

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

Zveřejněná podle §31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

## 2020-579

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

*C07J 9/00* (2006.01)  
*C07J 11/00* (2006.01)  
*A61K 31/575* (2006.01)  
*A61P 25/28* (2006.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **23.10.2020**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **04.05.2022**  
(Věstník č. 18/2022)

- (71) Přihlašovatel:  
Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, CZ
- (72) Původce:  
RNDr. Miroslav Kvasnica, Ph.D., Olomouc, Povel,  
CZ  
Mgr. Gabriel Gonzalez, Vrbátky, CZ  
Bc. Veronika Górová, Olšany u Prostějova, CZ  
prof. Ing. Miroslav Strnad, CSc., DSc., Olomouc,  
Neředín, CZ
- (74) Zástupce:  
HARBER IP s.r.o., Dukelských hrdinů 567/52,  
170 00 Praha 7, Holešovice

(54) Název přihlášky vynálezu:  
**Sterolové deriváty, přípravky obsahující  
tyto deriváty a jejich použití**

(57) Anotace:  
Vynález se týká sterolových derivátů odvozených od brassinosteroidů, jejich použití pro léčbu neurodegenerativních chorob, a farmaceutických přípravků obsahujících tyto deriváty. Sloučeniny jsou vhodné zejména pro použití při léčbě a profylaxi Parkinsonovy choroby.

## Sterolové deriváty, přípravky obsahující tyto deriváty a jejich použití

### Oblast techniky

5

Vynález se týká nových sterolových derivátů odvozených od rostlinných hormonů brasinosteroidů, jejich použití při ochraně proti buněčnému poškození a buněčné toxicitě, a přípravků obsahujících tyto deriváty.

10

### Dosavadní stav techniky

Parkinsonova choroba (PD) je druhé nejčastější a motoricky související neurodegenerativní onemocnění, s předpokládaným nárůstem v diagnostikovaných případech dosahujícím až 12 milionů pacientů do roku 2040 (Dorsey et al. J. Parkinson's Dis. 2018, 8, S3). PD je charakterizována motorickými příznaky spojenými se specifickou degenerací a ztrátou přibližně 30 až 70 % dopaminergních neuronů v substantia nigra pars compacta a jejich projekcemi na striatum (Rizek et al. CMAJ 2016, 188, 1157). Mezi mnoho molekulárních znaků PD patří zvýšený oxidační a nitrosativní stres (OS a NS), dysfunkce mitochondrií, excitotoxicita, dysfunkce ubikvitin/proteazomálního systému (UPS) a neurozánět (Dantuma a Bott, Front. Mol. Neurosci 2014, 7; Cookson a Bandmann, Human Mol Gen 2010, 19, R21). Vzhledem k nedostatku účinné a nejen symptomatické léčby PD je vývoj léčiv zaměřen na látky s účinným léčebným účinkem na degenerativní procesy PD. Jedním ze zdrojů jsou přírodní sloučeniny, které mají tendenci vykazovat méně vedlejších účinků.

25

Bioaktivní molekuly spojené s Parkinsonovou chorobou, zejména panaxatriolové saponiny z *Panax notoginseng*, vykazovaly dostatečnou neuroprotektiviitu proti 1-methyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridinem (MPTP) indukované smrti PD neuronů a zhoršení chování *in vivo* (Luo a kol., J. Ethnopharmacol. 2011, 133, 448). Dalším příkladem jsou ginsenosidy, steroidní sloučeniny, které vykazovaly neuroprotektivní aktivitu v MPTP modelu PD. Také zvyšovaly hladiny DA ve striatu a substantia nigra modulací exprese několika genů (Bcl-2, Bcl, Bax, kaspáza 3 a tyrosinhydroxyláza) (Wang et al., Neurochem. Int. 2009, 54, 43). Zatímco kurkumin je jedním ze silných koření, které má široké spektrum antioxidačních a neuroprotektivních aktivit zodpovědných za anti-PD aktivity, jeho syntetický derivát kurkumin glukosid byl ještě účinnější, protože byl schopen inhibovat agregaci a toxicitu  $\alpha$ -synukleinu způsobem závislým na dávce, bylo prokázáno snížení apoptózy (kaspáza 3 a 9), oxidačního stresu a mitochondriální dysfunkce v buňkách A53T  $\alpha$ -synukleín PC12 (Liu a kol., Pharmacol. Res. 2011, 63, 439). Dalším zdrojem terapie modifikující PD na bázi rostlin je *Mucuna pruriens*, rostlinný druh bohatý na antioxidanty přírodního původu, jako je koenzym Q-10 (Co-Q10) a L-DOPA. Aplikace přirozené formy L-DOPA ve formě semen *Mucuna pruriens* prokázala účinnost při zlepšování symptomů PD, ale s lepším farmakokinetickým profilem než tradiční forma L-DOPA (Bega a Zadikoff, J. Mov. Dis. 2014, 7, 57). Konečně Co-Q10 a kreatin byly jedněmi z nejvíce studovaných přírodních sloučenin pro léčbu PD. Co-Q10 vykazoval širokou neuroprotektivní aktivitu v modelech PD založených na paraquat, rotenonu, 1-methyl-4-fenylpyridiniu (MPP+) a MPTP. Bylo také zjištěno, že zlepšují symptomy PD v preklinické studii na primátech a v několika klinických studiích (Shults a kol., Arch. Neur. 2002, 59, 1541; Exp. Neurol. 2004, 188, 491).

35

40

45

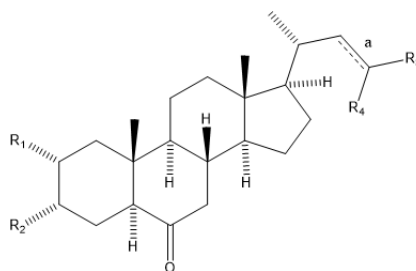
50

Předmětem předkládaného vynálezu je proto poskytnout novou generaci derivátů neurosterolů, které vykazují silné a selektivní ochranné vlastnosti na neuronálních buňkách a tkáních a mohou být použity při léčbě a profylaxi neurodegenerativních chorob, zejména Parkinsonovy choroby.

### Podstata vynálezu

55

Předmětem tohoto vynálezu jsou neurosterolové deriváty obecného vzorce I,



(I)

5 ve kterém,

a je jednoduchá nebo dvojná vazba; dvojná vazba je nezávisle vybrána z E nebo Z konfigurace;

10 R1, R2 jsou nezávisle vybrány z vodíku nebo hydroxylové skupiny;

R3 je nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující vodík, lineární a rozvětvený C1-C5 alkyl a C3-C6 cykloalkyl, přičemž cykloalkyl může být popřípadě substituován alespoň jedním substituentem, kterým je C1-C5 alkyl;

15

R4 je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z vodíku, methylu a ethylu;

nebo R3 a R4 společně tvoří bivalentní skupinu C2-C5  $\alpha,\omega$ -alkylenu,

20 a kde následující sloučeniny jsou vyloučeny z obecného vzorce I:

25 2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, (22E)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -cholest-22-en-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -campestan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -campestan-6-on, (22E)-3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -campestan-22-en-6-on, (22E)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -campestan-22-en-6-on, (22E)-2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -ergost-22-en-6-on, (22E)-3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -ergost-22-en-6-on, (22Z)-3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -ergost-22-en-6-on, (22E)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -ergost-22-en-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -chol-22-en-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -chol-22-en-6-on.

30 S výhodou nejsou R3 a R4 zároveň vodík, tedy alespoň jeden z R3 a R4 je odlišný od vodíku.

V některých provedeních vynálezu nesou sloučeniny obecného vzorce I jako substituent R3 lineární C1-C5 alkyl, s výhodou vybraný ze skupiny zahrnující methylovou, ethylovou, n-propylovou, n-butylovou a n-pentylovou skupinu.

35

V některých provedeních vynálezu nesou sloučeniny obecného vzorce I jako substituent R3 rozvětvený C3-C5 alkyl, s výhodou vybraný ze skupiny, kterou tvoří isopropyl, isobutyl, sek-butyl, terc-butyl, 2-methylbut-2-yl, 2,2-dimethylpropyl, 3-methylbut-1-yl, pent-2-yl, pent-3-yl, 3-methylbut-2-yl a 2-methylbutyl.

40

V ještě některých provedeních vynálezu nesou sloučeniny obecného vzorce I jako substituent R3 cykloalkylovou skupinu, s výhodou vybranou ze skupiny zahrnující cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl, cyklopropylmethyl, cyklobutylmethyl, cyklopentylmethyl, cyklohexylmethyl, které mohou být popřípadě substituovány lineárním C1-C5 alkylem, s výhodou C1-C3 lineárním alkylem.

45

S výhodou je jeden z R3 nebo R4 atom vodíku, a druhý z nich není atom vodíku.

V některých provedeních vynálezu nesou sloučeniny obecného vzorce I jako substituenty R3 a R4 alkylenovou skupinu, která je vybrána ze skupiny zahrnující 1,2-ethylen, 1,3-trimethylen, 1,4-tetramethylen a 1,5-pentamethylen.

5

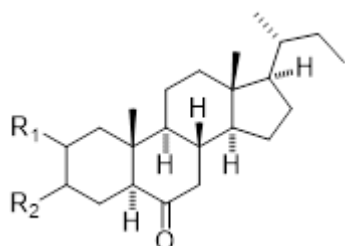
V některých provedeních vynálezu nesou sloučeniny obecného vzorce I v poloze R3 substituent mající chirální centrum, kde je absolutní konfigurace buď R, nebo S.

10

V některých provedeních vynálezu mají sloučeniny obecného vzorce I na uhlíku C-23 chirální centrum, kde je absolutní konfigurace buď R, nebo S.

Jednotlivé sloučeniny popsané v příkladech představují jednotlivá výhodná provedení předloženého vynálezu. Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sterolové deriváty následujících vzorců, kde jeden nebo oba z R1, R2 jsou hydroxy substituenty:

15

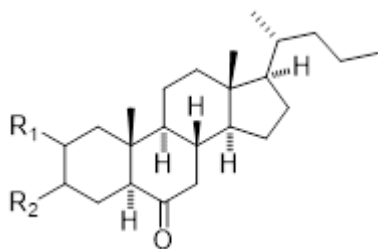


2 $\alpha$ -hydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

20

3 $\alpha$ -hydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

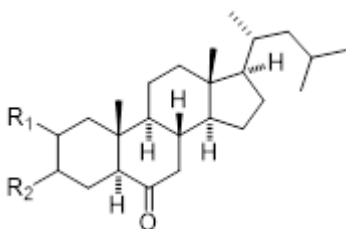
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on;



2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

5 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

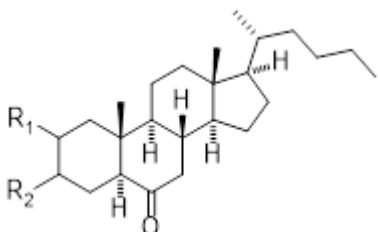
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -cholan-6-on;



10 2 $\alpha$ -hydroxy-23-methyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-23-methyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

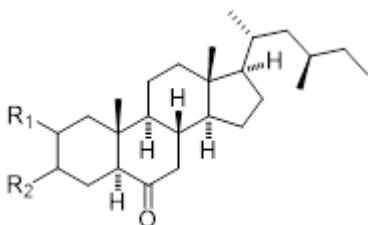
15 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-methyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on;



20 2 $\alpha$ -hydroxy-26,27-dinor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-26,27-dinor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on,

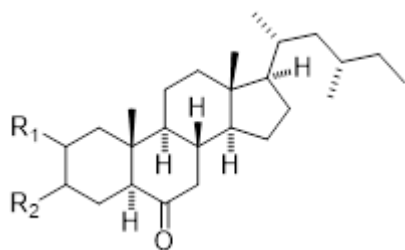
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-26,27-dinor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on;



25 (23*R*)-2 $\alpha$ -hydroxy-23-ethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

(23*R*)-3 $\alpha$ -hydroxy-23-ethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

30 (23*R*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-ethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on;

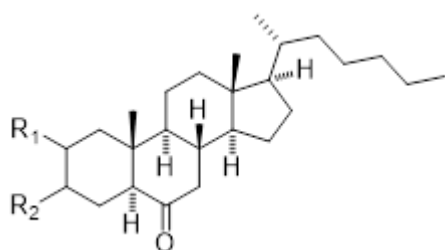


(2*S*)-2*α*-hydroxy-23-ethyl-5*α*-cholan-6-on,

5

(2*S*)-3*α*-hydroxy-23-ethyl-5*α*-cholan-6-on,

(2*S*)-2*α*,3*α*-dihydroxy-23-ethyl-5*α*-cholan-6-on;



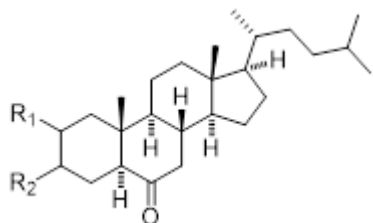
10

2*α*-hydroxy-27-nor-5*α*-cholestan-6-on,

3*α*-hydroxy-27-nor-5*α*-cholestan-6-on,

15

2*α*,3*α*-dihydroxy-27-nor-5*α*-cholestan-6-on;



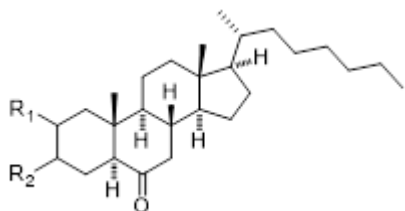
20

2*α*-hydroxy-24,24-dimethyl-5*α*-cholan-6-on,

3*α*-hydroxy-24,24-dimethyl-5*α*-cholan-6-on,

2*α*,3*α*-dihydroxy-24,24-dimethyl-5*α*-cholan-6-on;

25

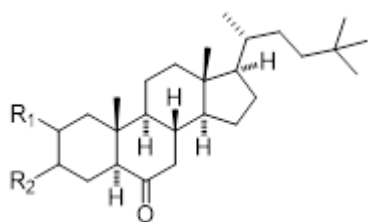


2*α*-hydroxy-26*a*-homo-27-nor-5*α*-cholestan-6-on,

30

3*α*-hydroxy-26*a*-homo-27-nor-5*α*-cholestan-6-on,

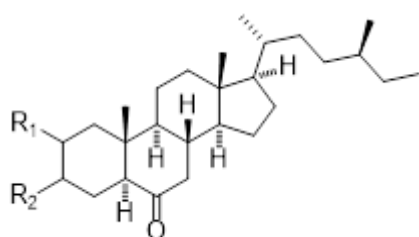
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-26a-homo-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on;



5 2 $\alpha$ -hydroxy-24,24,24-trimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-24,24,24-trimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

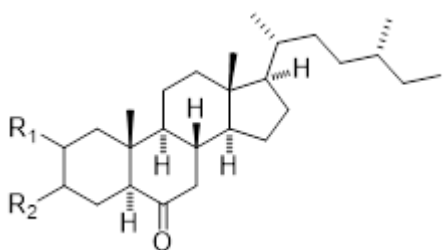
10 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-24,24,24-trimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on;



2 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -campestan-6-on,

15 3 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -campestan-6-on,

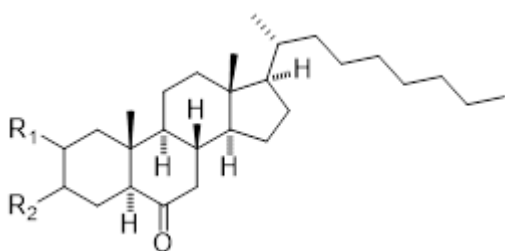
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -campestan-6-on;



20 2 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -ergostan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -ergostan-6-on,

25 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -ergostan-6-on;

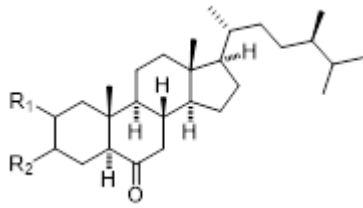


30 2 $\alpha$ -hydroxy-26a,26b-dihomo-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-26a,26b-dihomo-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on,

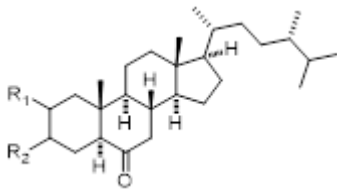
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-26a,26b-dihomo-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on;

5



2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -campestan-6-on;

10

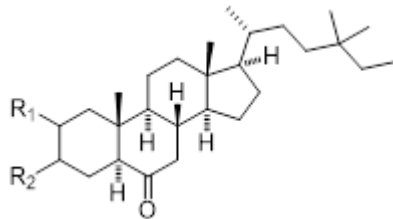


2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -ergostan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -ergostan-6-on,

15

2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -ergostan-6-on;



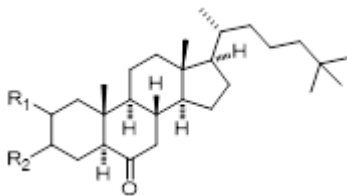
20

2 $\alpha$ -hydroxy-24-ethyl-24,24-dimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-24-ethyl-24,24-dimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-24-ethyl-24,24-dimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on;

25



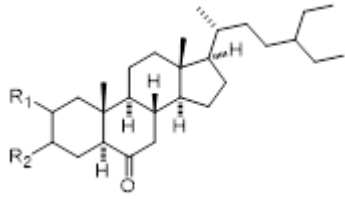
30

2 $\alpha$ -hydroxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on,

2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on;

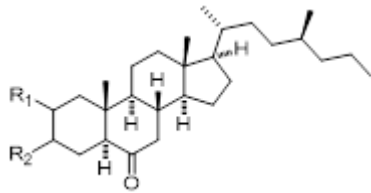




2α-hydroxy-27-nor-5α-stigmastan-6-on,

5 3α-hydroxy-27-nor-5α-stigmastan-6-on,

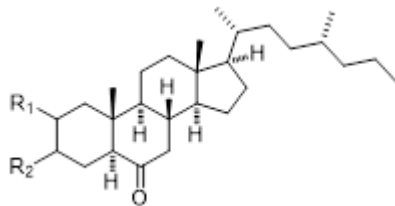
2α,3α-dihydroxy-27-nor-5α-stigmastan-6-on;



10 (24S)-2α-hydroxy-26a-homo-27-nor-5α-campestan-6-on,

(24S)-3α-hydroxy-26a-homo-27-nor-5α-campestan-6-on,

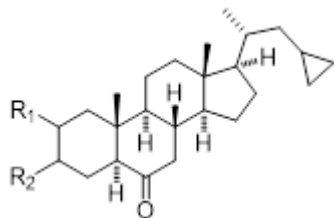
15 (24S)-2α,3α-dihydroxy-26a-homo-27-nor-5α-campestan-6-on;



(24R)-2α-hydroxy-26a-homo-27-nor-5α-ergostan-6-on,

20 (24R)-3α-hydroxy-26a-homo-27-nor-5α-ergostan-6-on,

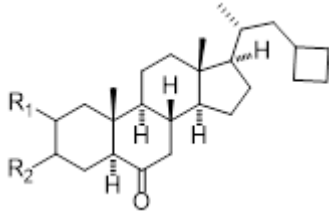
(24R)-2α,3α-dihydroxy-26a-homo-27-nor-5α-ergostan-6-on;



25 2α-hydroxy-22-cyklopropyl-23,24-dinor-5α-cholan-6-on,

30 3α-hydroxy-22-cyklopropyl-23,24-dinor-5α-cholan-6-on,

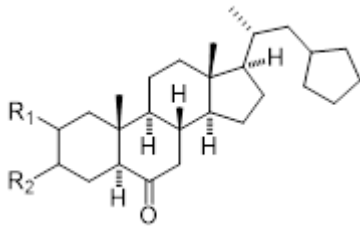
2α,3α-dihydroxy-22-cyklopropyl-23,24-dinor-5α-cholan-6-on;



2 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklobutyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

5 3 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklobutyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

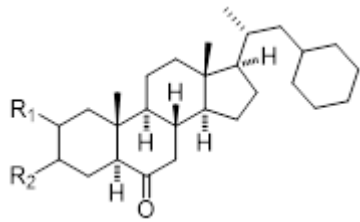
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-22-cyklobutyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on;



10 2 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklopentyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklopentyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

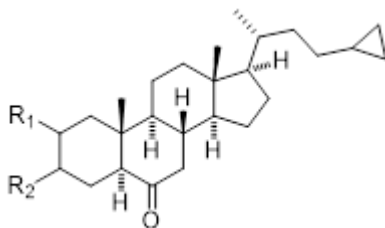
15 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-22-cyklopentyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on;



20 2 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklohexyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklohexyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

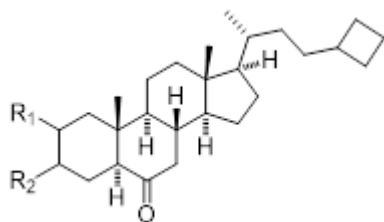
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-22-cyklohexyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on;



25 2 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklopropyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklopropyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

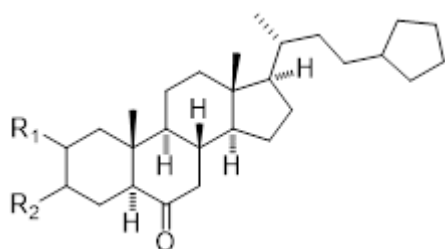
30 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-cyklopropyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on;



2 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklobutyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

5 3 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklobutyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

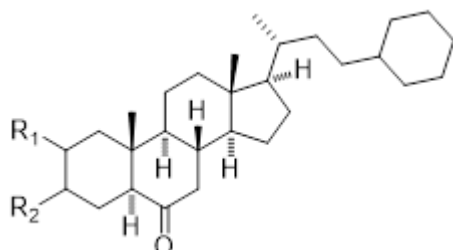
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-cyklobutyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on;



10 2 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklopentyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

3 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklopentyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

15 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-cyklopentyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on;



20 2 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklohexyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

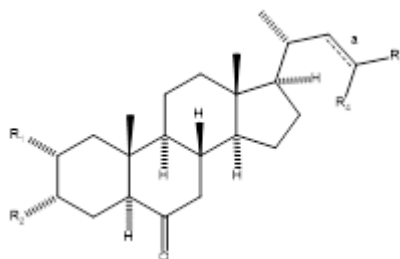
3 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklohexyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on,

2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-cyklohexyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on.

25 Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou tyto deriváty obecného vzorce I: 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-  
24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-26,27-dinor-5 $\alpha$ -  
cholestan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on,  
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-methyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-cyklohexyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-  
6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-cyklopentyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-24,24-dimethyl-  
30 5 $\alpha$ -cholan-6-on.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mají širokou škálu biologických aktivit, včetně aktivit  
při zvyšování životaschopnosti neuronálních buněk, snižování oxidačního stresu, neuroprotektivity  
a antiapoptotické aktivace, které jsou zvláště užitečné ve farmaceutických aplikacích k léčbě  
35 neurodegenerativních chorob a odpovídají spektru účinků požadovaných od léčiv určených pro  
takovou léčbu.

Předmětem tohoto vynálezu jsou dále neurosterolové deriváty obecného vzorce Ia,



(Ia)

5

ve kterém,

10 a je jednoduchá nebo dvojná vazba; dvojná vazba je nezávisle vybrána z E nebo Z konfigurace;

R1, R2 jsou nezávisle vybrány z vodíku nebo hydroxylové skupiny;

15 R3 je nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující vodík, lineární a rozvětvený C1-C5 alkyl a C3-C6 cykloalkyl, přičemž cykloalkyl může být popřípadě substituován alespoň jedním substituentem, kterým je C1-C5 alkyl;

R4 je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z vodíku, methylu a ethylu;

20 nebo R3 a R4 společně tvoří bivalentní skupinu C2-C5  $\alpha,\omega$ -alkylenu,

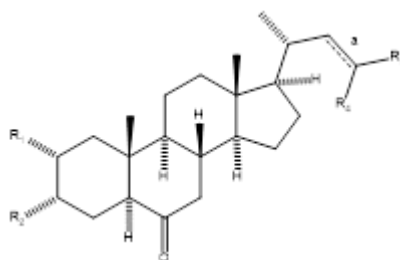
a kde následující sloučeniny jsou vyloučeny z obecného vzorce Ia:

25 2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on,

pro použití jako léčiva.

Předmětem tohoto vynálezu jsou sterolové deriváty obecného vzorce Ib

30



(Ib)

ve kterém,

35

a je jednoduchá nebo dvojná vazba; dvojná vazba je nezávisle vybrána z E nebo Z konfigurace;

40 R1, R2 jsou nezávisle vybrány z vodíku nebo hydroxylové skupiny;

R3 je nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující vodík, lineární a rozvětvený C1-C5 alkyl a C3-C6 cykloalkyl, přičemž cykloalkyl může být popřípadě substituován alespoň jedním substituentem, kterým je C1-C5 alkyl;

5 R4 je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z vodíku, methyly a ethylu;

nebo R3 a R4 společně tvoří bivalentní skupinu C2-C5  $\alpha,\omega$ -alkylenu;

10 pro použití při léčení a/nebo profylaxi neurodegenerativních onemocnění, kde neurodegenerativní onemocnění je s výhodou vybráno ze skupiny zahrnující amyotrofickou laterální sklerózu, Parkinsonovu chorobu, Alzheimerovu chorobu, Huntingtonovu chorobu, progresivní supranukleární paralýzu, kortikobazální degenerace, frontotemporální demence, demence s Lewyho tělisky, atrofie mnohočetného systému, chronické traumatické encefalopatie a spinocerebelární ataxie.

15 Předmětem tohoto vynálezu jsou ve výhodném provedení sterolové deriváty obecného vzorce Ib pro použití při léčbě a profylaxi Parkinsonovy nemoci.

20 Tento vynález dále poskytuje farmaceutické kompozice obsahující jeden nebo více sterolových derivátů obecného vzorce I společně s alespoň jedním farmaceuticky akceptovatelným nosičem.

#### Farmaceutické přípravky

25 Vhodné cesty pro systémovou aplikaci jsou orální, inhalační, injekční (intravazální, intramuskulární, subkutánní), bukální, sublinguální a nasální. Preferovaný způsob podání závisí na stavu pacienta a místě onemocnění, kromě ostatních ohledů známých klinikovi.

30 Farmaceutický přípravek obsahuje od 1 do 95 % aktivní látky, přičemž jednorázové dávky obsahují přednostně od 20 do 90 % aktivní látky a při způsobech aplikace, které nejsou jednorázové, obsahují přednostně od 5 do 20 % aktivní látky. Jednotkové dávkové formy jsou např. potahované tablety, tablety, ampule, lahvičky, čípky nebo tobolky. Jiné formy aplikace jsou např. masti, krémy, pasty, pěny, tinktury, rtěnky, kapky, spreje, disperze atd. Příkladem jsou tobolky obsahující od 0,05 g do 1,0 g aktivní látky.

35 Farmaceutické přípravky podle předloženého vynálezu jsou připravovány známým způsobem, např. běžným mícháním, granulací, potahováním, rozpouštěcími nebo lyofilizačními procesy.

40 Přednostně jsou používány roztoky aktivních látek a dále také suspenze nebo disperze, obzvláště izotonické vodné roztoky, suspenze nebo disperze, které mohou být připraveny před použitím, např. v případě lyofilizovaných preparátů obsahujících aktivní látku samotnou nebo s nosičem jako je manitol. Farmaceutické přípravky mohou být sterilizovány a/nebo obsahují pomocné látky, např. konzervační přípravky, stabilizátory, zvlhčovačlá a/nebo emulgátory, rozpouštěcí činidla, soli pro regulaci osmotického tlaku a/nebo pufry. Jsou připravovány známým způsobem, např. běžným rozpouštěním nebo lyofilizací. Zmíněné roztoky nebo suspence mohou obsahovat látky zvyšující viskozitu, jako např. sodnou sůl karboxymethylcelulosity, dextran, polyvinylpyrolidon nebo želatinu.

50 Olejové suspence obsahují jako olejovou složku rostlinné, syntetické nebo semisyntetické oleje obvyklé pro injekční účely. Oleje, které zde mohou být zmíněny, jsou obzvláště kapalné estery mastných kyselin, které obsahují jako kyselou složku mastnou kyselinu s dlouhým řetězcem majícím 8-22, s výhodou pak 12-22 uhlíkových atomů, např. kyselinu laurovou, tridekanovou, myristovou, pentadekanovou, palmitovou, margarovou, stearovou, arachidonovou a behenovou, nebo odpovídající nenasycené kyseliny, např. kyselinu olejovou, alaidikovou, eurikovou, brasidovou a linoleovou, případně s přísádkem antioxidantů, např. vitaminu E, beta-karotenu nebo  
55 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxytoluenu. Alkoholová složka těchto esterů mastných kyselin nemá více

než 6 uhlíkových atomů a je mono- nebo polyhydrická, např. mono-, di- nebo trihydrické alkoholy jako metanol, etanol, propanol, butanol nebo pentanol a jejich isomery, ale hlavně glykol a glycerol. Estery mastných kyselin jsou s výhodou např. ethyl oleát, isopropyl myristát, isopropyl palmitát, „Labrafil M 2375“ (polyoxyethylen glycerol trioleát, Gattefoscé, Paříž), „Labrafil M 1944 CS“ (nenasyčené polyglykolované glyceridy připravené alkoholů z meruňkových jader a složené z glyceridů a esterů polyetylen glykolu; Gattefoscé, Paříž), „Labrasol“ (nasyčené polyglykolované glyceridy připravené alkoholů z TCM a složené z glyceridů a esterů polyetylen glykolu; Gattefoscé, Paříž) a/nebo „Miglyol 812“ (triglycerid nasycených mastných kyselin s délkou řetězce C<sub>8</sub> až C<sub>12</sub> od Hüls AG, Německo) a zvláště rostlinné oleje jako bavlníkový olej, mandlový olej, olivový olej, ricinový olej, sezamový olej, sójový olej a zejména olej z podzemnice olejné.

Příprava injekčního přípravku se provádí za sterilních podmínek obvyklým způsobem, např. plněním do ampulí nebo lahvíček a uzavíráním obalů.

Např. farmaceutické přípravky pro orální použití se mohou získat smícháním aktivní látky s jedním nebo více tuhými nosiči, případnou granulací výsledné směsi, a pokud je to požadováno, zpracováním směsi nebo granulí do tablet nebo potahovaných tablet přidávkem dalších neutrálních látek.

Vhodné nosiče jsou obzvláště plnidla jako cukry, např. laktóza, sacharóza, manitol nebo sorbitol, celulosové preparáty a/nebo fosforečnany vápníku, s výhodou fosforečnan vápenatý nebo hydrogen fosforečnan vápenatý, dále pojiva jako škroby, s výhodou kukuřičný, pšeničný, rýžový nebo bramborový škrob, methylcelulosa, hydroxypropylmethylcelulosa, sodná sůl karboxymethylcelulosa a/nebo polyvinylpyrolidin, a/nebo pokud požadováno desintegrátory jako výše zmíněné škroby a dále karboxymethylový škrob, zesítěný polyvinylpyrolidin, alginová kyselina a její soli, s výhodou alginát sodný. Další neutrální látky jsou regulátory toku a lubrikanty, s výhodou kyselina salicylová, talek, kyselina stearová a její soli jako stearat hořečnatý a/nebo vápenatý, polyetylen glykol nebo jeho deriváty.

Jádra potahovaných tablet mohou být potažena vhodnými potahy, které mohou být odolné vůči žaludeční šťávě, přičemž používané potahy jsou mezi jinými koncentrované roztoky cukrů, které mohou obsahovat arabskou gumu, talek, polyvinylpyrolidin, polyetylen glykol a/nebo oxid titaničitý, dále potahovací roztoky ve vhodných organických rozpouštědlech nebo směsích rozpouštědel, či pro přípravu potahů odolných vůči žaludeční šťávě roztoky vhodných celulosových preparátů jako acetylcelulosafталát nebo hydroxypropylmethylcelulosafталát. Barviva nebo pigmenty jsou přimíchávány do tablet nebo potahovaných tablet např. pro identifikaci nebo charakterizaci různých dávek účinné složky.

Farmaceutické přípravky, které mohou být užívány orálně, jsou také tvrdé tobolky ze želatiny nebo měkké uzavřené tobolky ze želatiny a změkčovadla jako glycerol nebo sorbitol. Tvrdé tobolky mohou obsahovat aktivní látku ve formě granulí, smíchanou např. s plnidly jako je kukuřičný škrob, pojivy nebo lubrikanty jako talek nebo stearat hořečnatý, a se stabilizátory. V měkkých tobolkách je aktivní látka přednostně rozpuštěna nebo suspendována ve vhodných kapalných látkách neutrální povahy jako mazací tuk, parafinový olej nebo kapalný polyetylen glykol či estery mastných kyselin a etylen nebo propylen glykolu, přičemž je také možno přidat stabilizátory a detergenty např. typu esterů polyetylen sorbitanových mastných kyselin.

Další formy orálního podávání jsou např. sirupy připravované běžným způsobem, které obsahují aktivní složku např. v suspendované formě a v koncentraci okolo 5 až 20 %, přednostně okolo 10 % nebo podobné koncentrace, která umožňuje vhodnou individuální dávku, např. když je měřeno 5 nebo 10 ml. Ostatní formy jsou např. práškové nebo kapalné koncentráty pro přípravu koktejlů, např. v mléce. Takovéto koncentráty mohou být také baleny v množství odpovídajícím jednotkové dávce.

55

Farmaceutické přípravky, které mohou být používány rektálně, jsou např. čípky, které obsahují kombinaci aktivní látky se základem. Vhodné základy jsou např. přírodní nebo syntetické triglyceridy, parafinové uhlovodíky, polyetylén glykoly nebo vyšší alkoholy.

- 5 Přípravky vhodné pro parenterální podání jsou vodné roztoky aktivní složky ve formě rozpustné ve vodě, např. ve vodě rozpustná sůl nebo vodná injekční suspenze, která obsahuje látky zvyšující viskozitu, např. sodnou sůl karboxymethylcelulosy, sorbitol a/nebo dextran, a stabilizátory tam kde je to vhodné. Aktivní látka může být také přítomna ve formě lyofilizátu společně s pomocnými látkami, kde je to vhodné a může být rozpuštěna před parenterální aplikací přidáním vhodných rozpouštědel. Roztoky, které jsou použity pro parenterální aplikaci, mohou být použity např. i pro
- 10 infuzní roztoky. Preferovaná konzervovadla jsou s výhodou antioxidanty jako kyselina askorbová, nebo mikrobicidy kyselina sorbová či benzoová.

- 15 Masti jsou emulze oleje ve vodě, které obsahují ne více než 70 %, ale přednostně 20 až 50 % vody nebo vodné fáze. Tukovou fází tvoří zejména uhlovodíky, např. vazelína, parafinový olej nebo tvrdé parafiny, které přednostně obsahují vhodné hydroxysloučeniny jako mastné alkoholy a jejich estery, např. cetyl alkohol, nebo alkoholy lanolinu, s výhodou lanolin pro zlepšení kapacity pro vázání vody. Emulgátory jsou odpovídající lipofilní sloučeniny jako sorbitanové estery mastných kyselin (Spany), s výhodou sorbitan oleát nebo sorbitan isostearát. Aditiva k vodné fázi jsou např.
- 20 smáčedla jako polyalkoholy, např. glycerol, propylen glykol, sorbitol a/nebo polyetylen glykol, nebo konzervační prostředky či příjemně vonící látky.

- 25 Mastné masti jsou nevodné a obsahují jako bázi hlavně uhlovodíky, např. parafin, vazelínu nebo parafinový olej, a dále přírodní nebo semisyntetické tuky, např. hydrogenované kokosové triglyceridy mastných kyselin nebo, s výhodou, hydrogenované oleje, např. hydrogenovaný ricínový olej nebo olej z podzemnice olejné, a dále částečné glycerolové estery mastných kyselin, např. glycerol mono- nebo distearát. Dále obsahují např. mastné alkoholy, emulgátory a/nebo aditiva zmíněná v souvislosti s mastmi, která zvyšují příjem vody.

- 30 Krémy jsou emulze oleje ve vodě, které obsahují více než 50 % vody. Používané olejové báze jsou zejména mastné alkoholy, např. lauryl, cetyl nebo steryl alkoholy, mastné kyseliny, například palmitová nebo stearová kyselina, kapalné a pevné vosky, například isopropyl myristát, lanolin nebo včelí vosk, a/nebo uhlovodíky, například vazelína (petrolátum) nebo parafinový olej. Emulgátory jsou povrchově aktivní sloučeniny s převážně hydrofilními vlastnostmi, jako jsou
- 35 odpovídající neiontové emulgátory, např. estery mastných kyselin polyalkoholů nebo jejich ethylenoxy adukty, např. estery polyglycerických mastných kyselin nebo polyetylén sorbitanové estery (Tween), dále polyoxyethylenové estery mastných alkoholů nebo polyoxyethylenové estery mastných kyselin, nebo odpovídající iontové emulgátory, jako alkalické soli sulfátů mastných alkoholů, s výhodou laurylsulfát sodný, cetylsulfát sodný nebo stearylsulfát sodný, které jsou
- 40 obvykle používány v přítomnosti mastných alkoholů, např. cetyl stearyl alkoholu nebo stearyl alkoholu. Aditiva k vodné fázi jsou mimo jiné činidla, která chrání krémy před vyschnutím, např. polyalkoholy jako glycerol, sorbitol, propylen glykol a polyetylen glykol, a dále konzervační činidla a příjemně vonící látky.

- 45 Pasty jsou krémy nebo masti obsahující práškové složky absorbující sekreci jako jsou oxidy kovů, např. oxidy titanu nebo oxid zinečnatý, a dále talek či silikáty hliníku, které mají za úkol vázat přítomnou vlhkost nebo sekreci.

- 50 Pěny jsou aplikovány z tlakových nádob a jsou to kapalné emulze oleje ve vodě v aerosolové formě, přičemž jako hnací plyny jsou používány halogenované uhlovodíky, jako polyhalogenované alkany, např. dichlorfluormethan a dichlortetrafluorethan, nebo přednostně nehalogenované plynné uhlovodíky, vzduch, N<sub>2</sub>O či oxid uhličitý. Používané olejové fáze jsou stejné jako pro masti a krémy a také jsou používána aditiva tam zmíněná.

Tinkтуры a roztoky obvykle obsahují vodně-etanolicou bázi, ke které jsou přimíchána zvlhčovadla pro snížení odpařování, jako jsou polyalkoholy, např. glycerol, glykoly a/nebo polyetylen glykol, dále promazávací jako estery mastných kyselin a nižších polyetylen glykolů, tj. lipofilní látky rozpustné ve vodné směsi nahrazující tukové látky odstraněné z kůže etanolem, a pokud je to nutné, i ostatní pomocné látky a aditiva.

Vynález se také vztahuje na procesy nebo metody pro léčení nemocí zmíněných výše. Látky mohou být podávány profylakticky nebo terapeuticky jako takové nebo ve formě farmaceutických přípravků, přednostně v množství, které je efektivní proti zmíněným nemocem, přičemž u teplokrevných živočichů, např. člověka, vyžadujícího takovéto ošetření, je látka používána zejména ve formě farmaceutického přípravku. Na tělesnou hmotnost okolo 70 kg je aplikována denní dávka látky okolo 0,01 až 1,0 g, s výhodou 0,05 až 0,5 g.

### 15 Objasnění výkresů

Obrázek 1 ukazuje neuroprotektivní účinek nových sloučenin v modelu oxidativního poškození indukovaného glutamátem na dopaminergních neuronových buňkách SH-SY5Y. Sloučeniny podle vynálezu při 0,1, 1 a 10  $\mu\text{M}$  spolu s pozitivními kontrolami: kyselina R-lipoová (R-LA, 0,5, 5 a 50  $\mu\text{M}$ ) a deferoxamin (DFO, 1, 10 a 100  $\mu\text{M}$ ) byly použity při současném ošetření se 160 mM glutamátem (Glu) po dobu 24 hodin. Po 24 hodinách byla buněčná smrt kvantifikována barvením propidium jodidem. Buněčná smrt generovaná Glu byla považována za 100%, takže bylo pozorováno snížení buněčné smrti.

25 Všechny výsledky představují průměrnou hodnotu  $\pm$  standardní chybu průměru (SEM) v triplicátu (trojnásobné opakování) experimentů ( $n=3$ ) ve třech různých dnech. ANOVA, Bonferonni post hoc test;

30 \*, #  $P < 0.05$ ; \*\*, ##  $P < 0.01$ ; \*\*\*, ###  $P < 0.001$ ; \*  $P$  porovnání s vzorku s Glu 160mM, #  $P$  porovnání vzorku se skupinou bez Glu 160mM. Hodnota  $P < 0.05$  je považována za statisticky signifikantní.

Obrázek 2 ukazuje glutamátem indukovaný oxidativní stres (OS) a OS-redukující aktivitu sloučenin podle vynálezu a pozitivní kontroly. Sloučeniny podle vynálezu při 0,1, 1 a 10  $\mu\text{M}$  spolu s pozitivními kontrolami: kyselina R-lipoová (R-LA; 0,5, 5 a 50  $\mu\text{M}$ ) a deferoxamin (DFO; 1, 10 a 100  $\mu\text{M}$ ) byly použity při současném ošetření 160 mM Glu po dobu 4 hodin. Po 4 hodinách byla kvantifikace superoxidových radikálů jako markeru oxidačního stresu kvantifikována barvením dihydroethidiem. Oxidační stres generovaný Glu byl považován za 100%, takže bylo pozorováno snížení buněčné smrti. Všechny výsledky představují průměrnou hodnotu  $\pm$  standardní chybu průměru (SEM) v triplicátu (trojnásobné opakování) experimentů ( $n=3$ ) ve třech různých dnech.

### Příklady uskutečnění vynálezu

45 Není-li uvedeno jinak, tak veškerá procenta a množství jsou založena na hmotnosti. Výchozí sloučeniny a činidla mohou být zakoupeny z komerčních zdrojů (Sigma, Aldrich, Fluka atd.) nebo mohou být připraveny, jak je uvedeno níže.

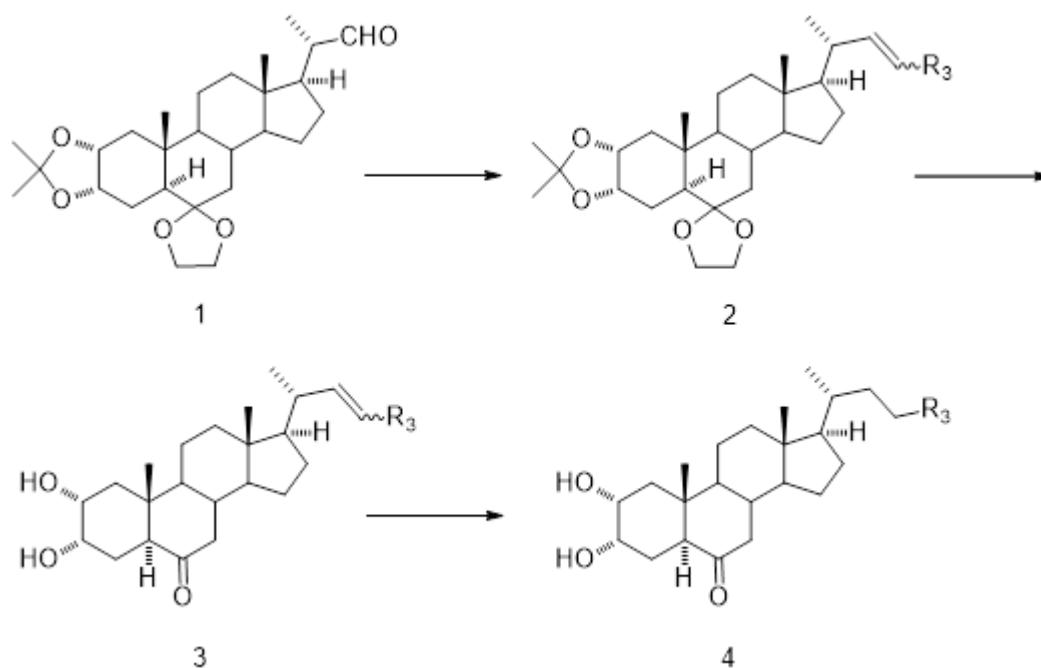
50  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  experimenty byly provedeny na přístroji JEOL JNM-ECA 500 (JEOL, Tokio, Japonsko;  $^1\text{H}$ , 500 MHz;  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) spektrometr vybaveného 5 mm JEOL Royal sondou, s použitím  $\text{CDCl}_3$ , jako rozpouštědla (25 °C). Chemické posuny ( $\delta$ ) byly referencovány na signál použitého rozpouštědla ( $\text{CDCl}_3$ ) a jsou uváděny v částech na jeden milion (ppm). Štěpící konstanty ( $J$ ) jsou uváděny v jednotkách Hertz (Hz). NMR spektra byly procesovány v programu ACD/NMR Processor Academic Edition 12.01 nebo JEOL Delta v5.0.5.1. HRMS analýza byla provedena na 55 spektrometru Synapt G2-Si Mass Spectrometer (Waters, Manchester, UK) s API ionizací. Spektra



byla měřena v pozitivním modu v rozmezí 100 – 1000 *m/z*. Vzorčky byly rozpuštěny v  $\text{CHCl}_3$  a použity pro přímý nástřik. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC Kieselgel 60  $\text{F}_{254}$  desek (Merck) s detekcí postřikem 10% vodným roztokem  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a zahřátím na 400 °C. Čištění sloučenin bylo provedeno použitím sloupcové chromatografie na silikagelu Silica gel 60 (Merck 7734).

5

Výchozí steroidní derivát 1 pro olefinační reakci byl připraven z komerčně dostupného stigmasterolu podle literatury (Heterocycles 1982, 17, 301). Všechny sloučeniny popsané v tomto vynálezu byly připraveny podle následujícího schématu:

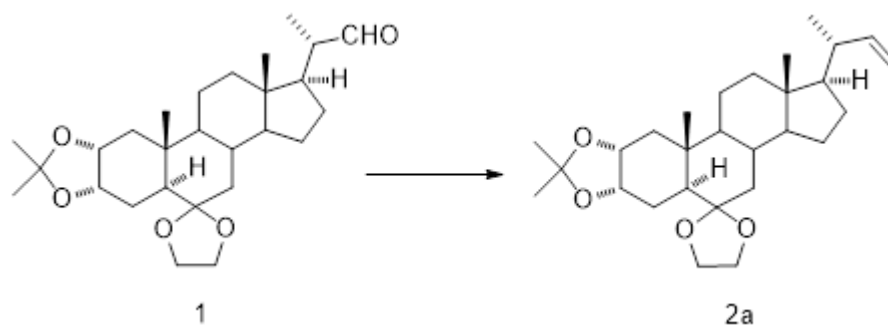


10

Syntéza nových sterolových derivátů

Příklad 1

15



2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -(Isopropylidendioxy)-6,6-(ethylenedioxy)-24-nor-5 $\alpha$ -chol-22-en (sloučenina 2a)

20 Do roztoku methyltrifenylfosfonium bromidu (48 mg; 0.134 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) byl přidán roztok *n*-butyllithia v hexanu (1.6 M; 85  $\mu\text{l}$ ; 0.134 mmol). Reakce byla míchána při 0 °C po dobu 30 minut. Poté byl přidán roztok aldehydu 1 (30 mg; 0.067 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) a reakce byla pomalu ohřívána na laboratorní teplotu a míchána další 2 hodiny. Po ukončení reakce byla směs zředěna ethyl-acetátem a extrahována dvakrát vodou.

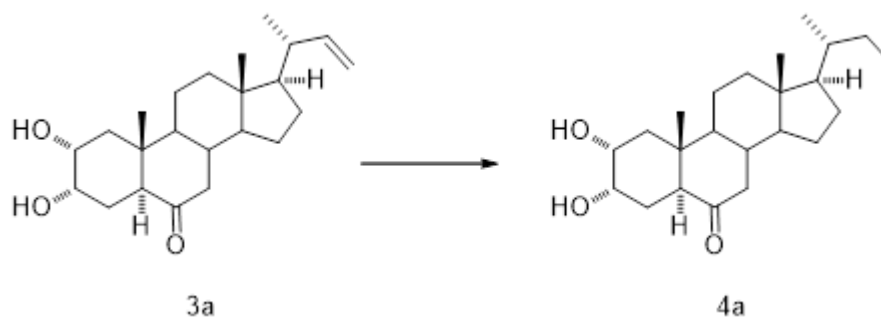
25 Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (7% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 2a.

Bezbarvý olej, chemický vzorec:  $C_{28}H_{44}O_4$ , výtěžek: 25 mg, 84 %.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.69 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.84 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.02 (d, 3H,  $J = 6.4$  Hz,  $CH_3$ ); 1.32 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.47 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.92 (dd, 1H,  $J = 12.7$  a 6.9 Hz); 1.97 (dt, 1H,  $J = 12.7$  a 3.2 Hz); 2.06 (m, 1H); 2.16 (m, 1H); 3.75 (m, 1H,  $CH_2O$ ); 3.88-3.97 (m, 3H,  $CH_2O$ ); 4.10 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.27 (m, 1H, H-3 $\beta$ ); 4.81 (dd, 1H,  $J = 10.2$  a 1.9 Hz, H-23a); 4.90 (dd, 1H,  $J = 17.1$  a 1.9 Hz, H-23b); 5.65 (ddd, 1H,  $J = 17.1, 10.2$  a 8.7 Hz, H-22).  $^{13}C$  NMR  $\delta$  12.14, 13.35, 20.04, 20.70, 21.94, 24.14, 26.55, 28.30, 28.59, 32.84, 37.98, 39.51, 41.01, 41.19, 42.43, 42.68, 45.47, 52.95, 55.37, 55.90, 64.15, 65.46, 72.82, 72.93, 107.51, 109.65, 111.54, 145.16. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{28}H_{45}O_4$   $[M+H]^+$  445.3318, nalezeno 445.3319.

#### 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -chol-22-en-6-on (sloučenina 3a)

1M vodný roztok kyseliny chlorovodíkové (0.5 ml) byl přidán do roztoku sloučeniny 2a (20 mg; 0.045 mmol) v tetrahydrofuranu (4 ml) a reakce byla zahřívána na 40 °C 4 hodiny. Poté byla reakce zředěna ethyl-acetátem a vytřepána dvakrát vodou. Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za snížené tlaku a surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 3a.

Bílý prášek, chemický vzorec:  $C_{23}H_{36}O_3$ , výtěžek: 15 mg, 93 %.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.69 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.76 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.04 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 1.91 (dd, 1H,  $J = 15.0$  a 3.1 Hz); 1.97-2.11 (m, 2H); 2.29 (dd, 1H,  $J = 13.3$  a 4.4 Hz); 2.68 (dd, 1H,  $J = 12.5$  a 2.8 Hz); 3.77 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.05 (m, 1H, H-3 $\beta$ ); 4.83 (dd, 1H,  $J = 10.1$  a 1.9 Hz, H-23a); 4.91 (dd, 1H,  $J = 17.1$  a 1.1 Hz, H-23b); 5.65 (ddd, 1H,  $J = 17.1, 10.1$  a 8.6 Hz, H-22).  $^{13}C$  NMR  $\delta$  12.17, 13.54, 20.04, 21.14, 23.90, 26.26, 28.15, 37.62, 39.24, 40.13, 41.11, 42.57, 42.88, 46.71, 50.67, 53.68, 55.25, 56.64, 68.24, 68.35, 111.84, 144.85, 212.23. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{23}H_{37}O_3$   $[M+H]^+$  361.2743, nalezeno 361.2741.



#### 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on (sloučenina 4a)

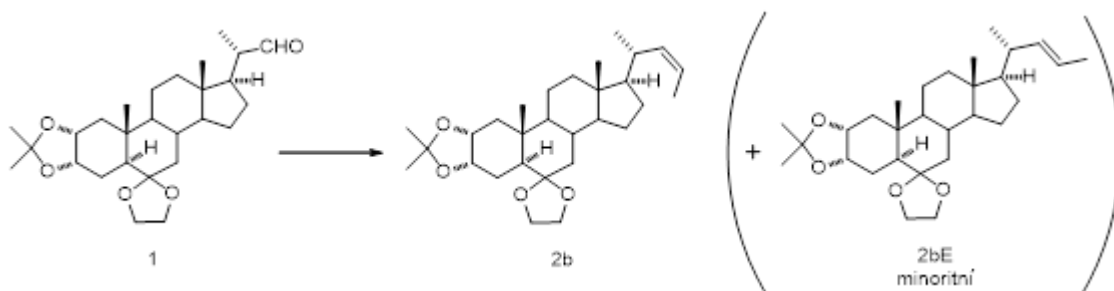
Palladium na uhlí (12 mg) bylo přidáno do roztoku sloučeniny 3a (12 mg; 0.033 mmol) v tetrahydrofuranu (3 ml) a ethanolu (1 ml). Vzduch z reakční baňky byl evakuován a do reakce byl přidán vodík z balonku. Takto byla reakce míchána 18 hodin. Poté bylo palladium na uhlí odfiltrováno, rozpouštědla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 4a.

Bílý prášek, chemický vzorec:  $C_{23}H_{38}O_3$ , výtěžek: 11 mg, 91 %.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.66 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.75 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.83 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz,  $CH_3$ ); 0.91 (d, 3H,  $J = 6.4$  Hz,  $CH_3$ ); 1.91 (dd, 1H,  $J = 15.2$  a 3.0 Hz); 1.96-2.08 (m, 2H); 2.30 (dd, 1H,  $J = 13.3$  a 4.5 Hz); 2.68 (dd, 1H,  $J = 12.5$  a 2.7 Hz); 3.76 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.05 (m, 1H, H-3 $\beta$ ).  $^{13}C$  NMR  $\delta$  10.29, 11.98, 13.53, 17.98, 21.16, 23.92, 26.26, 28.17, 30.27, 36.88, 37.67, 39.35, 40.14, 42.58, 42.86, 46.77,

50.69, 53.69, 55.49, 56.62, 68.27, 68.37, 212.34. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{23}H_{39}O_3$   $[M+H]^+$  363.2899, nalezeno 363.2902.

## Příklad 2

5



(22*Z*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -(Isopropylidendioxy)-6,6-(ethylenedioxy)-5 $\alpha$ -chol-22-en (sloučenina 2b)

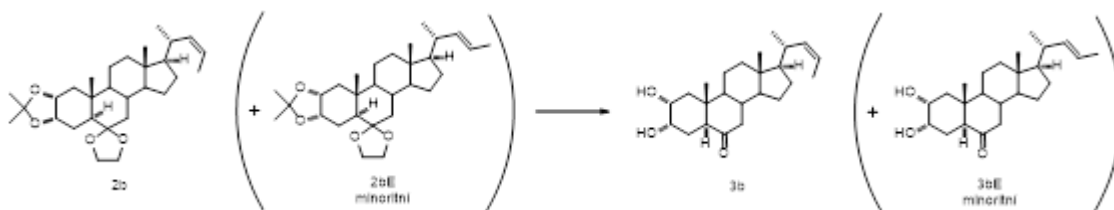
10 Do roztoku ethyltrifenylfosfonium bromidu (50 mg; 0.134 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) byl přidán roztok *n*-butyllithia v hexanu (1.6 M; 85  $\mu$ l; 0.134 mmol). Reakce byla míchána při 0 °C po dobu 30 minut. Poté byl přidán roztok aldehydu 1 (30 mg; 0.067 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) a reakce byla pomalu ohřívána na laboratorní teplotu a míchána další 2 hodiny. Po ukončení reakce byla směs zředěna ethyl-acetátem a extrahována dvakrát vodou.

15 Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (7% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 2b převážně jako *Z* izomer (přibližně 5 % *E* izomeru (2bE) je pozorovatelné v  $^1H$  NMR).

20 Bezbarvý olej, chemický vzorec:  $C_{29}H_{46}O_4$ , výtěžek: 27 mg, 87 %.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.71 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.839 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.95 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 1.32 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.47 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.60 (dd, 3H,  $J = 6.7$  a 1.5 Hz,  $CH_3$ ); 1.93 (dd, 1H,  $J = 12.7$  a 6.9 Hz); 1.97 (m, 1H); 2.15 (m, 1H); 2.46 (m, 1H); 3.75 (m, 1H,  $CH_2O$ ); 3.88-3.97 (m, 3H,  $CH_2O$ ); 4.10 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.27 (m, 1H, H-3 $\beta$ ); 5.15 (m, 1H, H-22); 5.25 (m, 1H, H-23).  $^{13}C$  NMR  $\delta$  12.25, 13.10, 13.37, 20.42, 20.71, 21.95, 24.13, 26.55, 27.88, 28.60, 32.85, 33.70, 38.00, 39.55, 41.03, 42.37, 42.70, 45.48, 53.01, 55.95, 56.16, 64.15, 65.47, 72.84, 72.95, 107.51, 109.67, 120.29, 137.50. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{29}H_{47}O_4$   $[M+H]^+$  459.3474, nalezeno 459.3475. Vybrané  $^1H$  NMR píky pro 22*E*-izomer (2bE):  $\delta$  0.67 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.833 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.98 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 5.29 (m, 1H).

25

30



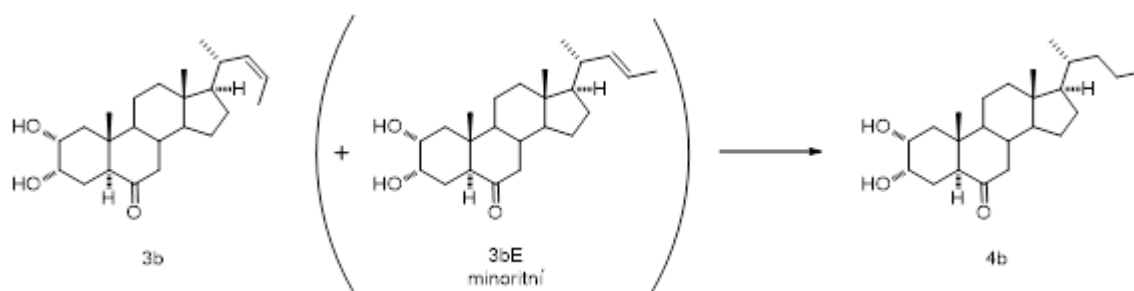
(22*Z*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ -chol-22-en-6-on (sloučenina 3b)

35

1M vodný roztok kyseliny chlorovodíkové (0.5 ml) byl přidán do roztoku sloučeniny 2b (20 mg; 0.045 mmol) v tetrahydrofuranu (4 ml) a reakce byla zahřívána na 40 °C 4 hodiny. Poté byla reakce zředěna ethyl-acetátem a vytřepána dvakrát vodou. Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za snížené tlaku a surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 3b (díky přítomnosti minoritního *E*-izomeru 2bE ve výchozí sloučenině je v  $^1H$  NMR pozorovatelný i izomer 3bE v množství cca 5 %).

40

Bílý prášek, chemický vzorec:  $C_{24}H_{38}O_3$ , výtěžek: 15 mg, 92 %.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.71 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.764 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.97 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 1.60 (dd, 3H,  $J = 6.7$  a 1.5 Hz,  $CH_3$ ); 1.92 (dd, 1H,  $J = 15.1$  a 3.2 Hz); 1.97-2.06 (m, 2H); 2.30 (dd, 1H,  $J = 13.1$  a 4.5 Hz); 2.47 (m, 1H); 2.69 (dd, 1H,  $J = 12.5$  a 2.8 Hz); 3.78 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.05 (m, 1H, H-3 $\beta$ ); 5.15 (m, 1H, H-22); 5.28 (m, 1H, H-23).  $^{13}C$  NMR  $\delta$  12.28, 13.13, 13.55, 20.40, 21.16, 23.89, 26.26, 27.75, 33.65, 37.65, 39.27, 40.17, 42.60, 42.83, 46.74, 50.68, 53.74, 56.04, 56.68, 68.26, 68.36, 120.58, 137.20, 212.22. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{24}H_{39}O_3$   $[M+H]^+$  375.2899, nalezeno 375.2897. Vybrané  $^1H$  NMR píky pro 22*E*-izomer (3bE):  $\delta$  0.67 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.757 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.00 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 5.34 (m, 1H).

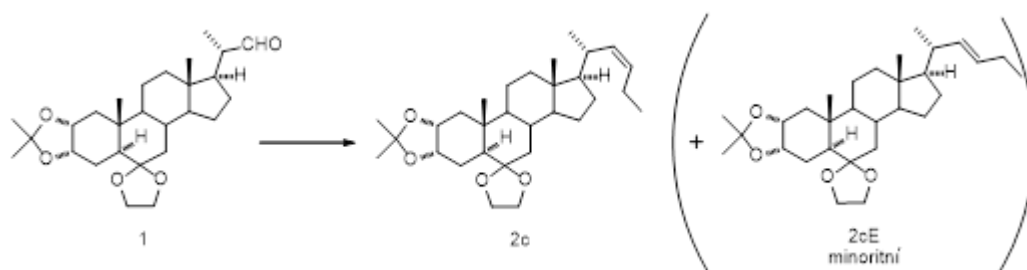


### 15 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ -cholan-6-on (sloučenina 4b)

Palladium na uhlí (12 mg) bylo přidáno do roztoku sloučeniny 3b s minoritním izomerem 3bE (12 mg; 0.033 mmol) v tetrahydrofuranu (3 ml) a ethanolu (1 ml). Vzduch z reakční baňky byl evakuován a do reakce byl přidán vodík z balonku. Takto byla reakce míchána 18 hodin. Poté bylo palladium na uhlí odfiltrováno, rozpouštědla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt čistěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 4b.

Bílý prášek, chemický vzorec:  $C_{24}H_{40}O_3$ , výtěžek: 10 mg, 83 %.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.66 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.76 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.87 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz,  $CH_3$ ); 0.91 (d, 3H,  $J = 6.4$  Hz,  $CH_3$ ); 1.92 (dd, 1H,  $J = 15.2$  a 3.3 Hz); 1.97-2.08 (m, 2H); 2.30 (dd, 1H,  $J = 13.2$  a 4.6 Hz); 2.68 (dd, 1H,  $J = 12.6$  a 2.9 Hz); 3.77 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.05 (m, 1H, H-3 $\beta$ ).  $^{13}C$  NMR  $\delta$  11.98, 13.54, 14.52, 18.56, 19.19, 21.18, 23.93, 26.26, 28.01, 35.49, 37.68, 38.20, 39.38, 40.17, 42.60, 42.92, 46.78, 50.69, 53.70, 56.05, 56.66, 68.29, 68.38, 212.26. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{24}H_{39}O_2$   $[(M-H_2O)+H]^+$  359.2950, nalezeno 359.2948.

### Příklad 3

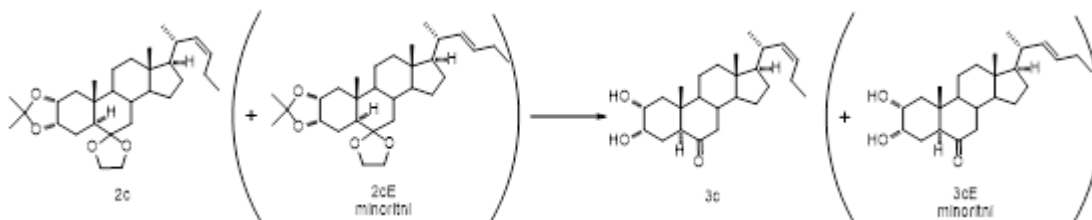


(2*Z*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -(Isopropylidendioxy)-6,6-(ethylenedioxy)-26,27-dinor-5 $\alpha$ -cholest-22-en (sloučenina 2c)

Do roztoku propyltrifenyfosfonium bromidu (52 mg; 0.135 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) byl přidán roztok n-butyllithia v hexanu (1.6 M; 85  $\mu$ l; 0.134 mmol). Reakce byla míchána

při 0 °C po dobu 30 minut. Poté byl přidán roztok aldehydu 1 (30 mg; 0.067 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) a reakce byla pomalu ohřívána na laboratorní teplotu a míchána další 2 hodiny. Po ukončení reakce byla směs zředěna ethyl-acetátem a extrahována dvakrát vodou. Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (7% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 2c převážně jako *Z* izomer (přibližně 7 % *E* izomeru (2cE) je pozorovatelné v <sup>1</sup>H NMR).

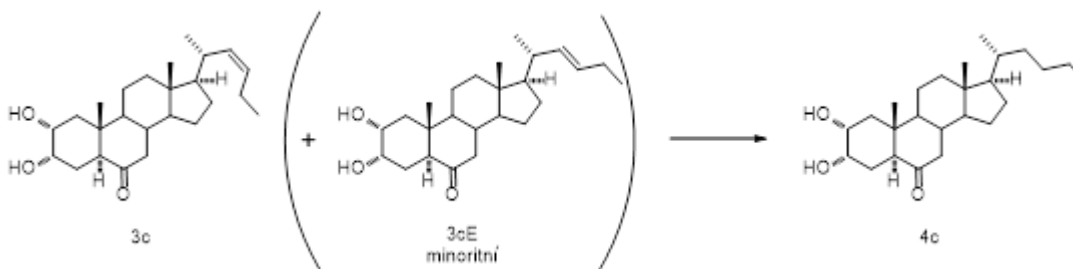
Bezbarvý olej, chemický vzorec: C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub>, výtěžek: 28 mg, 88 %. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ, ppm: δ 0.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.841 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.95 (t, 3H, J = 7.4 Hz, CH<sub>3</sub>); 0.96 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.48 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.91-1.99 (m, 2H); 2.00-2.09 (m, 2H); 2.16 (m, 1H); 2.42 (m, 1H); 3.75 (m, 1H, CH<sub>2</sub>O); 3.88-3.97 (m, 3H, CH<sub>2</sub>O); 4.11 (m, 1H, H-2β); 4.27 (m, 1H, H-3β); 5.09 (m, 1H, H-22); 5.18 (m, 1H, H-23). <sup>13</sup>C NMR δ 12.26, 13.38, 14.49, 20.71, 20.80, 20.86, 21.96, 24.13, 26.56, 28.06, 28.61, 32.86, 34.15, 38.00, 39.56, 41.03, 42.37, 42.70, 45.48, 53.01, 55.97, 56.02, 64.16, 65.48, 72.84, 72.95, 107.52, 109.68, 128.22, 135.93. HRMS (API): *m/z* vypočteno pro C<sub>30</sub>H<sub>49</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 473.3631, nalezeno 473.3633. Vybrané <sup>1</sup>H NMR píky pro 22*E*-izomer (2cE): δ 0.67 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.838 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.99 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>); 5.33 (m, 1H).



(22*Z*)-2α,3α-Dihydroxy-26,27-dinor-5α-cholest-22-en-6-on (sloučenina 3c)

1M vodný roztok kyseliny chlorovodíkové (0.5 ml) byl přidán do roztoku sloučeniny 2c (20 mg; 0.042 mmol) v tetrahydrofuranu (4 ml) a reakce byla zahřívána na 40 °C 4 hodiny. Poté byla reakce zředěna ethyl-acetátem a vytřepána dvakrát vodou. Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za snížené tlaku a surový produkt bych čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 3c (díky přítomnosti minoritního *E*-izomeru 2cE ve výchozí sloučenině je v <sup>1</sup>H NMR pozorovatelný i izomer 3cE v množství cca 7 %).

Bílý prášek, chemický vzorec: C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>O<sub>3</sub>, výtěžek: 15 mg, 91 %. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ, ppm: δ 0.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.76 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.95 (t, 3H, J = 7.4 Hz, CH<sub>3</sub>); 0.97 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.91 (dd, 1H, J = 15.3 a 3.1 Hz); 1.97-2.07 (m, 2H); 2.29 (dd, 1H, J = 13.1 a 4.6 Hz); 2.43 (m, 1H); 2.68 (dd, 1H, J = 12.5 a 2.8 Hz); 3.77 (m, 1H, H-2β); 4.05 (m, 1H, H-3β); 5.09 (m, 1H, H-22); 5.19 (m, 1H, H-23). <sup>13</sup>C NMR δ 12.40, 13.68, 14.60, 20.89, 21.00, 21.28, 24.02, 26.40, 28.07, 34.22, 37.78, 39.41, 40.28, 42.73, 42.94, 46.87, 50.80, 53.85, 56.02, 56.82, 68.37, 68.47, 128.61, 135.74, 212.39. HRMS (API): *m/z* vypočteno pro C<sub>25</sub>H<sub>41</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 389.3056, nalezeno 389.3053. Vybrané <sup>1</sup>H NMR píky pro 22*E*-izomer (3bE): δ 0.67 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.00 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>); 5.35 (m, 1H).

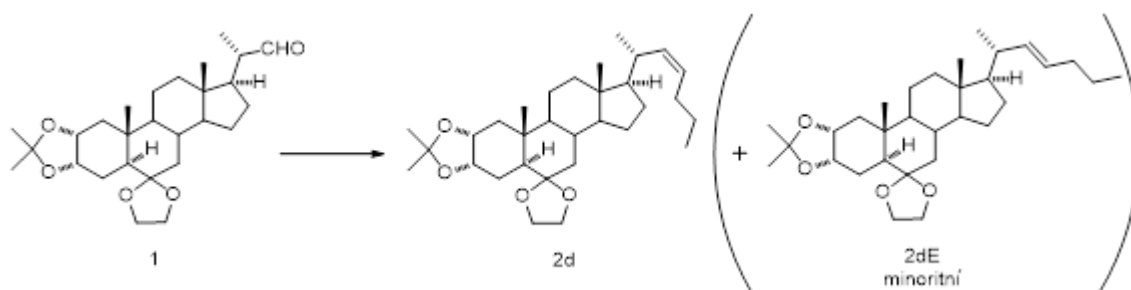


2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-26,27-dinor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (sloučenina 4c)

Palladium na uhlí (12 mg) bylo přidáno do roztoku sloučeniny 3c s minoritním izomerem 3cE (12 mg; 0.031 mmol) v tetrahydrofuranu (3 ml) a ethanolu (1 ml). Vzduch z reakční baňky byl evakuován a do reakce byl přidán vodík z balonku. Takto byla reakce míchána 18 hodin. Poté bylo palladium na uhlí odfiltrováno, rozpouštědla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 4c.

Bílý prášek, chemický vzorec: C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>, výtěžek: 10 mg, 83 %. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.66 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.89 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>); 0.91 (d, 3H, J = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.91 (dd, 1H, J = 15.2 a 3.3 Hz); 1.96-2.07 (m, 2H); 2.30 (dd, 1H, J = 13.2 a 4.6 Hz); 2.68 (dd, 1H, J = 12.6 a 3.0 Hz); 3.76 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.05 (m, 1H, H-3 $\beta$ ). <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  11.98, 13.53, 14.17, 18.61, 21.17, 23.11, 23.92, 26.26, 27.99, 28.28, 30.28, 35.50, 37.68, 39.37, 40.16, 42.59, 42.90, 46.78, 50.69, 53.70, 55.97, 56.65, 68.28, 68.38, 212.32. HRMS (API): *m/z* vypočteno pro C<sub>25</sub>H<sub>43</sub>O<sub>2</sub> [(M-H<sub>2</sub>O)+H]<sup>+</sup> 391.3212, nalezeno 391.3209.

## Příklad 4



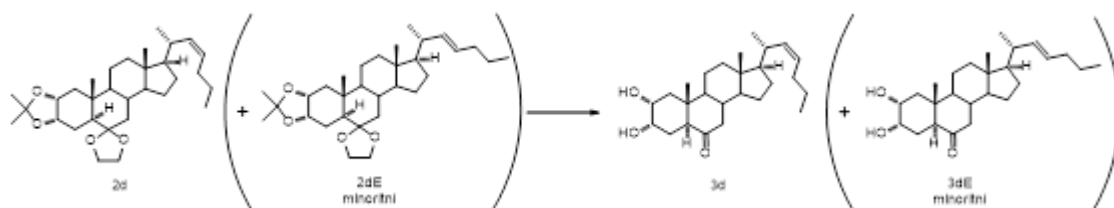
20

(22Z)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -(Isopropylidendioxy)-6,6-(ethylenedioxy)-27-nor-5 $\alpha$ -cholest-22-en (sloučenina 2d)

Do roztoku butyltrifenyfosfonium bromidu (54 mg; 0.135 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) byl přidán roztok n-butyllithia v hexanu (1.6 M; 85  $\mu$ l; 0.134 mmol). Reakce byla míchána při 0 °C po dobu 30 minut. Poté byl přidán roztok aldehydu 1 (30 mg; 0.067 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) a reakce byla pomalu ohřívána na laboratorní teplotu a míchána další 2 hodiny. Po ukončení reakce byla směs zředěna ethyl-acetátem a extrahována dvakrát vodou. Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (7% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 2d převážně jako Z izomer (20 % E izomeru (2dE) je pozorovatelné v <sup>1</sup>H NMR).

Bezbarvý olej, chemický vzorec: C<sub>31</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub>, výtěžek: 27 mg, 82 %. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.89 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>); 0.91 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.48 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.89-2.09 (m, 5H); 2.15 (m, 1H); 2.42 (m, 1H); 3.75 (m, 1H, CH<sub>2</sub>O); 3.88-3.97 (m, 3H, CH<sub>2</sub>O); 4.10 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.28 (m, 1H, H-3 $\beta$ ); 5.11-5.20 (m, 2H H-22, H-23). <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  12.28, 13.39, 13.91, 20.72, 20.74, 21.97, 22.98, 24.14, 26.57, 28.03, 28.61, 29.67, 32.86, 34.19, 38.01, 39.57, 41.03, 42.37, 42.71, 45.49, 53.02, 55.97, 56.10, 64.17, 65.48, 72.84, 72.96, 107.52, 109.68, 126.44, 136.64. HRMS (API): *m/z* vypočteno pro C<sub>31</sub>H<sub>51</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 487.3787, nalezeno 487.3783. Vybrané <sup>1</sup>H NMR píky pro 22E-izomer (2dE):  $\delta$  0.68 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.87 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.00 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>); 5.28 (m, 1H).

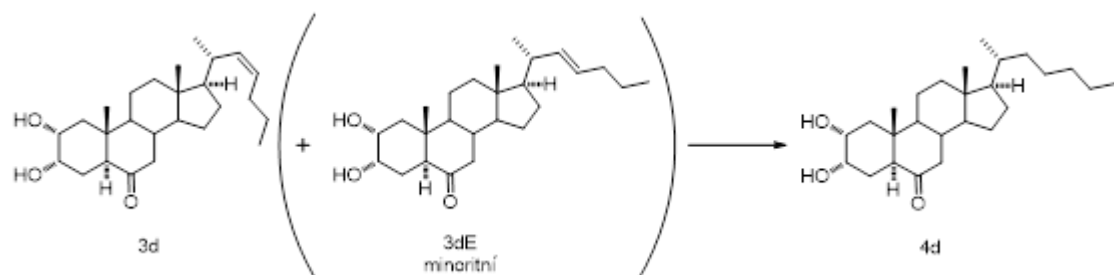
40



(22*Z*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -cholest-22-en-6-on (sloučenina 3d)

- 5 1M vodný roztok kyseliny chlorovodíkové (0.5 ml) byl přidán do roztoku sloučeniny 2d (20 mg; 0.041 mmol) v tetrahydrofuranu (4 ml) a reakce byla zahřívána na 40 °C 4 hodiny. Poté byla reakce zředěna ethyl-acetátem a vytřepána dvakrát vodou. Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za snížené tlaku a surový produkt bych čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 3d (díky přítomnosti minoritního E-izomeru 2dE ve výchozí sloučenině je v <sup>1</sup>H NMR pozorovatelný i izomer 3dE v množství 20 %).

Bílý prášek, chemický vzorec: C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>O<sub>3</sub>, výtěžek: 15 mg, 91 %. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.764 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.91 (t, 3H, J = 7.4 Hz, CH<sub>3</sub>); 0.97 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.92 (m, 1H); 1.96-2.07 (m, 4H); 2.29 (dd, 1H, J = 13.1 a 4.4 Hz); 2.44 (m, 1H); 2.69 (dd, 1H, J = 12.6 a 2.7 Hz); 3.78 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.05 (m, 1H, H-3 $\beta$ ); 5.11-5.24 (m, 2H, H-22, H-23). <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  12.29, 13.56, 13.91, 20.71, 21.16, 22.96, 23.90, 26.26, 27.91, 29.68, 34.14, 37.66, 39.28, 40.16, 42.60, 42.81, 46.74, 50.67, 53.74, 55.97, 56.69, 68.26, 68.35, 126.72, 136.33, 212.25. HRMS (API): *m/z* vypočteno pro C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 403.3212, nalezeno 403.3211. Vybrané <sup>1</sup>H NMR piky pro 22*E*-izomer (3bE):  $\delta$  0.67 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.758 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.87 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.01 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>); 5.30 (m, 1H).

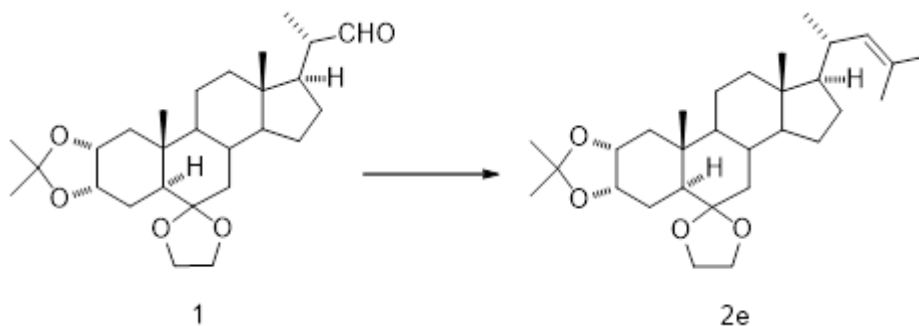


25 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on (sloučenina 4d)

- Palladium na uhlí (12 mg) bylo přidáno do roztoku sloučeniny 3d s minoritním izomerem 3dE (12 mg; 0.030 mmol) v tetrahydrofuranu (3 ml) a ethanolu (1 ml). Vzduch z reakční baňky byl evakuován a do reakce byl přidán vodík z balonku. Takto byla reakce míchána 18 hodin. Poté bylo palladium na uhlí odfiltrováno, rozpouštědla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 4d.

Bílý prášek, chemický vzorec: C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub>, výtěžek: 10 mg, 83 %. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.66 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.76 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.89 (t, 3H, J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>); 0.91 (d, 3H, J = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.92 (dd, 1H, J = 15.2 a 3.3 Hz); 1.96-2.07 (m, 2H); 2.30 (dd, 1H, J = 13.2 a 4.6 Hz); 2.68 (dd, 1H, J = 12.6 a 3.0 Hz); 3.77 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.05 (m, 1H, H-3 $\beta$ ). <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  11.98, 13.54, 14.13, 18.61, 21.17, 22.73, 23.93, 25.70, 26.26, 27.99, 30.28, 35.64, 35.77, 37.68, 39.37, 40.16, 42.59, 42.91, 46.78, 50.69, 53.70, 55.98, 56.65, 68.29, 68.38, 212.27. HRMS (API): *m/z* vypočteno pro C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>O<sub>2</sub> [(M-H<sub>2</sub>O)+H]<sup>+</sup> 387.3263, nalezeno 387.3260.

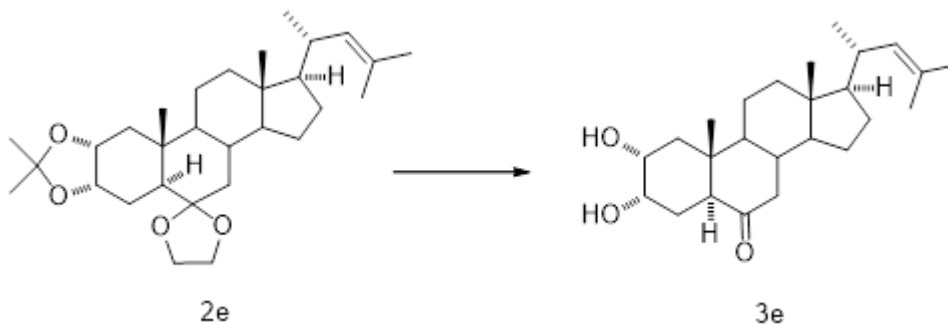
Příklad 5



2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -(Isopropylidendioxy)-6,6-(ethylenedioxy)-23-methyl-5 $\alpha$ -chol-22-en (compound 2e)

5 Do roztoku isopropyltrifenylfosfonium bromidu (52 mg; 0.135 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) byl přidán roztok n-butyllithia v hexanu (1.6 M; 85  $\mu$ l; 0.134 mmol). Reakce byla míchána při 0 °C po dobu 30 minut. Poté byl přidán roztok aldehydu 1 (30 mg; 0.067 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) a reakce byla pomalu ohřívána na laboratorní teplotu a míchána další 2 hodiny. Po ukončení reakce byla směs zředěna ethyl-acetátem a extrahována dvakrát vodou. Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (7% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 2e.

15 Bezbarvý olej, chemický vzorec: C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub>, výtěžek: 25 mg, 79 %. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.93 (d, 3H, J = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.48 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.60 (d, 3H, J = 0.9 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.64 (d, 3H, J = 0.7 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.91-1.99 (m, 2H); 2.15 (m, 1H); 2.31 (m, 1H); 3.74 (m, 1H, CH<sub>2</sub>O); 3.88-3.98 (m, 3H, CH<sub>2</sub>O); 4.10 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.27 (m, 1H, H-3 $\beta$ ); 4.89 (d, 1H, J = 9.6 Hz, H-22). <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  12.25, 13.38, 18.08, 20.63, 20.73, 21.96, 24.10, 25.75, 26.57, 27.93, 28.62, 32.86, 35.01, 38.01, 39.56, 41.04, 42.32, 42.71, 45.49, 53.03, 55.99, 56.67, 64.16, 65.48, 72.85, 72.97, 107.53, 109.70, 127.57, 131.90. HRMS (API): *m/z* vypočteno pro C<sub>30</sub>H<sub>49</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 473.3631, nalezeno 473.3629.



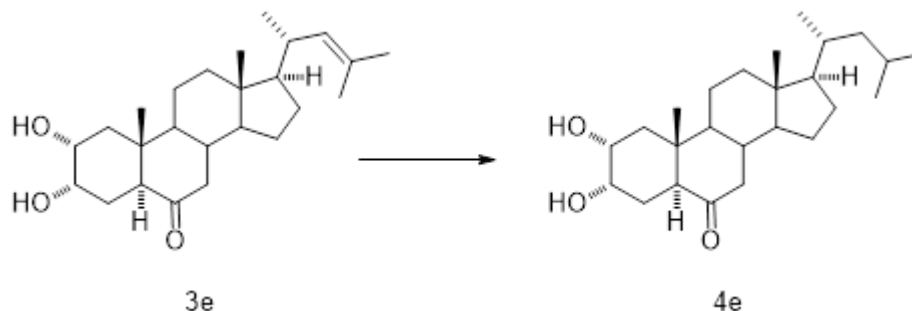
25 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-23-methyl-5 $\alpha$ -chol-22-en-6-on (sloučenina 3e)

30 1M vodný roztok kyseliny chlorovodíkové (0.5 ml) byl přidán do roztoku sloučeniny 2e (20 mg; 0.042 mmol) v tetrahydrofuranu (4 ml) a reakce byla zahřívána na 40 °C 4 hodiny. Poté byla reakce zředěna ethyl-acetátem a vytřepána dvakrát vodou. Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za snížené tlaku a surový produkt bych čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 3e.

35 Bílý prášek, chemický vzorec: C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>O<sub>3</sub>, výtěžek: 13 mg, 79 %. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.69 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 0.93 (d, 3H, J = 6.7 Hz, CH<sub>3</sub>); 1.59 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.65 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.87-2.04 (m, 4H); 2.20-2.36 (m, 3H); 2.68 (dd, 1H, J = 12.5 and 2.7 Hz); 3.77 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.04 (m, 1H, H-3 $\beta$ ); 4.88 (d, 1H, J = 9.6 Hz, H-22). <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  12.26, 13.55, 18.08,



20.62, 21.16, 23.85, 25.74, 27.76, 29.67, 34.92, 37.67, 39.27, 40.13, 42.61, 42.76, 46.75, 50.69, 53.74, 56.53, 56.70, 68.23, 68.33, 127.87, 131.57, 212.39. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{25}H_{41}O_3$   $[M+H]^+$  389.3056, nalezeno 389.3059.



5

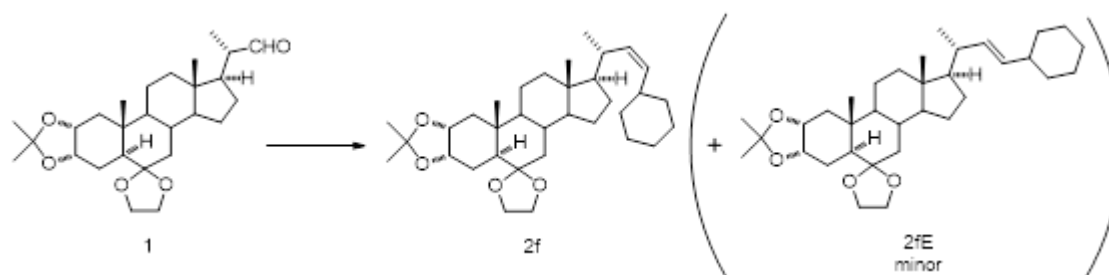
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -Dihydroxy-23-methyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on (sloučenina 4e)

Palladium na uhlí (12 mg) bylo přidáno do roztoku sloučeniny 3e (12 mg; 0.031 mmol) v tetrahydrofuranu (3 ml) a ethanolu (1 ml). Vzduch z reakční baňky byl evakuován a do reakce byl přidán vodík z balonku. Takto byla reakce míchána 48 hodin. Poté bylo palladium na uhlí odfiltrováno, rozpouštědla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 4e.

Bílý prášek, chemický vzorec:  $C_{25}H_{40}O_3$ , výtěžek: 11 mg, 91 %.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.68 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.76 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.81 (d, 3H,  $J = 6.4$  Hz,  $CH_3$ ); 0.87 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 0.89 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 1.84-1.93 (m, 2H); 2.00 (t, 1H,  $J = 2.7$  Hz); 2.07 (m, 1H); 2.30 (dd, 1H,  $J = 13.1$  and 4.6 Hz); 2.68 (bd, 1H,  $J = 12.2$  Hz); 3.80 (vbs, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.05 (bs, 1H, H-3 $\beta$ ).  $^{13}C$  NMR  $\delta$  12.01, 13.55, 18.53, 21.17, 21.32, 23.92, 24.54, 24.85, 28.25, 33.79, 37.66, 39.43, 40.15, 42.59, 43.00, 45.64, 46.76, 50.66, 53.69, 56.69, 56.95, 68.20, 68.29, 212.26. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{25}H_{41}O_3$   $[M+H]^+$  389.3056, nalezeno 389.3059.

20

Příklad 6



25

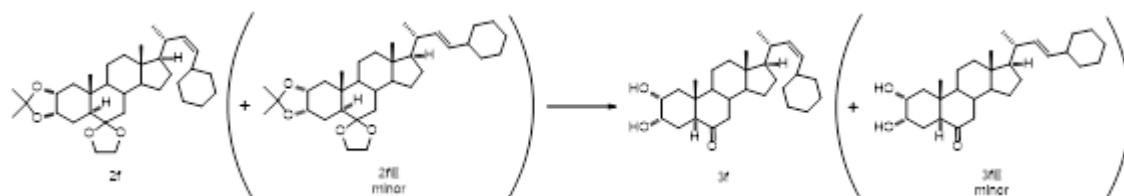
(2Z)-23-Cyklohexyl-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -(Isopropylidendioxy)-6,6-(ethylenedioxy)-24-nor-5 $\alpha$ -chol-22-en (sloučenina 2f)

Do roztoku (cyklohexyl)methyltrifenylfosfonium bromidu (59 mg; 0.134 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) byl přidán roztok n-butyllithia v hexanu (1.6 M; 85  $\mu$ l; 0.134 mmol). Reakce byla míchána při 0  $^{\circ}C$  po dobu 30 minut. Poté byl přidán roztok aldehydu 1 (30 mg; 0.067 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (3 ml) a reakce byla pomalu ohřívána na laboratorní teplotu a míchána další 2 hodiny. Po ukončení reakce byla směs zředěna ethyl-acetátem a extrahována dvakrát vodou. Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (7% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 2f převážně jako Z izomer (přibližně 5 % E izomeru (2fE) je pozorovatelné v  $^1H$  NMR).

35

Bezbarvý olej, chemický vzorec:  $C_{34}H_{54}O_4$ , výtěžek: 28 mg, 79 %.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.71 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.85 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.96 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz,  $CH_3$ ); 1.33 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.48 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.91-2.00 (m, 2H); 2.12-2.29 (m, 2H); 2.40 (m, 1H); 3.75 (m, 1H,  $CH_2O$ ); 3.89-3.98 (m, 3H,  $CH_2O$ ); 4.10 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.27 (m, 1H, H-3 $\beta$ ); 4.97-5.05 (m, 2H, H-22, H-23).  $^{13}C$  NMR  $\delta$  12.32, 13.41, 20.74, 21.27, 21.97, 24.16, 25.95, 26.06, 26.57, 26.87, 28.26, 28.62, 29.69, 32.87, 33.26, 33.71, 34.62, 36.57, 38.02, 39.60, 41.03, 42.37, 42.72, 45.50, 53.03, 56.01, 64.18, 65.49, 72.86, 72.97, 107.54, 109.70, 132.75, 134.59. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{34}H_{55}O_4$   $[M+H]^+$  527.4100, nalezeno 527.4098. Vybrané  $^1H$  NMR píky pro 22*E*-izomer (2fE):  $\delta$  0.67 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.84 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.00 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 5.35 (m, 1H).

10

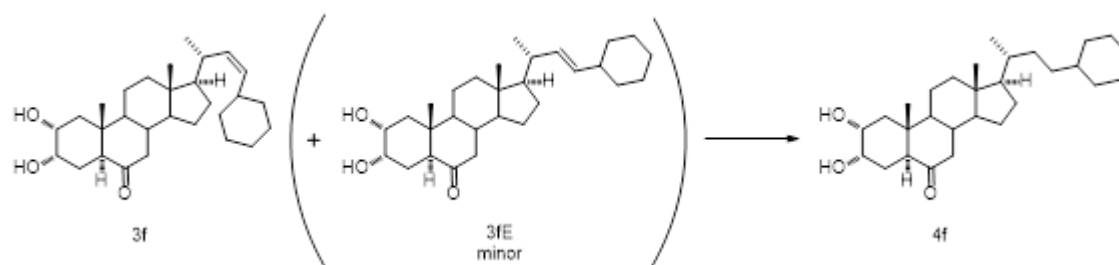


(22*Z*)-23-Cyklohexyl-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -chol-22-en-6-on (sloučenina 3f)

1M vodný roztok kyseliny chlorovodíkové (0.5 ml) byl přidán do roztoku sloučeniny 2f (20 mg; 0.038 mmol) v tetrahydrofuranu (4 ml) a reakce byla zahřívána na 40 °C 4 hodiny. Poté byla reakce zředěna ethyl-acetátem a vytřepána dvakrát vodou. Organická fáze byla vysušena chloridem vápenatým. Rozpouštědla byla odpařena za snížené tlaku a surový produkt bych čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 3f (díky přítomnosti minoritního E-izomeru 2fE ve výchozí sloučenině je v  $^1H$  NMR pozorovatelný i izomer 3fE v množství 5 %).

Bílý prášek, chemický vzorec:  $C_{29}H_{46}O_3$ , výtěžek: 12 mg, 71 %.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.71 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.76 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.98 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 1.91 (m, 1H); 1.96-2.07 (m, 3H); 2.22 (m, 1H), 2.28 (dd, 1H,  $J = 13.1$  and 4.5 Hz); 2.41 (m, 1H); 2.68 (dd, 1H,  $J = 12.7$  and 2.6 Hz); 3.78 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.05 (m, 1H, H-3 $\beta$ ); 4.98-5.05 (m, 2H, H-22, H-23).  $^{13}C$  NMR  $\delta$  12.31, 13.56, 21.16, 21.21, 23.91, 25.91, 26.02, 28.17, 29.67, 30.27, 33.22, 33.68, 34.59, 36.59, 37.66, 39.30, 40.15, 42.61, 42.79, 46.74, 50.69, 53.73, 55.85, 56.72, 68.25, 68.32, 132.98, 134.27, 212.30. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{29}H_{47}O_3$   $[M+H]^+$  443.3525, nalezeno 443.3522. Vybrané  $^1H$  NMR píky pro 22*E*-izomer (3fE):  $\delta$  0.67 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.75 (s, 3H,  $CH_3$ ); 1.00 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 5.35 (m, 1H).

30



23-Cyklohexyl-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on (sloučenina 4f)

Palladium na uhlí (12 mg) bylo přidáno do roztoku sloučeniny 3f s minoritním izomerem 3df (12 mg; 0.027 mmol) v tetrahydrofuranu (3 ml) a ethanolu (1 ml). Vzduch z reakční baňky byl evakuován a do reakce byl přidán vodík z balonku. Takto byla reakce míchána 18 hodin. Poté bylo palladium na uhlí odfiltrováno, rozpouštědla odpařena za sníženého tlaku a surový produkt čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (60% ethyl-acetát v cyklohexanu). Byla získána sloučenina 4f.

40

Bílý prášek, chemický vzorec:  $C_{29}H_{48}O_3$ , výtěžek: 11 mg, 91 %.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$ , ppm:  $\delta$  0.66 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.76 (s, 3H,  $CH_3$ ); 0.91 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_3$ ); 1.91 (m 1H); 1.97-2.07 (m, 2H); 2.30 (dd, 1H,  $J = 13.1$  and 4.6 Hz); 2.68 (bd, 1H,  $J = 12.4$  Hz); 3.79 (m, 1H, H-2 $\beta$ ); 4.06 (m, 1H, H-3 $\beta$ ).

- 5  $^{13}C$  NMR  $\delta$  11.99, 13.55, 18.65, 21.18, 23.94, 25.59, 26.42, 26.47, 26.77, 27.97, 32.92, 33.19, 33.71, 33.88, 35.80, 37.68, 38.06, 39.37, 40.16, 42.59, 42.91, 46.78, 50.68, 53.72, 55.89, 56.64, 68.27, 68.36, 212.22. HRMS (API):  $m/z$  vypočteno pro  $C_{29}H_{49}O_3$   $[M+H]^+$  445.3682, nalezeno 445.3680.

- 10 Tabulka 1. Sterolové deriváty vzorce I připravené analogicky na základě výše uvedených postupů

|    | substituenty |    |        |        |            | CH analýza                    | MS analýza |
|----|--------------|----|--------|--------|------------|-------------------------------|------------|
|    | R1           | R2 | R3     | R4     | a          | [%C, %H]<br>[vypoč./nalezeno] | $[M+H]^+$  |
| 1  | H            | OH | H      | H      | dvojná     | 80.18/80.16, 10.53/10.54      | 345        |
| 2  | OH           | H  | H      | H      | dvojná     | 80.18/80.16, 10.53/10.55      | 345        |
| 3  | OH           | OH | H      | H      | dvojná     | 76.62/76.60, 10.06/10.09      | 361        |
| 4  | H            | OH | H      | H      | jednoduchá | 79.71/79.68, 11.05/11.08      | 347        |
| 5  | OH           | H  | H      | H      | jednoduchá | 79.71/79.69, 11.05/11.06      | 347        |
| 6  | OH           | OH | H      | H      | jednoduchá | 76.20/76.18, 10.56/10.59      | 363        |
| 7  | H            | OH | methyl | H      | dvojná     | 80.39/80.38, 10.68/10.70      | 359        |
| 8  | OH           | H  | methyl | H      | dvojná     | 80.39/80.38, 10.68/10.72      | 359        |
| 9  | OH           | OH | methyl | H      | dvojná     | 76.96/76.94, 10.23/10.25      | 375        |
| 10 | H            | OH | H      | methyl | dvojná     | 80.39/80.40, 10.68/10.70      | 359        |
| 11 | OH           | H  | H      | methyl | dvojná     | 80.39/80.39, 10.68/10.71      | 359        |
| 12 | OH           | OH | H      | methyl | dvojná     | 76.96/76.93, 10.23/10.27      | 375        |
| 13 | H            | OH | methyl | H      | jednoduchá | 79.94/79.91, 11.18/11.21      | 361        |
| 14 | OH           | H  | methyl | H      | jednoduchá | 79.94/79.93, 11.18/11.20      | 361        |
| 15 | OH           | OH | methyl | H      | jednoduchá | 76.55/76.51, 10.71/10.74      | 377        |
| 16 | H            | OH | methyl | methyl | dvojná     | 80.59/80.56, 10.82/10.85      | 373        |
| 17 | OH           | H  | methyl | methyl | dvojná     | 80.59/80.58, 10.82/10.83      | 373        |
| 18 | OH           | OH | methyl | methyl | dvojná     | 77.27/77.25, 10.38/10.40      | 389        |
| 19 | H            | OH | methyl | methyl | jednoduchá | 80.16/80.14, 11.30/11.33      | 375        |
| 20 | OH           | H  | methyl | methyl | jednoduchá | 80.16/80.13, 11.30/11.33      | 375        |
| 21 | OH           | OH | methyl | methyl | jednoduchá | 76.87/76.85, 10.84/10.88      | 391        |
| 22 | H            | OH | ethyl  | H      | dvojná     | 80.59/80.57, 10.82/10.85      | 373        |
| 23 | OH           | H  | ethyl  | H      | dvojná     | 80.59/80.56, 10.82/10.86      | 373        |
| 24 | OH           | OH | ethyl  | H      | dvojná     | 77.27/77.25, 10.38/10.40      | 389        |
| 25 | H            | OH | H      | ethyl  | dvojná     | 80.59/80.57, 10.82/10.84      | 373        |
| 26 | OH           | H  | H      | ethyl  | dvojná     | 80.59/80.58, 10.82/10.83      | 373        |
| 27 | OH           | OH | H      | ethyl  | dvojná     | 77.27/77.26, 10.38/10.40      | 389        |
| 28 | H            | OH | ethyl  | H      | jednoduchá | 80.16/80.14, 11.30/11.33      | 375        |
| 29 | OH           | H  | ethyl  | H      | jednoduchá | 80.16/80.15, 11.30/11.34      | 375        |
| 30 | OH           | OH | ethyl  | H      | jednoduchá | 76.87/76.85, 10.84/10.86      | 391        |

|    |    |    |           |              |            |                          |     |
|----|----|----|-----------|--------------|------------|--------------------------|-----|
| 31 | H  | OH | ethyl     | ethyl        | dvojná     | 80.94/80.91, 11.07/11.10 | 401 |
| 32 | OH | H  | ethyl     | ethyl        | dvojná     | 80.94/80.92, 11.07/11.08 | 401 |
| 33 | OH | OH | ethyl     | ethyl        | dvojná     | 77.83/77.81, 10.64/10.66 | 417 |
| 34 | H  | OH | ethyl     | ethyl        | jednoduchá | 80.54/80.53, 11.51/11.52 | 403 |
| 35 | OH | H  | ethyl     | ethyl        | jednoduchá | 80.54/80.52, 11.51/11.51 | 403 |
| 36 | OH | OH | ethyl     | ethyl        | jednoduchá | 77.46/77.44, 11.07/11.09 | 419 |
| 37 | H  | OH | methyl    | ethyl        | dvojná     | 80.77/80.72, 10.95/11.01 | 387 |
| 38 | OH | H  | methyl    | ethyl        | dvojná     | 80.77/80.73, 10.95/11.00 | 387 |
| 39 | OH | OH | methyl    | ethyl        | dvojná     | 77.56/77.52, 10.51/10.55 | 403 |
| 40 | H  | OH | ethyl     | methyl       | dvojná     | 80.77/80.74, 10.95/10.99 | 387 |
| 41 | OH | H  | ethyl     | methyl       | dvojná     | 80.77/80.73, 10.95/11.01 | 387 |
| 42 | OH | OH | ethyl     | methyl       | dvojná     | 77.56/77.51, 10.51/10.55 | 403 |
| 43 | H  | OH | ethyl     | (23R)-methyl | jednoduchá | 80.35/80.31, 11.41/11.46 | 389 |
| 44 | OH | H  | ethyl     | (23R)-methyl | jednoduchá | 80.35/80.30, 11.41/11.46 | 389 |
| 45 | OH | OH | ethyl     | (23R)-methyl | jednoduchá | 77.18/77.15, 10.96/10.99 | 405 |
| 46 | H  | OH | ethyl     | (23S)-methyl | jednoduchá | 80.35/80.30, 11.41/11.47 | 389 |
| 47 | OH | H  | ethyl     | (23S)-methyl | jednoduchá | 80.35/80.30, 11.41/11.47 | 389 |
| 48 | OH | OH | ethyl     | (23S)-methyl | jednoduchá | 77.18/77.14, 10.96/11.01 | 405 |
| 49 | H  | OH | n-propyl  | H            | dvojná     | 80.77/80.76, 10.95/10.98 | 387 |
| 50 | OH | H  | n-propyl  | H            | dvojná     | 80.77/80.76, 10.95/10.99 | 387 |
| 51 | OH | OH | n-propyl  | H            | dvojná     | 77.56/77.54, 10.51/10.53 | 403 |
| 52 | H  | OH | H         | n-propyl     | dvojná     | 80.77/80.75, 10.95/10.97 | 387 |
| 53 | OH | H  | H         | n-propyl     | dvojná     | 80.77/80.76, 10.95/10.98 | 387 |
| 54 | OH | OH | H         | n-propyl     | dvojná     | 77.56/77.53, 10.51/10.54 | 403 |
| 55 | H  | OH | n-propyl  | H            | jednoduchá | 80.35/80.31, 11.41/11.45 | 389 |
| 56 | OH | H  | n-propyl  | H            | jednoduchá | 80.35/80.32, 11.41/11.43 | 389 |
| 57 | OH | OH | n-propyl  | H            | jednoduchá | 77.18/77.16, 10.96/11.00 | 405 |
| 58 | H  | OH | isopropyl | H            | dvojná     | 80.77/80.75, 10.95/10.98 | 387 |
| 59 | OH | H  | isopropyl | H            | dvojná     | 80.77/80.78, 10.95/10.99 | 387 |
| 60 | OH | OH | isopropyl | H            | dvojná     | 77.56/77.53, 10.51/10.53 | 403 |
| 61 | H  | OH | H         | isopropyl    | dvojná     | 80.77/80.76, 10.95/10.98 | 387 |
| 62 | OH | H  | H         | isopropyl    | dvojná     | 80.77/80.74, 10.95/10.99 | 387 |
| 63 | OH | OH | H         | isopropyl    | dvojná     | 77.56/77.53, 10.51/10.55 | 403 |
| 64 | H  | OH | isopropyl | H            | jednoduchá | 80.35/80.33, 11.41/11.43 | 389 |
| 65 | OH | H  | isopropyl | H            | jednoduchá | 80.35/80.33, 11.41/11.45 | 389 |
| 66 | OH | OH | isopropyl | H            | jednoduchá | 77.18/77.15, 10.96/10.99 | 405 |
| 67 | H  | OH | n-butyl   | H            | dvojná     | 80.94/80.92, 11.07/11.09 | 401 |
| 68 | OH | H  | n-butyl   | H            | dvojná     | 80.94/80.93, 11.07/11.10 | 401 |
| 69 | OH | OH | n-butyl   | H            | dvojná     | 77.83/77.80, 10.64/10.67 | 417 |
| 70 | H  | OH | H         | n-butyl      | dvojná     | 80.94/80.92, 11.07/11.08 | 401 |
| 71 | OH | H  | H         | n-butyl      | dvojná     | 80.94/80.91, 11.07/11.11 | 401 |

|     |    |    |                    |                    |            |                          |     |
|-----|----|----|--------------------|--------------------|------------|--------------------------|-----|
| 72  | OH | OH | H                  | n-butyl            | dvojná     | 77.83/77.81, 10.64/10.66 | 417 |
| 73  | H  | OH | n-butyl            | H                  | jednoduchá | 80.54/80.52, 11.51/11.54 | 403 |
| 74  | OH | H  | n-butyl            | H                  | jednoduchá | 80.54/80.53, 11.51/11.52 | 403 |
| 75  | OH | OH | n-butyl            | H                  | jednoduchá | 77.46/77.44, 11.07/11.09 | 419 |
| 76  | H  | OH | (R)-but-2-yl       | H                  | dvojná     | 80.94/80.92, 11.07/11.10 | 401 |
| 77  | OH | H  | (R)-but-2-yl       | H                  | dvojná     | 80.94/80.91, 11.07/11.11 | 401 |
| 78  | OH | OH | (R)-but-2-yl       | H                  | dvojná     | 77.83/77.82, 10.64/10.65 | 417 |
| 79  | H  | OH | H                  | (R)-but-2-yl       | dvojná     | 80.94/80.91, 11.07/11.09 | 401 |
| 80  | OH | H  | H                  | (R)-but-2-yl       | dvojná     | 80.94/80.91, 11.07/11.10 | 401 |
| 81  | OH | OH | H                  | (R)-but-2-yl       | dvojná     | 77.83/77.81, 10.64/10.65 | 417 |
| 82  | H  | OH | (R)-but-2-yl       | H                  | jednoduchá | 80.54/80.53, 11.51/11.52 | 403 |
| 83  | OH | H  | (R)-but-2-yl       | H                  | jednoduchá | 80.54/80.51, 11.51/11.55 | 403 |
| 84  | OH | OH | (R)-but-2-yl       | H                  | jednoduchá | 77.46/77.45, 11.07/11.08 | 419 |
| 85  | H  | OH | (S)-but-2-yl       | H                  | dvojná     | 80.94/80.92, 11.07/11.08 | 401 |
| 86  | OH | H  | (S)-but-2-yl       | H                  | dvojná     | 80.94/80.93, 11.07/11.09 | 401 |
| 87  | OH | OH | (S)-but-2-yl       | H                  | dvojná     | 77.83/77.80, 10.64/10.68 | 417 |
| 88  | H  | OH | H                  | (S)-but-2-yl       | dvojná     | 80.94/80.93, 11.07/11.10 | 401 |
| 89  | OH | H  | H                  | (S)-but-2-yl       | dvojná     | 80.94/80.91, 11.07/11.11 | 401 |
| 90  | OH | OH | H                  | (S)-but-2-yl       | dvojná     | 77.83/77.81, 10.64/10.67 | 417 |
| 91  | H  | OH | (S)-but-2-yl       | H                  | jednoduchá | 80.54/80.52, 11.51/11.53 | 403 |
| 92  | OH | H  | (S)-but-2-yl       | H                  | jednoduchá | 80.54/80.52, 11.51/11.54 | 403 |
| 93  | OH | OH | (S)-but-2-yl       | H                  | jednoduchá | 77.46/77.45, 11.07/11.09 | 419 |
| 94  | H  | OH | <i>terc</i> -butyl | H                  | dvojná     | 80.94/80.93, 11.07/11.08 | 401 |
| 95  | OH | H  | <i>terc</i> -butyl | H                  | dvojná     | 80.94/80.92, 11.07/11.09 | 401 |
| 96  | OH | OH | <i>terc</i> -butyl | H                  | dvojná     | 77.83/77.81, 10.64/10.66 | 417 |
| 97  | H  | OH | H                  | <i>terc</i> -butyl | dvojná     | 80.94/80.91, 11.07/11.11 | 401 |
| 98  | OH | H  | H                  | <i>terc</i> -butyl | dvojná     | 80.94/80.92, 11.07/11.10 | 401 |
| 99  | OH | OH | H                  | <i>terc</i> -butyl | dvojná     | 77.83/77.82, 10.64/10.65 | 417 |
| 100 | H  | OH | <i>terc</i> -butyl | H                  | jednoduchá | 80.54/80.52, 11.51/11.54 | 403 |
| 101 | OH | H  | <i>terc</i> -butyl | H                  | jednoduchá | 80.54/80.53, 11.51/11.54 | 403 |
| 102 | OH | OH | <i>terc</i> -butyl | H                  | jednoduchá | 77.46/77.45, 11.07/11.08 | 419 |
| 103 | H  | OH | isobutyl           | H                  | dvojná     | 80.94/80.92, 11.07/11.11 | 401 |
| 104 | OH | H  | isobutyl           | H                  | dvojná     | 80.94/80.91, 11.07/11.11 | 401 |
| 105 | OH | OH | isobutyl           | H                  | dvojná     | 77.83/77.82, 10.64/10.65 | 417 |
| 106 | H  | OH | H                  | isobutyl           | dvojná     | 80.94/80.93, 11.07/11.08 | 401 |
| 107 | OH | H  | H                  | isobutyl           | dvojná     | 80.94/80.91, 11.07/11.09 | 401 |
| 108 | OH | OH | H                  | isobutyl           | dvojná     | 77.83/77.81, 10.64/10.67 | 417 |
| 109 | H  | OH | isobutyl           | H                  | jednoduchá | 80.54/80.51, 11.51/11.55 | 403 |
| 110 | OH | H  | isobutyl           | H                  | jednoduchá | 80.54/80.53, 11.51/11.53 | 403 |
| 111 | OH | OH | isobutyl           | H                  | jednoduchá | 77.46/77.44, 11.07/11.10 | 419 |
| 112 | H  | OH | n-pentyl           | H                  | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.20 | 415 |

|     |    |    |                      |                      |            |                          |     |
|-----|----|----|----------------------|----------------------|------------|--------------------------|-----|
| 113 | OH | H  | n-pentyl             | H                    | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.20 | 415 |
| 114 | OH | OH | n-pentyl             | H                    | dvojná     | 78.09/78.06, 10.77/10.79 | 431 |
| 115 | H  | OH | H                    | n-pentyl             | dvojná     | 81.10/81.06, 11.18/11.21 | 415 |
| 116 | OH | H  | H                    | n-pentyl             | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.19 | 415 |
| 117 | OH | OH | H                    | n-pentyl             | dvojná     | 78.09/78.06, 10.77/10.80 | 431 |
| 118 | H  | OH | n-pentyl             | H                    | jednoduchá | 80.71/80.68, 11.61/11.65 | 417 |
| 119 | OH | H  | n-pentyl             | H                    | jednoduchá | 80.71/80.67, 11.61/11.66 | 417 |
| 120 | OH | OH | n-pentyl             | H                    | jednoduchá | 77.72/77.70, 11.18/11.21 | 433 |
| 121 | H  | OH | 3-methylbut-1-yl     | H                    | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.20 | 415 |
| 122 | OH | H  | 3-methylbut-1-yl     | H                    | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.19 | 415 |
| 123 | OH | OH | 3-methylbut-1-yl     | H                    | dvojná     | 78.09/78.08, 10.77/10.78 | 431 |
| 124 | H  | OH | H                    | 3-methylbut-1-yl     | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.19 | 415 |
| 125 | OH | H  | H                    | 3-methylbut-1-yl     | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.20 | 415 |
| 126 | OH | OH | H                    | 3-methylbut-1-yl     | dvojná     | 78.09/78.08, 10.77/10.78 | 431 |
| 127 | H  | OH | 3-methylbut-1-yl     | H                    | jednoduchá | 80.71/80.69, 11.61/11.64 | 417 |
| 128 | OH | H  | 3-methylbut-1-yl     | H                    | jednoduchá | 80.71/80.68, 11.61/11.65 | 417 |
| 129 | OH | OH | 3-methylbut-1-yl     | H                    | jednoduchá | 77.72/77.70, 11.18/11.20 | 433 |
| 130 | H  | OH | (R)-2-methylbut-1-yl | H                    | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.20 | 415 |
| 131 | OH | H  | (R)-2-methylbut-1-yl | H                    | dvojná     | 81.10/81.09, 11.18/11.19 | 415 |
| 132 | OH | OH | (R)-2-methylbut-1-yl | H                    | dvojná     | 78.09/78.07, 10.77/10.79 | 431 |
| 133 | H  | OH | H                    | (R)-2-methylbut-1-yl | dvojná     | 81.10/81.06, 11.18/11.22 | 415 |
| 134 | OH | H  | H                    | (R)-2-methylbut-1-yl | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.21 | 415 |
| 135 | OH | OH | H                    | (R)-2-methylbut-1-yl | dvojná     | 78.09/78.08, 10.77/10.78 | 431 |
| 136 | H  | OH | (R)-2-methylbut-1-yl | H                    | jednoduchá | 80.71/80.68, 11.61/11.64 | 417 |
| 137 | OH | H  | (R)-2-methylbut-1-yl | H                    | jednoduchá | 80.71/80.69, 11.61/11.63 | 417 |
| 138 | OH | OH | (R)-2-methylbut-1-yl | H                    | jednoduchá | 77.72/77.69, 11.18/11.21 | 433 |

|     |    |    |                       |                       |            |                          |     |
|-----|----|----|-----------------------|-----------------------|------------|--------------------------|-----|
| 139 | H  | OH | (S)-2-methyl-but-1-yl | H                     | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.19 | 415 |
| 140 | OH | H  | (S)-2-methyl-but-1-yl | H                     | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.20 | 415 |
| 141 | OH | OH | (S)-2-methyl-but-1-yl | H                     | dvojná     | 78.09/78.07, 10.77/10.79 | 431 |
| 142 | H  | OH | H                     | (S)-2-methylbut-1-yl  | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.21 | 415 |
| 143 | OH | H  | H                     | (S)-2-methylbut-1-yl  | dvojná     | 81.10/81.09, 11.18/11.20 | 415 |
| 144 | OH | OH | H                     | (S)-2-methylbut-1-yl  | dvojná     | 78.09/78.08, 10.77/10.78 | 431 |
| 145 | H  | OH | (S)-2-methyl-but-1-yl | H                     | jednoduchá | 80.71/80.68, 11.61/11.64 | 417 |
| 146 | OH | H  | (S)-2-methyl-but-1-yl | H                     | jednoduchá | 80.71/80.68, 11.61/11.63 | 417 |
| 147 | OH | OH | (S)-2-methyl-but-1-yl | H                     | jednoduchá | 77.72/77.69, 11.18/11.22 | 433 |
| 148 | H  | OH | (R)-3-methyl-but-2-yl | H                     | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.19 | 415 |
| 149 | OH | H  | (R)-3-methyl-but-2-yl | H                     | dvojná     | 81.10/81.09, 11.18/11.19 | 415 |
| 150 | OH | OH | (R)-3-methyl-but-2-yl | H                     | dvojná     | 78.09/78.06, 10.77/10.79 | 431 |
| 151 | H  | OH | H                     | (R)-3-methyl-but-2-yl | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.19 | 415 |
| 152 | OH | H  | H                     | (R)-3-methyl-but-2-yl | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.21 | 415 |
| 153 | OH | OH | H                     | (R)-3-methyl-but-2-yl | dvojná     | 78.09/78.07, 10.77/10.79 | 431 |
| 154 | H  | OH | (R)-3-methyl-but-2-yl | H                     | jednoduchá | 80.71/80.67, 11.61/11.65 | 417 |
| 155 | OH | H  | (R)-3-methyl-but-2-yl | H                     | jednoduchá | 80.71/80.68, 11.61/11.64 | 417 |
| 156 | OH | OH | (R)-3-methyl-but-2-yl | H                     | jednoduchá | 77.72/77.70, 11.18/11.20 | 433 |
| 157 | H  | OH | (S)-3-methyl-but-2-yl | H                     | dvojná     | 81.10/81.09, 11.18/11.19 | 415 |

|     |    |    |                       |                       |            |                          |     |
|-----|----|----|-----------------------|-----------------------|------------|--------------------------|-----|
| 158 | OH | H  | (S)-3-methyl-but-2-yl | H                     | dvojná     | 81.10/81.09, 11.18/11.20 | 415 |
| 159 | OH | OH | (S)-3-methyl-but-2-yl | H                     | dvojná     | 78.09/78.05, 10.77/10.80 | 431 |
| 160 | H  | OH | H                     | (S)-3-methyl-but-2-yl | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.20 | 415 |
| 161 | OH | H  | H                     | (S)-3-methyl-but-2-yl | dvojná     | 81.10/81.09, 11.18/11.21 | 415 |
| 162 | OH | OH | H                     | (S)-3-methyl-but-2-yl | dvojná     | 78.09/78.06, 10.77/10.80 | 431 |
| 163 | H  | OH | (S)-3-methyl-but-2-yl | H                     | jednoduchá | 80.71/80.69, 11.61/11.64 | 417 |
| 164 | OH | H  | (S)-3-methyl-but-2-yl | H                     | jednoduchá | 80.71/80.70, 11.61/11.63 | 417 |
| 165 | OH | OH | (S)-3-methyl-but-2-yl | H                     | jednoduchá | 77.72/77.69, 11.18/11.23 | 433 |
| 166 | H  | OH | (R)-pent-2-yl         | H                     | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.20 | 415 |
| 167 | OH | H  | (R)-pent-2-yl         | H                     | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.20 | 415 |
| 168 | OH | OH | (R)-pent-2-yl         | H                     | dvojná     | 78.09/78.07, 10.77/10.78 | 431 |
| 169 | H  | OH | H                     | (R)-pent-2-yl         | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.20 | 415 |
| 170 | OH | H  | H                     | (R)-pent-2-yl         | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.21 | 415 |
| 171 | OH | OH | H                     | (R)-pent-2-yl         | dvojná     | 78.09/78.05, 10.77/10.80 | 431 |
| 172 | H  | OH | (R)-pent-2-yl         | H                     | jednoduchá | 80.71/80.69, 11.61/11.64 | 417 |
| 173 | OH | H  | (R)-pent-2-yl         | H                     | jednoduchá | 80.71/80.68, 11.61/11.64 | 417 |
| 174 | OH | OH | (R)-pent-2-yl         | H                     | jednoduchá | 77.72/77.70, 11.18/11.22 | 433 |
| 175 | H  | OH | (S)-pent-2-yl         | H                     | dvojná     | 81.10/81.06, 11.18/11.22 | 415 |
| 176 | OH | H  | (S)-pent-2-yl         | H                     | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.21 | 415 |
| 177 | OH | OH | (S)-pent-2-yl         | H                     | dvojná     | 78.09/78.06, 10.77/10.80 | 431 |
| 178 | H  | OH | H                     | (S)-pent-2-yl         | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.21 | 415 |
| 179 | OH | H  | H                     | (S)-pent-2-yl         | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.20 | 415 |
| 180 | OH | OH | H                     | (S)-pent-2-yl         | dvojná     | 78.09/78.07, 10.77/10.78 | 431 |
| 181 | H  | OH | (S)-pent-2-yl         | H                     | jednoduchá | 80.71/80.69, 11.61/11.65 | 417 |
| 182 | OH | H  | (S)-pent-2-yl         | H                     | jednoduchá | 80.71/80.67, 11.61/11.66 | 417 |
| 183 | OH | OH | (S)-pent-2-yl         | H                     | jednoduchá | 77.72/77.68, 11.18/11.23 | 433 |
| 184 | H  | OH | pent-3-yl             | H                     | dvojná     | 81.10/81.06, 11.18/11.22 | 415 |
| 185 | OH | H  | pent-3-yl             | H                     | dvojná     | 81.10/81.07, 11.18/11.21 | 415 |
| 186 | OH | OH | pent-3-yl             | H                     | dvojná     | 78.09/78.05, 10.77/10.79 | 431 |
| 187 | H  | OH | H                     | pent-3-yl             | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.19 | 415 |



|     |    |    |               |             |            |                          |     |
|-----|----|----|---------------|-------------|------------|--------------------------|-----|
| 188 | OH | H  | H             | pent-3-yl   | dvojná     | 81.10/81.08, 11.18/11.20 | 415 |
| 189 | OH | OH | H             | pent-3-yl   | dvojná     | 78.09/78.07, 10.77/10.80 | 431 |
| 190 | H  | OH | pent-3-yl     | H           | jednoduchá | 80.71/80.67, 11.61/11.66 | 417 |
| 191 | OH | H  | pent-3-yl     | H           | jednoduchá | 80.71/80.67, 11.61/11.65 | 417 |
| 192 | OH | OH | pent-3-yl     | H           | jednoduchá | 77.72/77.70, 11.18/11.22 | 433 |
| 193 | H  | OH | 1,2-ethylen   |             | dvojná     | 81.03/81.05, 10.34/10.38 | 371 |
| 194 | OH | H  | 1,2-ethylen   |             | dvojná     | 81.03/81.07, 10.34/10.35 | 371 |
| 195 | OH | OH | 1,2-ethylen   |             | dvojná     | 77.68/77.65, 9.91/9.96   | 387 |
| 196 | H  | OH | 1,2-ethylen   |             | jednoduchá | 80.59/80.55, 10.82/10.83 | 373 |
| 197 | OH | H  | 1,2-ethylen   |             | jednoduchá | 80.59/80.54, 10.82/10.79 | 373 |
| 198 | OH | OH | 1,2-ethylen   |             | jednoduchá | 77.27/77.30, 10.38/10.40 | 389 |
| 199 | H  | OH | trimethylen   |             | dvojná     | 81.20/81.18, 10.48/10.50 | 385 |
| 200 | OH | H  | trimethylen   |             | dvojná     | 81.20/81.17, 10.48/10.52 | 385 |
| 201 | OH | OH | trimethylen   |             | dvojná     | 77.95/77.91, 10.06/10.10 | 401 |
| 202 | H  | OH | trimethylen   |             | jednoduchá | 80.77/80.74, 10.95/10.96 | 387 |
| 203 | OH | H  | trimethylen   |             | jednoduchá | 80.77/80.75, 10.95/10.98 | 387 |
| 204 | OH | OH | trimethylen   |             | jednoduchá | 77.56/77.52, 10.51/10.53 | 403 |
| 205 | H  | OH | tetramethylen |             | dvojná     | 81.35/81.31, 10.62/10.63 | 399 |
| 206 | OH | H  | tetramethylen |             | dvojná     | 81.35/81.33, 10.62/10.63 | 399 |
| 207 | OH | OH | tetramethylen |             | dvojná     | 78.21/78.18, 10.21/10.25 | 415 |
| 208 | H  | OH | tetramethylen |             | jednoduchá | 80.94/80.92, 11.07/11.10 | 401 |
| 209 | OH | H  | tetramethylen |             | jednoduchá | 80.94/80.93, 11.07/11.09 | 401 |
| 210 | OH | OH | tetramethylen |             | jednoduchá | 77.83/77.81, 10.64/10.66 | 417 |
| 211 | H  | OH | pentamethylen |             | dvojná     | 81.50/81.47, 10.75/10.77 | 413 |
| 212 | OH | H  | pentamethylen |             | dvojná     | 81.50/81.49, 10.75/10.76 | 413 |
| 213 | OH | OH | pentamethylen |             | dvojná     | 78.46/78.44, 10.35/10.38 | 429 |
| 214 | H  | OH | pentamethylen |             | jednoduchá | 81.10/81.08, 11.18/11.20 | 415 |
| 215 | OH | H  | pentamethylen |             | jednoduchá | 81.10/81.06, 11.18/11.22 | 415 |
| 216 | OH | OH | pentamethylen |             | jednoduchá | 78.09/78.05, 10.77/10.79 | 431 |
| 217 | H  | OH | cyklopropyl   | H           | dvojná     | 81.20/81.18, 10.48/10.52 | 385 |
| 218 | OH | H  | cyklopropyl   | H           | dvojná     | 81.20/81.17, 10.48/10.52 | 385 |
| 219 | OH | OH | cyklopropyl   | H           | dvojná     | 77.95/77.90, 10.06/10.09 | 401 |
| 220 | H  | OH | H             | cyklopropyl | dvojná     | 81.20/81.17, 10.48/10.54 | 385 |
| 221 | OH | H  | H             | cyklopropyl | dvojná     | 81.20/81.18, 10.48/10.54 | 385 |
| 222 | OH | OH | H             | cyklopropyl | dvojná     | 77.95/77.91, 10.06/10.09 | 401 |
| 223 | H  | OH | cyklopropyl   | H           | jednoduchá | 80.77/80.74, 10.95/11.00 | 387 |
| 224 | OH | H  | cyklopropyl   | H           | jednoduchá | 80.77/80.73, 10.95/11.02 | 387 |
| 225 | OH | OH | cyklopropyl   | H           | jednoduchá | 77.56/77.51, 10.51/10.56 | 403 |
| 226 | H  | OH | cyklobutyl    | H           | dvojná     | 81.35/81.29, 10.62/10.66 | 399 |
| 227 | OH | H  | cyklobutyl    | H           | dvojná     | 81.35/81.31, 10.62/10.65 | 399 |
| 228 | OH | OH | cyklobutyl    | H           | dvojná     | 78.21/78.17, 10.21/10.26 | 415 |

|     |    |    |             |             |            |                          |     |
|-----|----|----|-------------|-------------|------------|--------------------------|-----|
| 229 | H  | OH | H           | cyklobutyl  | dvojná     | 81.35/81.29, 10.62/10.67 | 399 |
| 230 | OH | H  | H           | cyklobutyl  | dvojná     | 81.35/81.28, 10.62/10.67 | 399 |
| 231 | OH | OH | H           | cyklobutyl  | dvojná     | 78.21/78.18, 10.21/10.24 | 415 |
| 232 | H  | OH | cyklobutyl  | H           | jednoduchá | 80.94/80.92, 11.07/11.10 | 401 |
| 233 | OH | H  | cyklobutyl  | H           | jednoduchá | 80.94/80.90, 11.07/11.11 | 401 |
| 234 | OH | OH | cyklobutyl  | H           | jednoduchá | 77.83/77.80, 10.64/10.67 | 417 |
| 235 | H  | OH | cyklopentyl | H           | dvojná     | 81.50/81.45, 10.75/10.79 | 413 |
| 236 | OH | H  | cyklopentyl | H           | dvojná     | 81.50/81.46, 10.75/10.79 | 413 |
| 237 | OH | OH | cyklopentyl | H           | dvojná     | 78.46/78.41, 10.35/10.40 | 429 |
| 238 | H  | OH | H           | cyklopentyl | dvojná     | 81.50/81.44, 10.75/10.80 | 413 |
| 239 | OH | H  | H           | cyklopentyl | dvojná     | 81.50/81.44, 10.75/10.79 | 413 |
| 240 | OH | OH | H           | cyklopentyl | dvojná     | 78.46/78.43, 10.35/10.38 | 429 |
| 241 | H  | OH | cyklopentyl | H           | jednoduchá | 81.10/81.04, 11.18/11.23 | 415 |
| 242 | OH | H  | cyklopentyl | H           | jednoduchá | 81.10/81.06, 11.18/11.21 | 415 |
| 243 | OH | OH | cyklopentyl | H           | jednoduchá | 78.09/78.06, 10.77/10.81 | 431 |
| 244 | H  | OH | cyklohexyl  | H           | dvojná     | 81.63/81.59, 10.87/10.91 | 427 |
| 245 | OH | H  | cyklohexyl  | H           | dvojná     | 81.63/81.58, 10.87/10.92 | 427 |
| 246 | OH | OH | cyklohexyl  | H           | dvojná     | 78.68/78.64, 10.47/10.50 | 443 |
| 247 | H  | OH | H           | cyklohexyl  | dvojná     | 81.63/81.59, 10.87/10.92 | 427 |
| 248 | OH | H  | H           | cyklohexyl  | dvojná     | 81.63/81.60, 10.87/10.90 | 427 |
| 249 | OH | OH | H           | cyklohexyl  | dvojná     | 78.68/78.63, 10.47/10.52 | 443 |
| 250 | H  | OH | cyklohexyl  | H           | jednoduchá | 81.25/81.20, 11.29/11.34 | 429 |
| 251 | OH | H  | cyklohexyl  | H           | jednoduchá | 81.25/81.19, 11.29/11.35 | 429 |
| 252 | OH | OH | cyklohexyl  | H           | jednoduchá | 78.33/78.28, 10.88/10.92 | 445 |

5      Příklad 6 – Test životaschopnosti na neuronům podobných lidských buňkách SH-SY5Y

5      Lidská neuroblastomová linie SH-SY5Y (ATCC® CRL-2266), získána z ECACC (The European  
Collection of Authenticated Cell Cultures) byla kultivována v Eaglově médiu modifikovaném  
podle Dulbecca a Hamově F12 Nutrient mixu (Dulbecco's modified Eagle's Medium and Ham's  
F12 Nutrient Mixture (DMEM:F-12, 1:1) s 1% penicilin/streptomycin mixu v inkubátoru při 37°C  
v 5% CO<sub>2</sub>, 95% vzduch a humifikované atmosféře. Test byl proveden v 96-jamkové desce se 7000  
10      buňkami SH-SY5Y na jamku. Další den SH-SY5Y buňky podstoupily diferenační proceduru  
pomocí all-trans retinové kyseliny (ATRA) po dobu 48hod (ATRA 10 μM). Po 48 hod. bylo staré  
DMEM/F12 médium zaměněno čerstvým médiem obsahujícím testované látky v koncentracích  
0,1, 1 and 10 μM po dobu 24 h. Testované látky byly rozpuštěny v DMSO a přidány do média.  
15      Maximální koncentrace DMSO v médiu byla udržována pod 0,1% (v/v). Viabilita byla měřena  
pomocí Calcein AM (1mg/ml, ThermoFisher) viabilitního testu. Roztok Calcein AM v PBS (0.75  
μM) byl napipetován k buňkám a inkubován po dobu 50 min. Poté byla měřen fluorescence při  
488/517nm (excitace/emise) pomocí mikrodestičkového readeru Infinite M200 (TECAN). Calcein  
AM test viability je založen na štěpení nefluoreskujícího barviva (Calcein-AM) pomocí  
intracelulárních esteráz živých buněk na fluoreskující barvivo (Calcein), zatímco umírající buňky  
tuto schopnost ztrácí. Hodnoty v tabulce 2 ukazují % viability (životaschopnosti), vztažené ke  
20      kontrole pro všechny testované sloučeniny. Kontrola (médium s DMSO, <0,1% (obj./obj.)) byla  
postulována jako 100% viability (viz první řádek tabulky). Jak je uvedeno v tabulce 2, bylo  
prokázáno, že žádné deriváty neindukují snížení viability.

Tabulka 2. Účinek nových sloučenin na viabilitu lidské neuroblastomové linie SH-SY5Y (neuronům-podobný fenotyp) po 24 hodinách aplikace. Data jsou vyjádřena jako procenta DMSO kontroly jako průměr ± SEM dvou nezávislých experimentů v triplicátu.

| Viabilita (% DMSO kontroly) |             |       |        |             |        |       |
|-----------------------------|-------------|-------|--------|-------------|--------|-------|
| DMSO kontrola               | průměr: 100 |       |        | SEM ±: 0.95 |        |       |
| Sloučenina                  | 0.1 μM      | SEM ± | 1 μM   | SEM ±       | 10 μM  | SEM ± |
| 57                          | 105,90      | 2,86  | 108,90 | 3,93        | 117,10 | 3,31  |
| 30                          | 99,41       | 3,13  | 102,30 | 4,14        | 104,70 | 3,13  |
| 15                          | 98,20       | 2,53  | 106,40 | 1,82        | 120,60 | 2,26  |
| 111                         | 106,90      | 4,19  | 107,80 | 3,02        | 109,90 | 1,37  |
| 6                           | 101,30      | 3,94  | 104,80 | 4,84        | 122,10 | 4,86  |
| R-LA                        | 0.5 μM      | SEM ± | 5 μM   | SEM ±       | 50 μM  | SEM ± |
|                             | 96,12       | 2,68  | 96,93  | 3,59        | 101,2  | 2,09  |
| DFO                         | 1 μM        | SEM ± | 10 μM  | SEM ±       | 100 μM | SEM ± |
|                             | 105,7       | 8,48  | 105,5  | 8,49        | 109,5  | 5,92  |

5 \*DMSO – dimethylsulfoxid; R-LA – kyselina R-lipoová; DFO – deferoxamin. Látky byly testovány v neuroprotektivně aktivních koncentracích.

Příklad 17 Neuroprotektivní efekt látek na glutamát-indukovaném oxidativním poškození lidských neuronálních SH-SY5Y buňkách

10

Podobně jako v předchozím testu byl test proveden v 96-jamkových mikrodestičkách s 20000 buňkami na jamku. Den po vyšetí buněk, SH-SY5Y byly podrobeny 48-hodinové diferenciaci pomocí all trans retinové kyseliny (ATRA) (ATRA 10 μM). Po 48 hodinách bylo staré médium DMEM / F12 zaměněno čerstvým médiem obsahujícím 160 mM glutamátu (Glu) bez nebo s testovanými sloučeninami v koncentracích 0,1, 1 a 10 μM. Jako pozitivní kontroly byla použity kyselina R-lipoová (R-LA) při 0,5, 5, 50 μM a deferoxamin (DFO) při 1, 10 a 100 μM. Po 24 hodinách byla buněčná smrt kvantifikována barvením propidium jodidem (PI) podle literatury (Stone et al., BMC Cell Biol. 2003, 4, 1) s modifikacemi.

15

20 Obecně je barvení PI spojeno s poškozenou buněčnou membránou nebo přítomností umírajících buněk (Stone et al., BMC Cell Biol. 2003, 4, 1). Kvůli ztrátě adherence byly poškozené nebo mrtvé buňky barveny roztokem PI přímo v médiu v konečné koncentraci 1,5 μM a inkubovány při pokojové teplotě po dobu 15 až 25 minut při pokojové teplotě. Buňky barvené PI byly kvantifikovány při 535/617 nm (excitace/emise) pomocí čtečky mikrodestiček Infinite M200 Pro (Tecan). Buněčná smrt generovaná 160 mM Glu byla považována za 100% buněčné smrti (tj. kontrola, se kterou je srovnáváno v tabulce 3), takže bylo pozorováno snížení buněčné smrti (neuroprotektivní účinek). Aplikace 160 mM Glu vedlo k přibližně 5-krát vyšší buněčné smrti ve srovnání s kontrolou DMSO. Jak je vidět z tabulky 3 a obr. 1, všechny testované sloučeniny při 10 μM prokázaly srovnatelný nebo vyšší neuroprotektivní účinek než pozitivní kontroly. Konkrétně byl nejvyšší účinek pozorován v případě sloučenin 15 a 6 při 10 μM s dvojnásobným neuroprotektivním účinkem než R-LA. Dále sloučeniny vykazovaly vyšší účinnost než pozitivní kontroly kvůli skutečnosti, že neuroprotektivního účinku bylo dosaženo při řádově nižších koncentracích (5 - 10krát).

25

30

35 Tabulka 3. Neuroprotektivní účinek nových sloučenin na lidské neuroblastomové linie SH-SY5Y (neuronální fenotyp)

| Sloučenina | Neuroprotektivní efekt (% snížení buněčné smrti<br>oproti kontrole) |            |             | p hodnota |
|------------|---|------------|-------------|-----------|
|            | 0.5 $\mu$ M   | 5 $\mu$ M  | 50 $\mu$ M  |           |
| R-LA       | N/A   | N/A        | 13,49       | >0,001    |
|            | 1 $\mu$ M   | 10 $\mu$ M | 100 $\mu$ M |           |
| DFO        | N/A   | 19,94      | 23,55       | >0,001    |
|            | 0.1 $\mu$ M   | 1 $\mu$ M  | 10 $\mu$ M  |           |
| 57         | N/A   | 15,99      | 24,88       | >0,001    |
| 30         | N/A   | N/A        | 23,17       | >0,001    |
| 15         | N/A   | N/A        | 30,08       | >0,001    |
| 111        | N/A   | N/A        | 26,52       | >0,001    |
| 6          | N/A   | 15,00      | 33,70       | >0,001    |

N/A = žádná protekce; Data jsou vyjádřena jako rozdíl mezi průměry skupin 160mM Glu a co-treatmentu (sloučeniny), se statistickou významností (ANOVA, Tukey post hoc test).

- 5 Příklad 18 Měření oxidačního stresu na buněčné linii lidského neuroblastomu SH-SY5Y - model PD indukovaný glutamátem

Podobně jako v předchozím testu, buňky rostoucí na 96-jamkových mikroděstičkách v denzitě 20000 buňkami na jamku podstoupily diferenciaci a testovací proceduru pro glutamátový model.  
 10 Po 4 hodinách společného ošetření s glutamátem byla kvantifikována tvorba superoxidových radikálů jakožto marker oxidačního stresu (dle Kim et al. 2017, J. Med. Food, 20, 140–151 s drobnými modifikacemi). Stručně, neuronům-podobné SH-SY5Y buňky byly centrifugovány při 500 g po dobu 5 minut a 30 sekund, poté bylo médium vyměněno za roztok 10  $\mu$ M dihydroethidia (DHE) v fosfátovém pufru (PBS) a ponecháno při pokojové teplotě po dobu 30 minut. Po 30  
 15 minutách bylo DHE měřeno při 500 nm/580 nm (excitace/emise) pomocí Infinite M200 Pro (Tecan) mikroděstičkového readeru.

DHE je barvivo propustné pro buňky, které je selektivní vůči detekci superoxidových radikálů. Celkový oxidační stres dosažený 160 mM Glu byl považován za 100%, takže bylo pozorováno  
 20 snížení oxidačního stresu (OS redukční efekt). Jak je uvedeno v tabulce 4 a na obr. 2, 160 mM Glu vyvolalo 2,6-násobné zvýšení tvorby superoxidových radikálů. Co je důležitější, že všechny příklady při 10  $\mu$ M prokázaly srovnatelný nebo mírně lepší účinek snížení oxidačního stresu než antioxidant R-LA, zatímco úplně překonaly DFO. Dohromady všechny příklady ukázaly vyšší účinnost než pozitivní kontroly z hlediska koncentrací odpovědných za aktivitu snižující OS (5-  
 25 10krát účinnější než pozitivní kontroly).

Tabulka 4. Oxidativní stress indukovaný glutamátem a aktivita nových sloučenin ve snížení oxidačního stresu, testováno na neuronálních SH-SY5Y buňkách.

| Tvorba superoxidových radikálů (oxidativní stres), % kontroly (Glu 160 mM) |        |      |        |      |
|--|--------|------|--------|------|
|  | Průměr |      | ±SEM   |      |
| DMSO negativní kontrola  | 38,18  |      | 0,74   |      |
| Glu 160 mM kontrola  | 100    |      | 1,52   |      |
| Sloučeniny   | 1 μM   | ±SEM | 10 μM  | ±SEM |
| 57   | 93,34  | 3,83 | 83,99  | 5,33 |
| 30   | 84,54  | 3,88 | 81,08  | 3,25 |
| 15   | 98,27  | 4,65 | 85,61  | 3,28 |
| 111  | 89,17  | 4,8  | 80,21  | 3,31 |
| 6  | 85,36  | 3,38 | 80,19  | 2,95 |
| R-LA   | 5 μM   | ±SEM | 50 μM  | ±SEM |
|  | 86,72  | 5,07 | 83,91  | 4,33 |
| DFO  | 10 μM  | ±SEM | 100 μM | ±SEM |
|  | 87,06  | 2,39 | 92,61  | 2,2  |

Data představují procenta 160 mM Glu kontroly, průměr ± SEM tří nezávislých experimentů.

#### Příklad 19 – Farmaceutické přípravky

5

Farmaceutické přípravky pro obvykle obsahují 0,1 až 99 % z hmotnosti, obzvláště 0,1 až 95 % hmotnosti, účinných látek obsahujících sterolový derivát podle tohoto vynálezu, 1 až 99,9 % hmotnosti alespoň jednoho pevného nebo kapalné pomocné látky, a od 0 do 25 % hmotnosti, obzvláště 0,1 až 25 % hmotnosti, povrchově aktivního činidla. Tyto prostředky mohou také obsahovat další přísady, jako jsou stabilizátory, například rostlinné oleje nebo epoxidované rostlinné oleje, činidla proti pění, například silikonový olej, konzervační látky, regulátory viskozity, pojidla, látky způsobující lepivost a nebo jiné aktivní složky. Výhodné formulace mají zejména následující složení: (% = hmotnostní procenta):

10

15

#### F1: Suché kapsle

5000 Tobolek, z nichž každá obsahuje 0,25 g sterolového derivátu, se připraví následujícím způsobem:

20

Složení: Léčivá látka: 1250 g; Talek 180 g; Pšeničný škrob: 120 g; Stearát hořečnatý: 80 g; Laktóza 20 g.

Postup přípravy: Rozetřené látky jsou tlačeny přes síto s velikostí ok 0,6 mm. Dávka 0,33 g směsi je přenesena do želatinové tobolky pomocí stroje na plnění tobolek.

25

#### F2: Měkké tobolky

5000 měkkých želatinových tobolek, z nichž každá obsahuje 0,05 g neurosterolového derivátu jako účinnou látku, se připraví následujícím způsobem:

30

Složení: 250 g Účinná látka + 21 g Lauroglycol

Postup přípravy: Prášková aktivní složka je suspendována v Lauroglykol® (propylenglykol laurát, Gattefossé SA, Saint Priest, Francie) a roztřena ve vlhkém pulverizátoru na velikost částic asi 1 až 3 mm. Dávka o velikosti 0,419 g směsi je potom přenesena do měkkých želatinových tobolek pomocí přístroje na plnění tobolek.

F3: Měkké tobolky

5000 měkkých želatinových tobolek, z nichž každá obsahuje 0,05 g neurosterolového derivátu jako účinnou látku, se připraví následujícím způsobem:

Složení: 250 g účinné složky v 1 l PEG 400, 1 litr Tween 80.

Postup přípravy: Prášková aktivní složka je suspendována v PEG 400 (polyethylenglykol o mh mezi 380 a 420, Sigma, Fluka, Aldrich, USA) a Tween 80 (polyoxyethylen sorbitan monolaurát, Atlas Chem Inc., Inc., USA. , dodává Sigma, Fluka, Aldrich, USA) a roztřena ve vlhkém pulverizátoru na velikost částic asi 1 až 3 mm. Dávka o velikosti 0,43 g směsi je potom přenesena do měkkých želatinových tobolek pomocí přístroje na plnění tobolek.

Příklad 20 – Formulace tablety s řízeným uvolňováním

Jedna tableta obsahuje například 300-350 mg neurosterolového derivátu jako účinnou látku. Pomocná látka se známým účinkem: Jedna tableta obsahuje 150 až 200 mg retardující složky (Methocel, Parateck® SRP 80, Kollidon® SR, Kollidon 25, chitosan, alginát), dále lubrikantu (stearát hořečnatý), účinné látky (VH), pojiva (Prosolv SMCC 90).

Lékovou formou je tableta s řízeným uvolňováním.

Příprava tabletoviny: Tablety jsou připraveny přímým lisováním. Nejprve je naváženo vypočtené množství retardující složky (Methocel, Parateck® SRP 80, Kollidon® SR, Kollidon 25, chitosan, alginát), dále lubrikantu (stearát hořečnatý), účinné látky (VH), pojiva (Prosolv SMCC 90). Následně je vzniklá směs homogenizována v homogenizátoru (Retsch MM200– Retsch GmbH, Haan). Homogenizaci se doporučuje provádět ve třech frekvencích: 10 kmitů/s, 13 a 15 kmitů/s vždy po dobu 1 minuty. Tabletovina je poté převedena do ručního lisu. Tablety jsou lisovány při zatížení 8 kN po dobu 5 minut. Zatížení je zvoleno s ohledem na požadovanou pevnost tablet 0,8 až 0,8 MPa. Hmotnost tablet činí  $500 \pm 5$  mg.

*Hydrofilní matricové tablety s hypromelosou*

Tablety jsou připraveny metodou přímého lisování dle postupu uvedeného výše.

Hmotnost tablet byla  $500 \pm 5$  mg. Složení hydrofilních tablet s hypromelosou v %:

| Formulace         | A1  | A2  | A3  |
|-------------------|-----|-----|-----|
| Prosolv SMCC 90   | 49% | 49% | 49% |
| Methocel K4M      | -   | 30% | -   |
| Methocel K15M     | 30% | -   | -   |
| Methocel K100M    | -   | -   | 30% |
| Účinná látka      | 20% | 20% | 20% |
| Stearát hořečnatý | 1%  | 1%  | 1%  |

*Hydrofilní matricové tablety s retardující složkou Kollidon 25, Kollidon® SR, Parateck® SRP 80*  
Tablety jsou připraveny metodou přímého lisování dle postupu uvedeného výše.

Hmotnost tablet byla  $500 \pm 5$  mg. Složení hydrofilních tablet v %:

| Formulace         | F1  | F2  | F3  | F4  | F5  |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Prosolv® SMCC 90  | 49% | 49% | 49% | 49% | 49% |
| Kollidon 25       | 30% | 20% | 10% | -   | -   |
| Kollidon® SR      | -   | -   | -   | 30% | -   |
| Pardeck® SRP 80   | -   | -   | -   | -   | 30% |
| Účinná látka      | 20% | 30% | 40% | 20% | 20% |
| Stearát hořečnatý | 1%  | 1%  | 1%  | 1%  | 1%  |

*Hydrofilní matricové tablety obsahující LubriTose™ MCC, Methocel K15M nebo Methocel K4M*

- 5 Tablety jsou připraveny metodou přímého lisování dle postupu uvedeného výše.

Hmotnost tablet byla  $500 \pm 5$  mg. Složení hydrofilních tablet v %:

| Formulace      | A1  | A2  |
|----------------|-----|-----|
| LubriTose™ MCC | 50% | 50% |
| Methocel K15M  | 30% | -   |
| Methocel K4M   | -   | 30% |
| Účinná látka   | 20% | 20% |

## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Neurosterolový derivát obecného vzorce I,

ve kterém, a je jednoduchá nebo dvojná vazba; dvojná vazba je nezávisle vybrána z E nebo Z konfigurace; R1, R2 jsou nezávisle vybrány z vodíku nebo hydroxylové skupiny; R3 je nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující vodík, lineární a rozvětvený C1-C5 alkyl a C3-C6 cykloalkyl, přičemž cykloalkyl může být popřípadě substituován alespoň jedním substituentem, kterým je C1-C5 alkyl; R4 je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z vodíku, methylu a ethylu; nebo R3 a R4 společně tvoří bivalentní skupinu C2-C5  $\alpha,\omega$ -alkylenu, a kde následující sloučeniny jsou vyloučeny z obecného vzorce I: 2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, (22E)-2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -cholest-22-en-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -campestan-6-on, 2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -campestan-6-on, (22E)-3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -campestan-22-en-6-on, (22E)-2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -campestan-22-en-6-on, (22E)-2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -ergost-22-en-6-on, (22E)-3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -ergost-22-en-6-on, (22Z)-3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -ergost-22-en-6-on, (22E)-2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -ergost-22-en-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -chol-22-en-6-on, 2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -chol-22-en-6-on.

2. Neurosterolový derivát podle nároku 1, kde substituentem R3 je lineární C1-C5 alkyl, s výhodou vybraný ze skupiny zahrnující methylovou, ethylovou, n-propylovou, n-butylovou a n-pentylovou skupinu.

3. Neurosterolový derivát podle nároku 1, kde substituentem R3 je rozvětvený C3-C5 alkyl, s výhodou vybraný ze skupiny, kterou tvoří isopropyl, isobutyl, sek-butyl, terc-butyl, 2-methylbut-2-yl, 2,2-dimethylpropyl, 3-methylbut-1-yl, pent-2-yl, pent-3-yl, 3-methylbut-2-yl a 2-methylbutyl.

4. Neurosterolový derivát podle nároku 1, kde substituentem R3 je cykloalkylová skupina, s výhodou vybraná ze skupiny zahrnující cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl, cyklopropylmethyl, cyklobutylmethyl, cyklopentylmethyl, cyklohexylmethyl, které mohou být popřípadě substituovány lineárním C1-C5 alkylem, s výhodou C1-C3 lineárním alkylem.

5. Neurosterolový derivát podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4, kde substituenty R3 a R4 dohromady tvoří alkylenovou skupinu, která je vybrána ze skupiny zahrnující 1,2-ethylen, 1,3-trimethylen, 1,4-tetramethylen a 1,5-pentamethylen.

6. Neurosterolový derivát podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, kde v poloze R3 a/nebo na uhlíku C-23 je chirální centrum.

7. Neurosterolový derivát podle nároku 1, vybraný ze skupiny zahrnující 2 $\alpha$ -hydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-23-methyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-23-methyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-23-methyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-26,27-dinor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-26,27-dinor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-26,27-dinor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, (23R)-2 $\alpha$ -hydroxy-23-ethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, (23R)-3 $\alpha$ -hydroxy-23-ethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, (23R)-2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-23-ethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, (23S)-2 $\alpha$ -hydroxy-23-ethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, (23S)-3 $\alpha$ -hydroxy-23-ethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, (23S)-2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-23-ethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-24,24-dimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-24,24-dimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha,3\alpha$ -dihydroxy-



24,24-dimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-26a-homo-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-26a-homo-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-26a-homo-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-24,24,24-trimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-24,24,24-trimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-24,24,24-trimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -campestan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -campestan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -campestan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -ergostan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -ergostan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -ergostan-6-on; 2 $\alpha$ -hydroxy-26a,26b-dihomo-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-26a,26b-dihomo-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-26a,26b-dihomo-27-nor-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -campestan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -ergostan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -ergostan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -ergostan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-24-ethyl-24,24-dimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-24-ethyl-24,24-dimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-24-ethyl-24,24-dimethyl-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-25-methyl-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -stigmastan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -stigmastan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-27-nor-5 $\alpha$ -stigmastan-6-on, (24*S*)-2 $\alpha$ -hydroxy-26a-homo-27-nor-5 $\alpha$ -campestan-6-on, (24*S*)-3 $\alpha$ -hydroxy-26a-homo-27-nor-5 $\alpha$ -campestan-6-on, (24*S*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-26a-homo-27-nor-5 $\alpha$ -campestan-6-on, (24*R*)-2 $\alpha$ -hydroxy-26a-homo-27-nor-5 $\alpha$ -ergostan-6-on, (24*R*)-3 $\alpha$ -hydroxy-26a-homo-27-nor-5 $\alpha$ -ergostan-6-on, (24*R*)-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-26a-homo-27-nor-5 $\alpha$ -ergostan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklopropyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklopropyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-22-cyklopropyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklobutyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklobutyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-22-cyklobutyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklopentyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklopentyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-22-cyklopentyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklohexyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-22-cyklohexyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-22-cyklohexyl-23,24-dinor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklopropyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklopropyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-cyklopropyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklobutyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklobutyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-cyklobutyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklopentyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklopentyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-cyklopentyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklohexyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-23-cyklohexyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-23-cyklohexyl-24-nor-5 $\alpha$ -cholan-6-on.

8. Neurosterolový derivát obecného vzorce **Ia**,

ve kterém, a je jednoduchá nebo dvojná vazba; dvojná vazba je nezávisle vybrána z E nebo Z konfigurace; R1, R2 jsou nezávisle vybrány z vodíku nebo hydroxylové skupiny; R3 je nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující vodík, lineární a rozvětvený C1-C5 alkyl a C3-C6 cykloalkyl, přičemž cykloalkyl může být popřípadě substituován alespoň jedním substituentem, kterým je C1-C5 alkyl; R4 je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z vodíku, methylu a ethylu; nebo R3 a R4 společně tvoří bivalentní skupinu C2-C5  $\alpha,\omega$ -alkylenu, a kde následující sloučeniny jsou vyloučeny z obecného vzorce Ia: 2 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -cholestan-6-on, pro použití jako léčiva.

9. Neurosterolový derivát obecného vzorce **Ib**

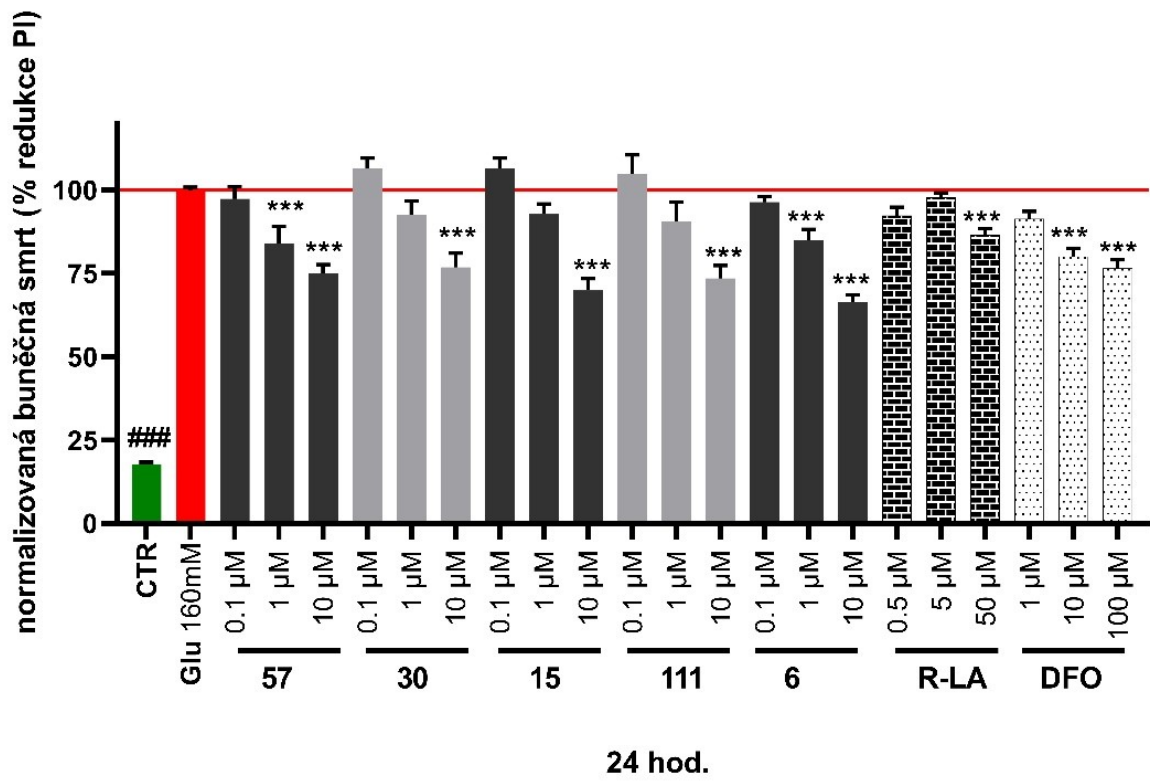
ve kterém,

5 a je jednoduchá nebo dvojná vazba; dvojná vazba je nezávisle vybrána z E nebo Z konfigurace; R1, R2 jsou nezávisle vybrány z vodíku nebo hydroxylové skupiny; R3 je nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující vodík, lineární a rozvětvený C1-C5 alkyl a C3-C6 cykloalkyl, přičemž cykloalkyl může být popřípadě substituován alespoň jedním substituentem, kterým je C1-C5 alkyl; R4 je nezávisle vybrán ze skupiny sestávající z vodíku, methylu a ethylu; nebo R3 a R4 společně tvoří bivalentní skupinu C2-C5  $\alpha,\omega$ -alkylenu; pro použití při léčení a/nebo profylaxi neurodegenerativních onemocnění.

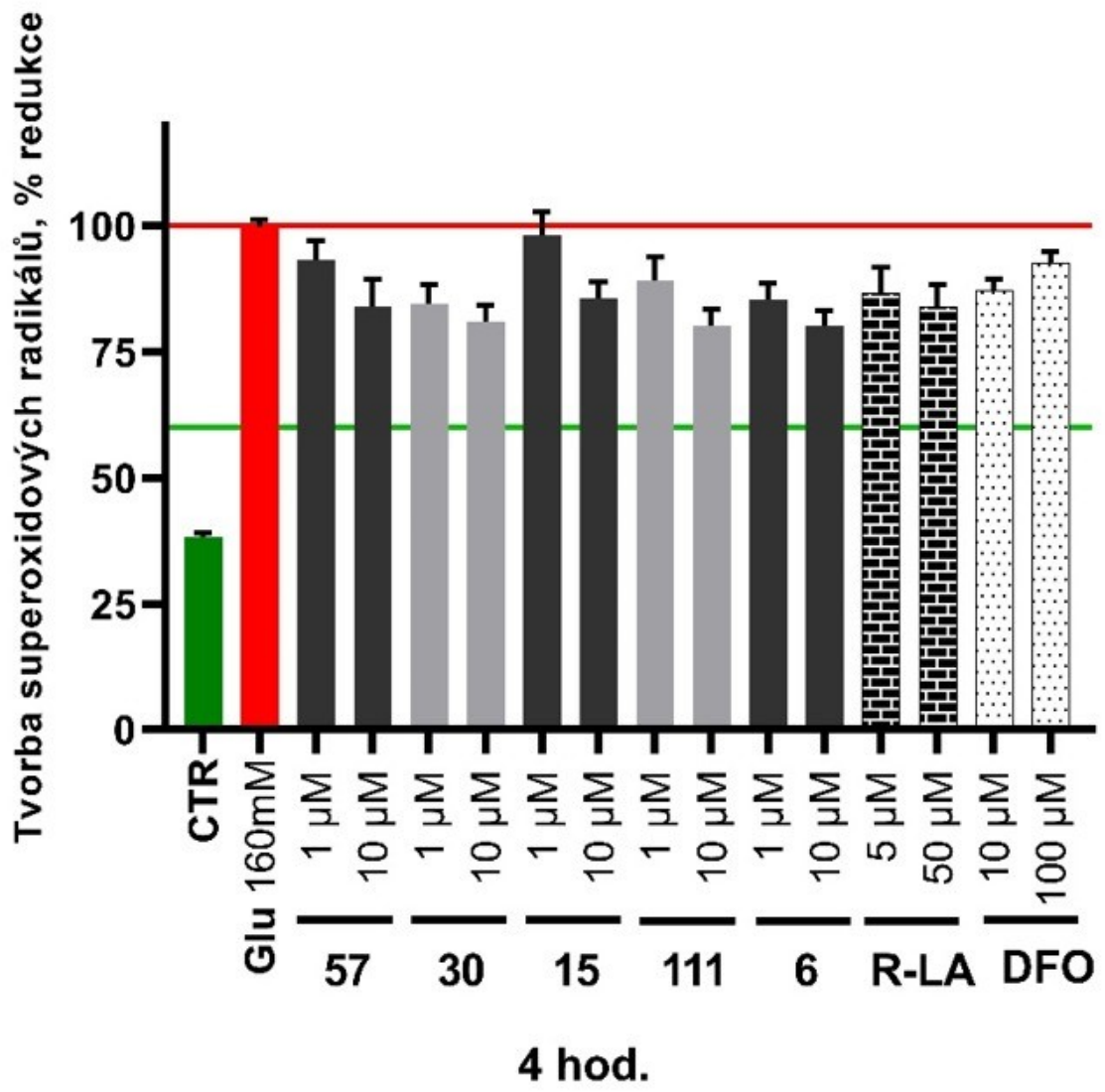
10 10. Neurosterolový derivát pro použití podle nároku 9, kde neurodegenerativní onemocnění je vybráno ze skupiny zahrnující amyotrofickou laterální sklerózu, Parkinsonovu chorobu, Alzheimerovu chorobu, Huntingtonovu chorobu, progresivní supranukleární paralýzu, kortikobazální degenerace, frontotemporální demence, demence s Lewyho tělísky, atrofie mnohočetného systému, chronické traumatické encefalopatie a spinocerebelární ataxie.

15 11. Farmaceutická kompozice, **vyznačená tím**, že obsahuje jeden nebo více neurosterolových derivátů podle kteréhokoliv z nároků 1 až 7 a alespoň jeden farmaceuticky akceptovatelný nosič.

2 výkresy



Obr. 1



Obr. 2