態測量細胞內Ca^{2+}濃度（Fluo4-AM）。同時記錄膜電流，所述膜電流的時間依賴性成分主要反映I_{CaL}。所述SR載入方案包括透過短暫的咖啡因脈衝清空SR，然後透過活化Ca^{2+}經肌膜Ca^{2+}通道的內流（I_{CaL}）的電壓步驟逐步重新填充SR。透過在細胞內和細胞外溶液中省略Na^+來阻斷NCX。所述程序與已發表的方法相符，但稍有修改（Rocchetti M等，J Pharmacol Exper Therap 2005, 313:207–215）。

【0475】 透過考察多種參數來分析藥物對SR Ca^{2+}攝取的影響：在所述載入方案期間1）Ca^{2+}暫態（CaT）幅度和2）Ca^{2+}誘導的Ca^{2+}釋放（CICR）增益增加的速率，其反映出SR重新填充和系統增益的速率，3）每次脈衝中胞質Ca^{2+}衰減的時間常數（τ_{decay}），反映出跨SR膜的淨Ca^{2+}轉運速率（被SERCA2a）（τ_{decay}的降低對應於SR Ca^{2+}攝取增強）。

【0476】 “載入方案”在檢測SERCA2a活化中的特異性得到下述觀察的支持，即它不檢測地高辛的任何效應，所述地高辛是阻斷Na^+/K^+ ATP酶泵，但沒有SERCA2a刺激效應的正性肌力藥劑（Rocchetti M等，J Pharmacol Exp Ther 2005, 313:207-215；Alemanni M等，JMCC 2011, 50:910-918）。

【0477】 CVie216（1 μM）在SR重新裝載期間提高Ca^{2+}暫態（CaT）增加的速率（圖1A）；這與CICR增益的增加（圖1B）和τ_{decay}的降低（圖1C）相關。

【0478】 CVie214（1 μM）在SR載入方案中以與CVie216相似的方式改變CaT參數（圖2）。正如從SERCA2a增強所預期的，CICR增益（圖2B）和τ_{decay}（圖2C）受到所述藥物影響。CVie214在SR重新裝載期間未能顯著提高CaT增加的速率（圖2A）。然而，CICR增益的增加表明這可能反映出同時的I_{CaL}抑制而不是否定對SERCA2a的影響。

【0479】 圖1和2中的結果合在一起表明CVie216和CVie214顯著提高Ca^{2+}被SR的攝取。在所使用的實驗條件下，SR Ca^{2+}攝取完全由SERCA2a支持；因此，所述結果與SERCA2a被所述兩種藥劑活化相一致。

動作電位測量

【0480】 在豚鼠肌細胞中調節SERCA2a的1 μM濃度下，評估了Cvie216和Cvie214對動作電位參數的影響。動作電位（AP）輪廓線提供了對膜離子通道的綜合功能的第一線評估，並且其變化可能揭示了附帶作用——可能導致化合物的不良效應。為了提高AP輪廓線作為報告物的靈敏度，還測試了對AP參數的刺激率依賴性的影響，從而提供了一種多參數（更嚴格）的方法。AP在豚鼠心室肌細胞中記錄，因為所述AP輪廓可重現人類的AP。將肌細胞在藥物存在下孵育至少30 min，以確保即使長時間暴露也沒有影響。統計分析透過“組比較”模型來進行。

【0481】 豚鼠心室肌細胞中的AP在正常的Tyrode溶液中，在36.5°C下記錄。在4個刺激率（0.5-1-2-4 Hz）下測量了下述參數：舒張期膜電位（E_{diast}），最大去極化速度（dV/dt_{max}），動作電位持續時間（90%再極化時的APD）。穩態起搏期間的短期APD變動（STV）這個再極化穩定性的指標，被測量為與APD_n對APD_{n+1}圖（Poincare圖）中的恒等線的絕對正交偏差之和（Altomare C等，Circulation A&E 2015, 8:1265-1275）。

【0482】 在1 μM下，CVie216（圖3A）和CVie214（圖4A）不影響動作電位持續時間（APD_{90}）、舒張期膜電位（E_{diast}）、最大去極化速度（dV/dt_{max}）和每種AP參數的刺激率依賴性。

【0483】 短期APD變動（STV）是電不穩定性的標誌物，並與致心律不整風險相關。STV是平均APD的函數；因此，STV在多個起搏頻率（0.5-1-2和4 Hz）下測量，以將其評估擴展到較寬的APD範圍。STV及其對平均APD的依賴性不受CVie216（圖3B）和CVie214（圖4B）兩者的顯著影響。

【0484】 總而言之，用於動作電位分析的多參數方法表明不存在對心臟電活動的不良藥物影響。因此，根據該分析，CVie216和Cvie214選擇性地執行SERCA2a調節（陽性鬆弛性藥物），即不影響電活動和所涉及的膜電流。

實施例5. 對CVie214和CVie216的體內研究

大鼠中的生物利用度

【0485】 大鼠中的生物利用度由中國大陸的Sundia MediTech Service測量。具體來說，在以1 mg/kg的劑量靜脈內注射（i. v.）和以10 mg/kg的劑量口服給藥（os）後測量CVie214-鹽和CVie216-鹽在大鼠中的生物利用度。測試化合物化合物CVie214-鹽和CVie216-鹽的血漿濃度從0時至24h時以一定間隔測量，並透過LC-MS方法檢測。計算F值（%），對於CVie214-鹽和CVie216-鹽來說結果分別為41.5%和16.9%。

小鼠中的急性毒性

【0486】 在小鼠（Albino Swiss CD-1，體重30 g）中確定了測試化合物CVie214-鹽和CVie216-鹽的急性毒性。將化合物以逐漸增加的劑量口服給藥或靜脈內注射，以鑑定導致50%死亡的劑量。死亡發生在給藥後30 min內，存活則在24h後。

【0487】 CVie214-鹽和CVie216-鹽急性毒性的結果報告在表3中。作為比較，也包括了參考化合物地高辛和伊司他星的急性毒性。地高辛參考文獻資料（www.lookchem.com，“靜脈內地高辛參考手冊”（Reference for Digoxin intravenous）：Afifi AM, Ammar EM. Pharmacological Research Communications. Vol. 6, Pg. 417, 1974；“口服地高辛參考手冊”(Reference for Digoxin oral): Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie. Vol. 153, Pg. 436, 1965）（表3）。

表3. CVie214-鹽和CVie216-鹽在小鼠中的急性毒性（LD_{50}）

急性毒性（小鼠）		
化合物	**LD_{50} mg/kg**	
地高辛 iv	7.7	資料來自於文獻
地高辛 os	17.8	
伊司他星 iv	29-32	
伊司他星 os	200	
CVie214-鹽 iv	300	
CVie214-鹽 os	>800	
CVie216-鹽 iv	>300	
CVie216-鹽 os	>700	

在鏈脲佐菌素糖尿病大鼠中的血液動力學（心臟超音波圖 2M-都卜勒-組織都卜勒）

【0488】 在糖尿病大鼠模型中測試了CVie214和CVie216。簡單來說，為大鼠注射鏈脲佐菌素（STZ)）。從STZ注射起7-9周後，使大鼠經受在尿烷麻醉下進行的經胸心臟超音波圖和都卜勒評估。根據美國心臟超音波圖學會（American Society of Echocardiography）指南(Lang RM等，Eur J Echocardiography 2006, 7:79-

108），使用二維引導的M模式記錄來獲得左心室舒張末期直徑（LVEDD）、左心室收縮末期直徑（LVESD）、舒張期後部（PW）和間隔（SW）壁厚度的短軸測量值。縮短分數被計算為FS =（LVEDD-LVESD）/LVEDD。相對壁厚被計算為PWTd+IVSTd/LVEDD。從心尖四腔視圖透過脈衝都卜勒在二尖瓣小葉的頂端處測量二尖瓣流入，以獲得早期和晚期填充速度（E、A）以及早期填充速度的減速時間（DT）。減速斜率被計算為E/DT比率。二尖瓣減速指數被計算為DT/E比率。從心尖四腔視圖評估組織都卜勒成像（TDI），以記錄間隔二尖瓣環形運動，即心肌收縮峰值（s'）和舒張早期和晚期速度（e'和a'）。

【0489】 在獲取基線血液動力學測量值後，向大鼠給藥地高辛、CVie214、CVie216，並與對照進行比較。將用作參考藥物的地高辛以0.11 mg/kg/min的速率靜脈內輸注15 min，並在1h後測量心臟超音波圖參數。將CVie214-鹽和CVie216-鹽以0.2 mg/kg/min的速率靜脈內輸注到STZ糖尿病大鼠中，並在15 min和30 min後測量心臟超音波圖參數。

【0490】 表4-6示出了地高辛、CVie214-鹽和Cvie216-鹽在STZ糖尿病大鼠中的血液動力學參數。表4-6中示出的數據是平均值 ± SD；帶有星號的值是統計顯著的，具有至少$p< 0.05$。

【0491】 所述資料表明，所述鏈脲佐菌素糖尿病大鼠模型與健康的對照大鼠相比以舒張功能障礙為特徵（對照 n=18只大鼠；STZ n=20只大鼠）（表4）。具體來說，STZ大鼠顯示出DT、DT/E的增加和E、DT/E、e'、HR的降低。CVie214-鹽和CVie216-鹽改善在STZ中與對照相比惡化的舒張功能（表4），引起DT、DT/E的顯著降低以及E/DT和e'的增加，並伴有SV和CO改善（表5-6）。從CVie216-鹽輸注起30 min後E/e'顯著降低（表6）。15 min後只有CVie214輕度但顯著地提高

s'和HR（表5）。作為參考化合物的地高辛改善舒張功能，降低DT、DT/E並提高E/DT、e'和收縮功能（FS、s'），但不影響總體心臟功能例如SV和CO（表4）。

表4. 對照和STZ糖尿病大鼠中的血液動力學參數和地高辛IV輸注在STZ大鼠中的效應

功能	心臟超音波圖參數	對照大鼠 (n=18)	STZ 大鼠 (n=20)	STZ DIGO 之前 (n=10)	STZ，DIGO 之後 15 min 0.11 mg/kg/min (n=10)
收縮	FS	53.1±4.96	55.12±7.02	47,62±6,26	53.1±5.6*6
	s'	29.59±4.9	21.74±1.92*	23,45±2,98	26.03±4.66*
舒張	E	0.93±0.06	0.84±0.12*	0,83±0,09	0.92±0.19
	A	0.65±0.17	0.599±0.123	0,59±0,15	0.79±0.19*
	E/A	1.5±0.35	1.44±0.25	1,48±0,36	1.20±0.21*
	DT	54.6±8.95	59.3±5.32*	53,4±11,97	44.1±10.29*
	DT/E	59.23±10.24	70.61±14.02*	65,21±16,8	50.18±17.05*
	E/DT	17.41±3.29	14.63±2.64*	16,53±5,33	22.66±9.56*
	E/e'	40.1±5.67	40.75±4.84	39,64±2,85	38.95±7.31
	e'	23.46±3.27	20.74±2.22*	20,96±1,66	23.82±2.87*
	a'	24.54±5.86	22.9±4.42	25,86±6,29	29.78±6.17*
總體	CO	178.9±43.52	172.55±45.53	138,5±35,6	155.6±45.7
	HR	305.5±43.3	244±44.9*	236±39	257±36
	SV	0.59±0.14	0.611±0.17	0,59±0,1	0.6±0.12

FS %：縮短分數，收縮功能；E m/s：二尖瓣流入的早期填充速度；A m/s：二尖瓣流入的晚期填充速度；E/A：LV功能的指數；DT ms：E波減速時間；DT/E s2/m：二尖瓣減速指數；E/DT m/s2：減速斜率；s' cm/s TDI：收縮速度；e' cm/s TDI：早期鬆弛速度；a' cm/s TDI：晚期鬆弛速度；E/e'：LV充填壓的指數；CO ml/min：心輸出量；HR 搏/min：心率；SV ml/搏：每搏輸出量。*至少p<0.05，對照相比於STZ或STZ加上藥物相比於STZ之前。

表5. STZ糖尿病大鼠在CVie214-鹽IV輸注後的血液動力學參數

功能	心臟超音波圖參數	STZ，CVie214之前 (n=13)	STZ，CVie214之後15 min 0.2 mg/kg/min (n=13)	STZ，CVie214之後30 min 0.2 mg/kg/min (n=13)
收縮	FS	57.96±7.25	58.1±8.59	60.69±8.36
	s'	21.34±2.16	22.45±3.12*	21.82±2.81
舒張	E	0.78±0.11	0.88±0.15*	0.91±0.16*
	A	0.55±0.12	0.65±0.13*	0.69±0.11*
	E/A	1.46±0.37	1.36±0.17	1.34±0.21
	DT	53.9±9.82	42.5±10.19*	42.15±9.88*
	DT/E	71.42±19.17	49.52±12.41*	48.51±16.44*
	E/DT	15.14±5.1	21.49±5.8*	23.18±8.37*
	E/e'	38.03±3.58	37.49±4.34	37.47±4.48
	e'	20.38±2.32	23.33±2.62*	24.24±2.34*
	a'	22.99±5.68	29.13±6.56*	28.94±5.32*
總體	CO	151.5±29.32	177.23±40.64*	175.15±33.96*
	HR	241±47	268±54*	252±49
	SV	0.64±0.14	0.68±0.19	0.71±0.16*

表6. STZ糖尿病大鼠在CVie216-鹽IV輸注後的血液動力學參數

功能	心臟超音波圖參數	STZ，CVie216之前 (n=11)	STZ，CVie216之後15 min 0.2 mg/kg/min (n=11)	STZ，CVie216之後30 min 0.2 mg/kg/min (n=11)
收縮	FS	55.45±9.96	56.29±9.95	55.19±7.32
	s'	21.83±3.6	22.47±2.45	22.68±3.18
舒張	E	0.84±0.15	0.90±0.13*	0.87±0.09
	A	0.56±0.14	0.66±0.17*	0.68±0.15*
	E/A	1.59±0.4	1.42±0.28*	1.34±0.27*
	DT	58.45±11.18	49.72±12.56*	47.46±10.17*
	DT/E	71.9±19.32	56.52±16.45*	54.8±12.84*
	E/DT	15.51±6.96	19.76±8.27*	19.38±5.39*
	E/e'	40.66±5.48	39.08±5.04	35.82±3.92*
	e'	20.71±1.89	23.1±1.96*	24.48±2.1*
	a'	23.54±6.03	25.85±6.98*	26.66±6.94*
總體	CO	149.36±33.4	165.45±30.9*	181.82±23.75*
	HR	223±61	221±50	225±50
	SV	0.68±0.09	0.76±0.12*	0.83±0.15*

報告物結合測定

【0492】按照已發表的程序並使用適合的參考標準品透過Eurofins在粗膜製備物上進行放射性配體與一組受體的結合（Eurofin，Taiwan，化合物編碼

CVie216-3（1226840），研究編號TW04-0004235，查詢編號TW04-0004235-Q04，Cvie Therapeutics Limited, Taiwan）。CVie216-鹽以10 μM的濃度進行測試。正如表7中所示，在一組受體上沒有記錄到顯著的相互作用。

表7 Cvie216-鹽的受體結合測定

目錄號	測定法名稱	批次	物種	重複次數	濃度	抑制的%
107480	ATP 酶，Ca2+，骨骼肌	438642	豬	2	10 μM	-1
118040	CYP450，19	438644	hum	2	10 μM	0
124010	HMG-CoA 還原酶	438610	hum	2	10 μM	-4
140010	單胺氧化酶 MAO-A	438645	hum	2	10 μM	1
140120	單胺氧化酶 MAO-B	438647	hum	2	10 μM	-2
143000	內皮細胞一氧化氮合酶（eNOS）	438568	bov	2	10 μM	2
107300	肽酶，血管收縮肽轉化酶	438641	兔	2	10 μM	7
164610	肽酶，腎素	438648	hum	2	10 μM	7
152000	磷酸二酯酶 PDE3	438611	hum	2	10 μM	-25
171601	蛋白質酪氨酸激酶，ABL1	438612	hum	2	10 μM	13
176810	蛋白質酪氨酸激酶，Src	438613	hum	2	10 μM	2
200510	腺苷 A1	438614	hum	2	10 μM	-1
200610	腺苷 A2A	438614	hum	2	10 μM	-1
203100	腎上腺素能 α1A	438615	大鼠	2	10 μM	5

203200	腎上腺素能 α1B	438615	大鼠	2	10 μM	6
203630	腎上腺素能 α2A	438616	hum	2	10 μM	-2
204010	腎上腺素能 β1	438652	hum	2	10 μM	2
204110	腎上腺素能 β2	438571	hum	2	10 μM	-6
204600	醛固酮	438617	大鼠	2	10 μM	-3
206000	雄激素（睪固酮）	438618	hum	2	10 μM	6
210030	血管收縮肽 AT1	438653	hum	2	10 μM	1
210120	血管收縮肽 AT2	438653	hum	2	10 μM	-6
214600	L-型鈣通道，二氫吡啶	438620	大鼠	2	10 μM	-20
219500	多巴胺 D1	438660	hum	2	10 μM	13
219700	多巴胺 D2s	439024	hum	2	10 μM	-4
219800	多巴胺 D3	438660	hum	2	10 μM	0
226010	雌激素 ERα	438622	hum	2	10 μM	-3
226050	雌激素 ERβ	438622	hum	2	10 μM	-6
226600	$GABA_A$，氟硝西泮，中樞	438624	大鼠	2	10 μM	1
226500	$GABA_A$，蠅蕈醇，中樞	438623	大鼠	2	10 μM	2
232030	糖皮質激素	438626	hum	2	10 μM	-9
233000	谷氨酸鹽，NMDA，苯環己哌啶	438627	大鼠	2	10 μM	-7
239610	組胺 H1	438628	hum	2	10 μM	12

241000	咪唑啉 I2，中樞	438629	大鼠	2	10 μM	1
243000	胰島素	438654	大鼠	2	10 μM	4
252710	毒蕈鹼 M2	438621	hum	2	10 μM	-20
252810	毒蕈鹼 M3	438661	hum	2	10 μM	-6
253010	毒蕈鹼 M5	438661	hum	2	10 μM	0
258730	煙鹼乙醯膽鹼 α3β4	438656	hum	2	10 μM	-3
260410	阿片 μ（OP3，MOP）	438616	hum	2	10 μM	11
264500	佛波酯	438624	小鼠	2	10 μM	-7
265600	鉀通道（K_{ATP}）	438632	ham	2	10 μM	-11
265900	鉀通道 hERG	438633	hum	2	10 μM	0
299005	孕酮 PR-B	438638	hum	2	10 μM	1
270300	蘭尼鹼 RyR3	438634	大鼠	2	10 μM	-10
271010	血清素（5-羥色胺）5-HT1，非選擇性	438668	大鼠	2	10 μM	12
299007	Sigma σ2	438662	hum	2	10 μM	4
278110	Sigma σ1	438636	hum	2	10 μM	2
279510	鈉通道，位點 2	438637	大鼠	2	10 μM	-5
204410	轉運蛋白，去甲腎上腺素（NET）	438597	hum	2	10 μM	-4

注：bov=牛；ham=倉鼠；hum=人類；沒有項目符合顯著性>50%刺激或抑制的判定標準

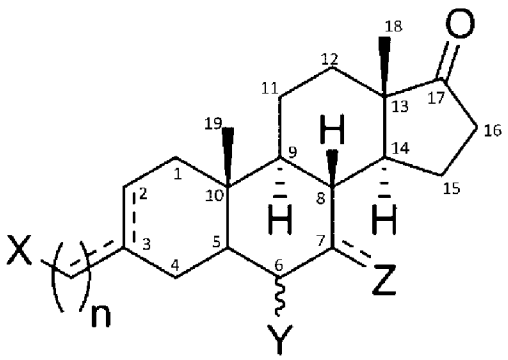
【符號說明】

【0493】

無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】　一種具有式(I)的化合物，



其中：

X是羧酸、羧酸酯或其生物電子等排體、一級醇、醚或胺基中的任一者，其中該生物電子等排體由硫酸酯、磺酸、磷酸酯、膦酸酯或含氮雜環構成；

n是1、2、3、4或5；

C3-C1’平行的實線及虛線表示在C3-C1’位置處的環外單鍵C-C或在C3-C1’位置處的環外雙鍵C=C；

C2-C3平行的實線及虛線表示環內單鍵C-C或環內雙鍵C=C；

C6處的Y是採取α-或β-構型的羥基（OH）或採取α-構型的羥甲基（CH_2OH）；

C7處的Z是-H或採取α-構型的-OH或酮，其中平行的實線及虛線表示當Z為-H或-OH時C7與Z之間的單鍵(C-H或C-OH)，或當Z為酮時在Z處的羰基（C=O）；

或其藥學上可接受的鹽或水合物。

【請求項2】　如請求項1所述之化合物，其中該胺基包括一級胺、二級胺或環胺。

【請求項3】　如請求項1所述之化合物，其中X選自下列所組成之群組：羧酸、羧酸酯、一級胺、二級胺和環胺。

【請求項4】　如請求項1所述之化合物，其中X是羧酸或羧酸酯。

【請求項5】　如請求項1所述之化合物，其選自下列所組成之群組：

(E)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；

(Z)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；

(E)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；

(Z)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；

(E)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；

(Z)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；

(E)-3-(4-胺基丁基)-6α-羥基雄-2-烯-17-酮氫碘酸鹽；

3-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥基雄-2-烯-17-酮氫碘酸鹽；

(EZ)-3-(4-胺基亞丁基]-6α-羥基雄烷-17-酮；

(E)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；

(Z)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；

3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥基雄烷-17-酮；

(6α-羥基-17-酮雄烷-3β-基)乙酸乙酯；

4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；

4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；

2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸；

4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸乙酯；

6-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸乙酯；

6-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸；

(E,Z)-3-(5-N-甲基胺基亞戊基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；

(E,Z)-3-[2-(吡咯烷-3-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；

(E,Z)-3-[2-(氮雜環丁烷-3-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；

(E,Z)-3-[2-(哌啶-4-基)亞乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；

(E,Z)-3-(5-N-甲基胺基亞戊基)-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；

3β-[2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；

3β-[2-(氮雜環丁烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；

3β-[2-(吡咯烷-3-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；

3β-[2-(吡咯烷-3-基)乙基]6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮；

3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥甲基雄烷-7,17-二酮；以及

3β-[2-(哌啶-4-基)乙基]-6α-羥甲基-7α-羥基雄烷-17-酮。

【請求項6】　如請求項1所述之化合物，其選自下列所組成之群組：

(E)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；

(Z)-4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；

(E)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；

(Z)-4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-亞基)丁酸；

(6α-羥基-17-酮雄烷-3β-基)乙酸乙酯；

4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；

4-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸；

2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸；

4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸乙酯；

6-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸乙酯；以及

6-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)己酸。

【請求項7】 如請求項1所述之化合物，其選自下列所組成之群組：4-(6α-羥基-17-氧代雄烷-3-基)丁酸以及2-(6β-羥基-17-氧代雄烷-3-基)乙酸。

【請求項8】 如請求項1-7中任一項所述之化合物，其中該藥學上可接受的鹽選自氯化物、溴化物、硫酸鹽、磷酸鹽、硝酸鹽、福馬酸鹽、琥珀酸鹽、草酸鹽、蘋果酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽、檸檬酸鹽、甲磺酸鹽以及苯甲酸鹽。

【請求項9】 一種藥物組合物，該藥物組合物包含一種或多種如請求項1-7中任一項所述之化合物與至少一種藥學上可接受的載體及/或賦形劑的組合。

【請求項10】 如請求項9所述之藥物組合物，其用於心臟衰竭的治療方法。

【請求項11】 如請求項9或10所述之藥物組合物，其被配製成用於靜脈內注射、肌肉內注射、腸內給藥、腸胃外給藥或吸入。

【請求項12】 如請求項9或10所述之藥物組合物，其被配製成用於口服給藥。

【請求項13】 如請求項9或10所述之藥物組合物，其可以1 mg/kg至20 mg/kg的劑量給藥。

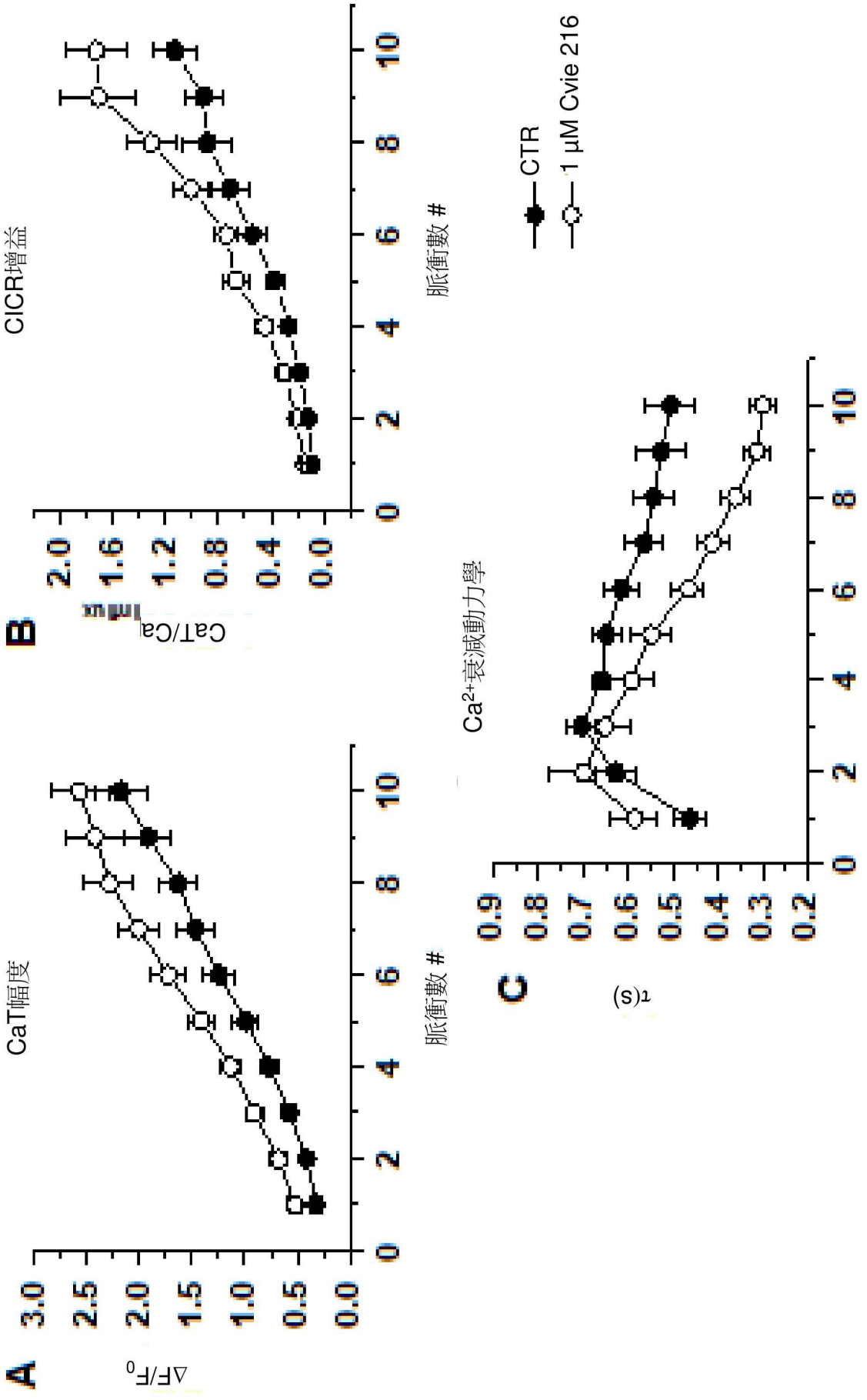
【請求項14】 如請求項9或10所述之藥物組合物，其可以1 mg/kg至10 mg/kg的劑量給藥。

【請求項15】 如請求項9或10所述之藥物組合物，更包含一種或多種另外的治療活性成分，該治療活性成分選自下列所組成之群組：ACE抑制劑、ARBs、利尿劑、Ca^{2+}通道阻滯劑、β-阻斷劑、毛地黃、NO供體、血管擴張劑、SERCA2a刺激劑、腦啡肽酶（NEP）抑制劑、肌球蛋白絲活化劑、重組鬆弛素-2媒介物、重組NP蛋白、可溶性鳥苷酸環化酶（sGC）的活化劑，和血管收縮肽II受體的β-抑制蛋白配體。

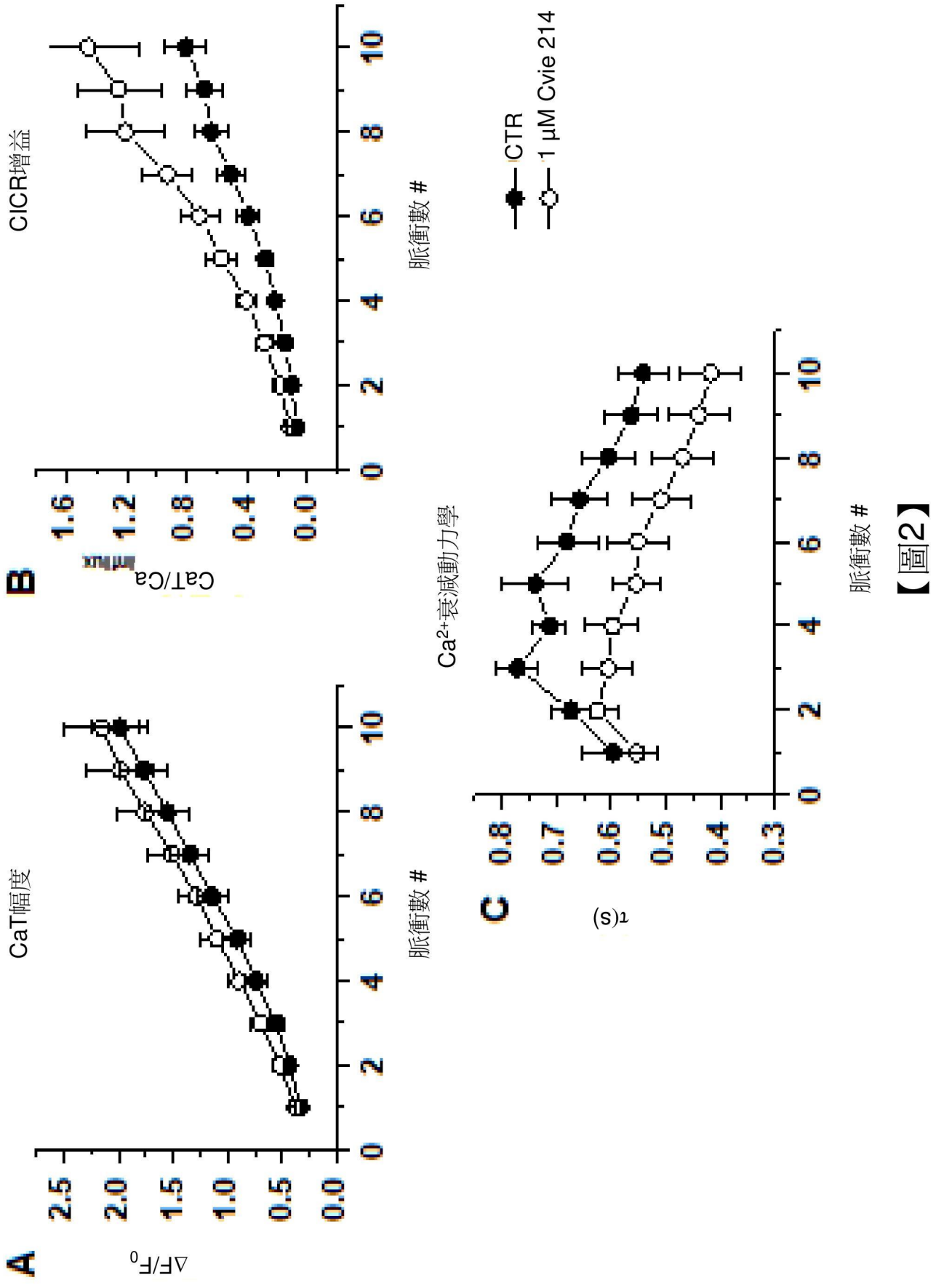
【請求項16】 如請求項1-7中任一項所述之化合物，其用作藥物。

【請求項17】 如請求項1-7中任一項所述之化合物，其用於治療心臟衰竭。

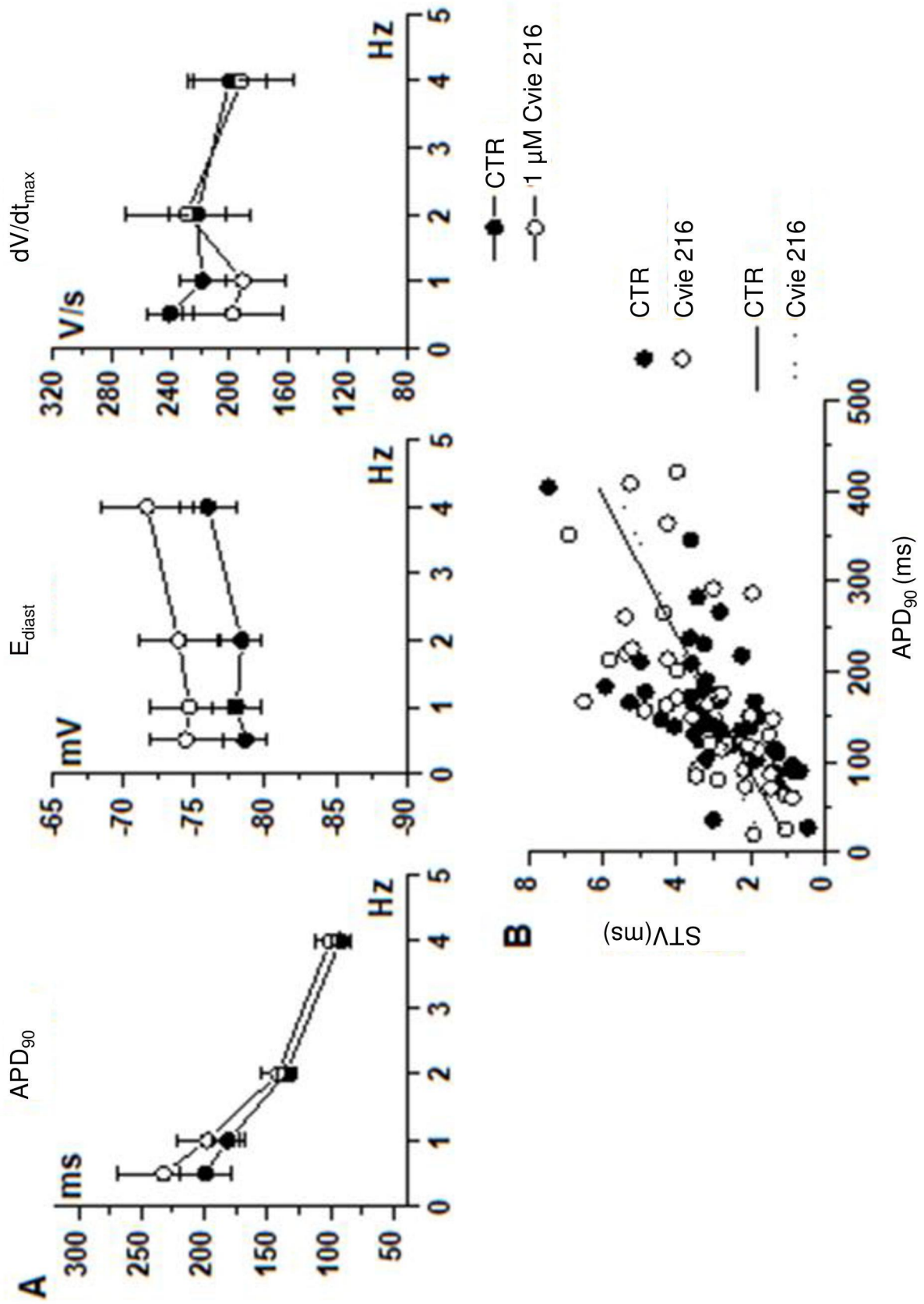
【發明圖式】


A
ΔF/F0
CaT幅度
脈衝數 #
B
CaT/Ca
CICR增益
脈衝數 #
C
Ca2+衰減動力學
τ(s)
CTR
1 μM Cvie 216
脈衝數 #

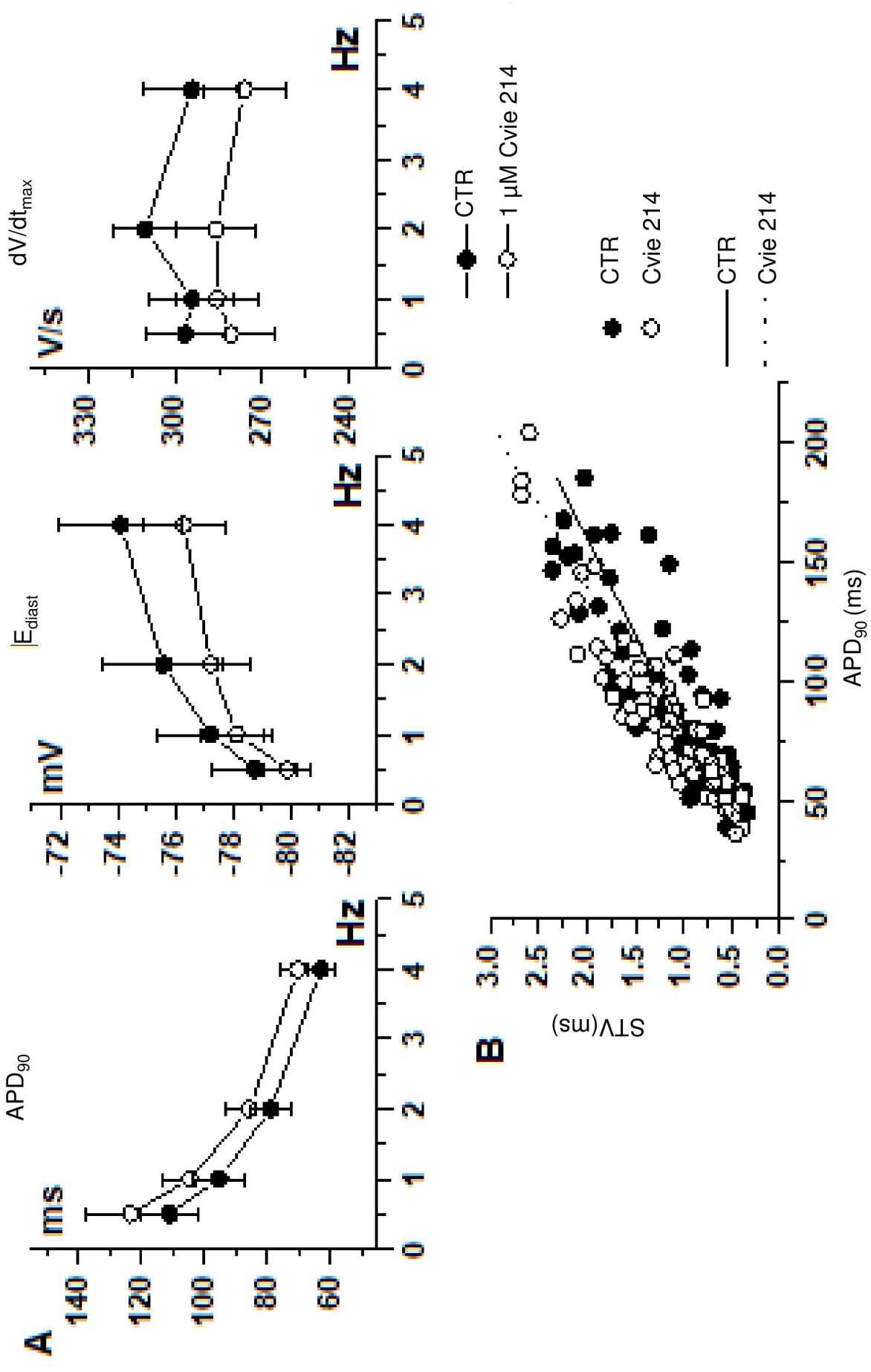
【圖1】


A
CaT幅度
ΔF/F0
脈衝數 #
B
CICR增益
CaT/Ca
脈衝數 #
C
Ca2+衰減動力學
CTR
1 μM Cvie 214
τ(s)
脈衝數 #

【圖2】


A
APD90
ms
300
250
200
150
100
50
Hz
0 1 2 3 4 5
Ediast
mV
-65 -70 -75 -80 -85 -90
dV/dtmax
V/s
320 280 240 200 160 120 80
CTR
1 μM Cvie 216
B
STV(ms)
8 6 4 2 0
APD90 (ms)
0 100 200 300 400 500
CTR
Cvie 216

【圖3】


A
APD90
ms
140
120
100
80
60
0 1 2 3 4 5
Hz
|Ediast
mV
-72
-74
-76
-78
-80
-82
dV/dtmax
V/s
330
300
270
240
CTR
1 μM Cvie 214
B
STV(ms)
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0 50 100 150 200
APD90 (ms)
CTR
Cvie 214

【圖4】