

*C07J 53/00* (2006.01)  
*A61P 25/16* (2006.01)  
*A61P 25/28* (2006.01)  
*A61K 31/56* (2006.01)

(19)  
 ČESKÁ  
 REPUBLIKA



ÚŘAD  
 PRŮMYSLOVÉHO  
 VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2020-651**  
 (22) Přihlášeno: **04.12.2020**  
 (40) Zveřejněno: **15.06.2022**  
**(Věstník č. 24/2022)**  
 (47) Uděleno: **11.01.2024**  
 (24) Oznámení o udělení ve věstníku: **21.02.2024**  
**(Věstník č. 8/2024)**

(56) Relevantní dokumenty:

SIDOVA, Veronika, et al. Cytotoxic conjugates of betulinic acid and substituted triazoles prepared by Huisgen Cycloaddition from 30-azidoderivatives. *PLoS one*, 2017, 12.2: e0171621; eISSN:1932-6203; POKORNY, Jan, et al. Synthesis and characterization of new conjugates of betulin diacetate and bis (triphenylsilyl) betulin with substituted triazoles. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 2018, 149.4: 839-845; ISSN: 0026-9247; GONZALEZ, Gabriel, et al. Novel pentacyclic triterpenes exhibiting strong neuroprotective activity in SH-SY5Y cells in salsolinol-and glutamate-induced neurodegeneration models. *European journal of medicinal chemistry*, 2021, 213: 113168; ISSN: 0223-5234; AMIRI, Shayan, et al. Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects. *Biotechnology advances*, 2020, 38: 107409; ISSN: 0734-9750; ZOUFALÝ, Pavel. Studium click reakcí u triterpenoidů obsahujících propargylovou skupinu. 2016, 60 s., Diplomové práce. Univerzita Palackého, Katedra organické chemie.

(73) Majitel patentu:

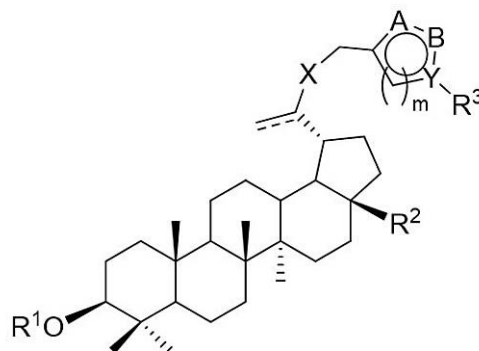
Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, CZ

(72) Původce:

doc. RNDr. Milan Urban, Ph.D., Praha 4, Háje, CZ  
 Mgr. Gabriel Gonzalez, Vrbátky, CZ  
 Mgr. Jiří Hodoň, Bohuňovice, 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 vynálezu:

**Terpenoidní deriváty, farmaceutické  
 přípravky obsahující tyto deriváty a jejich  
 použití při neuroprotekcí**

(57) Anotace:

Nové terpenoidní deriváty vzorce I, jejich použití v léčbě, a farmaceutické přípravky obsahující tyto deriváty. Tyto látky mají selektivní anti-neurodegenerativní vlastnosti specifické pro neuronální buňky a tkáň a mohou být použity zejména při léčbě a profylaxi neurodegenerativních onemocnění, s výhodou při léčbě a profylaxi Parkinsonovy a Huntingtonovy choroby.

## Terpenoidní deriváty, farmaceutické přípravky obsahující tyto deriváty a jejich použití při neuroprotekcí

### 5 Oblast techniky

Vynález se týká terpenoidních derivátů, jejich použití při neuroprotekcí, zejména při léčbě Parkinsonovy a Huntingtonovy choroby a farmaceutických přípravků obsahujících tyto deriváty.

10

### Dosavadní stav techniky

Parkinsonova choroba (PD) s 1% výskytem v populacích nad 60 let je nejčastějším motorickým a druhým nejčastějším neurodegenerativním onemocněním. PD je obecně charakterizována motorickými příznaky, jako je bradykineze (nedostatek nebo pomalost pohybu), rigidita, klidový třes a posturální nestabilita, které jsou úzce spojeny s progresivní a těžkou degenerací dopaminergních neuronů u *Substantia nigra pars compacta* v bazálních gangliích. Vzhled časných příznaků PD je spojen s degenerací a ztrátou přibližně 50 až 80% DA neuronů. Mezi mnoha formami PD převládá v míře diagnózy idiopatická nebo sporadická PD. Navíc není známa konkrétní příčina této formy, která by učinila léčbu onemocnění problematičtější. Na druhé straně bylo identifikováno několik molekulárních znaků PD, jako je proteozomální a autofagová lysozomální dysfunkce, stres endoplazmatického retikula, synaptopatie, mitochondriální dysfunkce, oxidační stres, narušení homeostázy vápníku a neurozánět. V současné době je PD léčena pouze symptomatickou léčbou, která není účinná při blokování nebo snižování progresse onemocnění (Rinne, Acta Neurol Scand. Suppl. 1983, 95, 19). Proto se vývoj léků v současné době zaměřuje na slibné terapeutické přístupy modifikující onemocnění. Konkrétně několik přírodních nebo syntetických sloučenin nebo již schválených léků na CNS vykazovalo povzbuzující neuroprotektivní aktivitu v modelech neurodegenerativních onemocnění *in vitro* a *in vivo* (Schapira a Olanow, Jama 2004, 291, 358).

30

Pentacyklické triterpeny patří k nejhojnějším přírodním sloučeninám, sekundárním metabolitům, které lze nalézt ve vyšších rostlinách, houbách, řasách a mořských živočiších. Velké množství triterpenů bylo izolováno z přírodních zdrojů a mnoho z nich jsou biologicky aktivní. Existuje mnoho příkladů cytotoxických, antibakteriálních, antifeedingových, antivirových, antikarcinogenních, hepatoprotektivních a kardioprotektivních triterpenických sloučenin a některé z nich vykazují neuroprotektivní aktivitu, jako je tenuigenin nebo betulin (Hill a Connolly, Nat. Prod. Rep. 2018, 35, 1294; Zhang a kol., Med. Res. Rev. 2015, 35, 1127). Naše výzkumná skupina se dlouhodobě zaměřuje na přípravu triterpenoidů a připravili jsme stovky derivátů kyseliny betulinové a betulinu, ale mnoho z nich mělo nevhodné farmakologické vlastnosti, jako je nízká rozpustnost ve vodě. Během pokusů o zlepšení rozpustnosti byla připravena řada triterpenových konjugátů, ale u některých z nich spojení s jinou (polární) molekulou způsobilo významné snížení jejich cytotoxicity (Hodon *et al.*, Eur. J. Med. Chem. 2019, 182, 111653).

45

### Podstata vynálezu

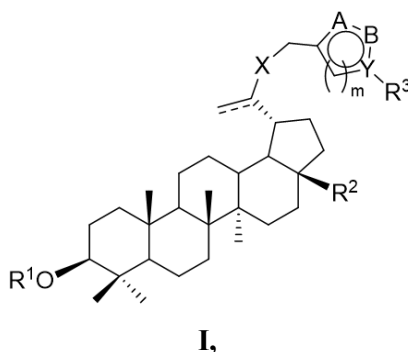
Předmětem předkládaného vynálezu je proto poskytnout novou generaci terpenoidních derivátů, které vykazují silné a selektivní anti-neurodegenerativní vlastnosti pro neuronální buňky a tkáň a mohou být výhodně použity při léčbě a profylaxi neurodegenerativních onemocnění, s výhodou Parkinsonovy a Huntingtonovy choroby. Některé triterpenové deriváty podle tohoto vynálezu vykazují silné neuroprotektivní účinky v modelu buněčné smrti indukované salsolinolem (SAL) a kyselinou 3-nitropropionovou (3NPA). Terpenoidní deriváty byly také účinné při snižování tvorby superoxidových radikálů a aktivity kaspázy-3,7 na lidských neuronům podobných buňkách SH-SY5Y a gliových buňkách A-172, a jsou tedy použitelné pro léčbu Parkinsonovy a

55

Huntingtonovy choroby. Několik terpenoidních derivátů obecného vzorce I bylo připraveno v diplomové práci (Pavel Zoufalý, Studium click reakcí u triterpenoidů obsahujících propargylovou skupinu, UP v Olomouci, 2016), která se zabývala pouze syntézou těchto látek, s předpokladem protinádorové aktivity, která však u látek nalezena nebyla.

5

Předmětem tohoto vynálezu jsou terpenoidní deriváty obecného vzorce I,



10

ve kterém,

----- je jednoduchá nebo dvojná vazba;

15

X je vybráno z  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$

A, B a Y jsou vzájemně nezávisle vybrané ze skupiny, kterou tvoří CH, C, N, NH, O, S;

$m = 1, 2$  nebo  $3$ ;

20

$\text{R}^1$  je vybrán z  $\text{H}-$ ,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $n = 0$  až  $5$ ;

$\text{R}^2$  je vybrán ze skupiny  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{COO}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$  a  $-\text{COO}(\text{CH}_2)\text{Ph}$ , kde  $n = 0$  až  $5$ ;

25

$\text{R}^3$  je vybrán ze skupiny H; C1-C6 alkyl; C6-C12 aryl; heteroaryl obsahující 5 až 8 atomů (s výhodou 5 nebo 6 atomů) v aromatickém cyklu, z nichž alespoň jeden je heteroatom vybraný ze skupiny N, O, S;

30

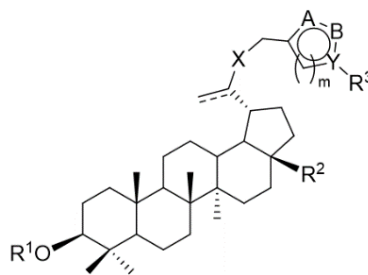
a monosacharid nebo jeho acetylovaná forma (s výhodou peracetylovaná forma); přičemž  $\text{R}^3$  není přítomno, když Y je O nebo S;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli,

35

pro použití při léčbě nebo profylaxi neurodegenerativních onemocnění.

Předmětem tohoto vynálezu jsou dále terpenoidní deriváty obecného vzorce **Ia**,



Ia,

ve kterém,

5

----- je jednoduchá nebo dvojná vazba;

X je vybráno z  $-\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$

10 A, B a Y jsou vzájemně nezávisle vybrané ze skupiny, kterou tvoří CH, C, N, NH, O, S;

$m = 1, 2$  nebo  $3$ ;

$\text{R}^1$  je vybrán z H-,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $n = 0$  až  $5$ ;

15

$\text{R}^2$  je vybrán ze skupiny  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{COO}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$  a  $-\text{COO}(\text{CH}_2)\text{Ph}$ , kde  $n = 0$  až  $5$ ;

20

$\text{R}^3$  je vybrán ze skupiny H; C1-C6 alkyl; C6-C12 aryl; heteroaryl obsahující 5 až 8 atomů (s výhodou 5 nebo 6 atomů) v aromatickém cyklu, z nichž alespoň jeden je heteroatom vybraný ze skupiny N, O, S; a monosacharid nebo jeho acetylovaná forma (s výhodou peracetylovaná forma); přičemž  $\text{R}^3$  není přítomno, když Y je O nebo S;

25

za předpokladu, že když X je  $\text{C}(\text{O})\text{NH}$  nebo  $\text{C}(\text{O})\text{O}$ ,  $\text{R}^1$  je  $\text{CH}_3\text{CO}-$ ,  $\text{R}^2$  je  $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$  nebo  $\text{COOH}$ ,  $\text{A} = \text{B} = \text{Y} = \text{N}$  a  $m = 1$ , pak  $\text{R}^3$  není fenyl, 4-aminofenyl, 4-thiokyanatofenyl, 2-karboxyfenyl, peracetylglukosyl, peracetylgalaktosyl;

nebo

30

X je  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,

A, B a Y jsou vzájemně nezávisle vybrané ze skupiny, kterou tvoří CH, C, N, NH, O, S;

$m = 1, 2$  nebo  $3$ ;

35

$\text{R}^1$  je vybrán z H-,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $n = 0$  až  $5$ ;

40

$\text{R}^2$  je vybrán ze skupiny  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{COO}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$  a  $-\text{COO}(\text{CH}_2)\text{Ph}$ , kde  $n = 0$  až  $5$ ;

45

$\text{R}^3$  je vybrán ze skupiny H; C1-C6 alkyl; heteroaryl obsahující 5 až 8 atomů (s výhodou 5 nebo 6 atomů) v aromatickém cyklu, z nichž alespoň jeden je heteroatom vybraný ze skupiny N, O, S; a monosacharid nebo jeho acetylovaná forma (s výhodou peracetylovaná forma); přičemž  $\text{R}^3$  není přítomno, když Y je O nebo S;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

V případě, že je v molekule enantiomerní uhlík, zahrnuje tento vynález také racemáty a také opticky aktivní izomery a jejich směsi.

5 V některých provedeních nesou sloučeniny podle vynálezu substituent v pozici R<sup>3</sup>, který je vybrán ze skupiny zahrnující aryl nebo heteroaryl, s výhodou je vybrán ze skupin zahrnujících fenyl, triazolyl, pyridinyl, thiofenyl, imidazolyl, furyl a pyrazinyl.

S výhodou je substituent v pozici R<sup>3</sup> heteroaryl nebo H nebo C1-C6 alkyl.

10 Zejména, když X je C(O)NH nebo C(O)O, R<sup>1</sup> je CH<sub>3</sub>CO-, R<sup>2</sup> je -CH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>3</sub> nebo COOH, A = B = Y = N a m = 1, pak R<sup>3</sup> je s výhodou H, heteroaryl, nebo C1-C6 alkyl.

15 V některých provedeních nesou sloučeniny podle vynálezu substituent v pozici R<sup>3</sup>, který je vybrán ze skupiny zahrnující cukry, s výhodou je vybrán ze skupin zahrnujících glukózu, galaktózu, manózu, ramnózu, laktózu, ribózu, arabinózu, 2-deoxyglukózu, 2-deoxygalaktózu, 2-deoxymanózu a jejich peracetylované deriváty.

20 Ve zvláště výhodných provedeních je R<sup>3</sup> vybráno ze skupiny H, methyl, ethyl, propyl, isopropyl, fenyl, thiofenyl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, imidazolyl, furyl, galaktosyl, glukosyl, mannosyl, rhamnosyl, peracetylglaktosyl, peracetylglukosyl, peracetylmannosyl, peracetylramnosyl.

25 V některých výhodných provedeních je jeden z A, B, Y heteroatom, tedy N, O nebo S; a ostatní dva substituenty jsou CH (v případě A, B) nebo C (v případě Y). R<sup>3</sup> je s výhodou vodík, nebo není přítomen, ale může mít i jiné vyjmenované významy.

30 V dalších výhodných provedeních jsou dva z A, B, Y heteroatom, tedy N, O nebo S; a zbývající jeden substituenty jsou CH (v případě A, B) nebo C (v případě Y). R<sup>3</sup> je s výhodou vodík, nebo není přítomen, ale může mít i jiné vyjmenované významy. V těchto provedeních je s výhodou alespoň jeden z heteroatomů dusík.

„m“ je s výhodou 1 nebo 2.

35 Nejvýhodněji tvoří aromatický kruh obsahující A, B, Y ve vzorci I, resp. Ia, strukturu triazolu, thiazolu, pyrrolu, thiofenu, furanu, imidazolu, thiazolu, oxazolu, pyrazolu, pyridinu, pyrimidinu, pyrazinu.

40 Jednotlivé sloučeniny, jak jsou uvedeny v příkladech, představují jednotlivá výhodná provedení předkládaného vynálezu.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde X = CH<sub>2</sub>O; R<sup>1</sup> = C(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = CH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>3</sub>.

45 Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-thiofenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát;

30-(1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát;  
 30-(1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát;  
 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-  
 [galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[mannos-  
 1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-  
 1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde  $X = \text{CH}_2\text{O}$ ;  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{CH}_2\text{OH}$ .

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-  
 methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-  
 3,28-diol; 30-(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-propyl-1*H*-  
 1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-  
 3,28-diol; 30-(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-  
 thiofenfenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-  
 1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-  
 en-3,28-diol; 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-  
 diol; 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-  
 (1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-  
 [peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[glukos-  
 1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-  
 triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methoxylup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-  
 20(29)-en-3,28-diol.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde  $X = \text{CH}_2\text{NH}$ ;  $R^1 = \text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ .

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-thiofenfenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-  
 methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-  
 yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-  
 triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-  
 1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-  
 1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-  
 1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-  
 triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-  
 triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-  
 triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde  $X = \text{CH}_2\text{NH}$ ;  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{CH}_2\text{OH}$ .

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-thiofenferyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol

30-(1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde  $X = CH_2NH$ ;  $R^1 = H$ ,  $R^2 = COOH$ .

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: 30-(1*H*-1,2,3-Triazol-4-yl-methylamino)-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-thiofenferyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde  $X = CH_2NH$ ;  $R^1 = H$ ,  $R^2 = COOCH_3$ .

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: methyl 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino)-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-

triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-thiofenfenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde X = CH<sub>2</sub>O; R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = COOH.

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-thiofenfenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde X = CH<sub>2</sub>O; R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = COOCH<sub>3</sub>.

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: methyl 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-thiofenfenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-



methoxy}-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-((1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-((1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-((1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-((1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-((1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-((1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-((1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde X = CONH; R<sup>1</sup> = C(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = CH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>3</sub>.

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-thiofenfenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamin,30-oxoolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát; 30-(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde X = CONH; R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = CH<sub>2</sub>OH.

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-thiofenfenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-

4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol; 30-(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde X = CONH; R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = COOH.

5

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino)-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-thiofenferyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina; 30-[(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina.

30

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde X = CONH; R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = COOCH<sub>3</sub>.

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: methyl 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino)-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-ethyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-propyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-furyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-imidazolyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-thiofenferyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[pyridin-3-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[pyridin-4-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[peracetyl mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[peracetyl rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-[(1-[mannos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-

50

hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát; methyl 30-{(1-[rhamnos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino}-3β-hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny, kde  $X = C(O)O$ ;  $R^1 = C(O)CH_3$ ,  $R^2 = CH_2OC(O)CH_3$ .

Zejména výhodnými sloučeninami jsou sloučeniny vybrané ze skupiny: pyridin-2-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; pyridin-3-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; pyridin-4-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; furan-2-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; furan-3-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; thiofen-2-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; thiofen-3-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; pyrrol-2-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; pyrrol-3-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; pyrrol-4-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; oxazol-3-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; oxazol-4-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; isoxazol-4-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; imidazol-3-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; imidazol-4-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; thiazol-4-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; isothiazol-3-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; isothiazol-4-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát; 1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methyl 3β,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát.

Rozumí se, že jednotlivé výhodné sloučeniny jsou zde zahrnuty i ve formě farmaceuticky přijatelných solí.

Farmaceuticky přijatelnými solemi jsou zejména soli s alkalickými kovy, amonium nebo aminy, nebo adiční soli s kyselinami.

V případě, že je v molekule enantiomerní uhlík, zahrnuje tento vynález také racemáty a opticky aktivní izomery a jejich směsi.

Dále výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou terpenoidní deriváty vybrané ze skupiny zahrnující: 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol, 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino)-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30-[(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3β-hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30-{(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino}-

3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30- $\{(1-[peracetyl\ galaktos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino\}$ -3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30- $\{(1-[glukos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino\}$ -3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30- $\{(1-[galaktos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino\}$ -3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, Methyl 30-(1H-1,2,3-triazol-4-yl-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, Methyl 30-(1H-1,2,3-triazol-4-yl-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, Methyl 30- $\{(1-[peracetyl\ galaktos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy\}$ -3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, 30- $\{(1-[galaktos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy\}$ -3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, Methyl 30-(1H-1,2,3-triazol-4-yl-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, Methyl 30- $\{(1-[peracetyl\ glukos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy\}$ -3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, Methyl 30- $\{(1-[galaktos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy\}$ -3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, 30-1H-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[glukos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-1H-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[glukos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1H-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino)-3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30- $\{(1-[peracetyl\ galaktos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino\}$ -3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30- $\{(1-[galaktos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino\}$ -3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina, Methyl 30-(1H-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino)-3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát, methyl 30- $\{(1-[peracetyl\ galaktos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino\}$ -3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát, methyl 30- $\{(1-[galaktos-1-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino\}$ -3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát, pyridin-2-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, pyridin-3-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, pyridin-4-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, furan-2-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, furan-3-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, thiofen-2-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, thiofen-2-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, and 1,2,3-1H-1,2,3-triazol-4-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mají širokou škálu biologických aktivit, zejména zvyšují životaschopnost nervových buněk, snižují oxidačního stres v živých buňkách, vykazují neuroprotektivní a antiapoptotickou aktivitu, které jsou zvláště užitečné ve farmaceutických aplikacích použitelných k léčbě neurodegenerativních onemocnění a odpovídají spektru účinků požadovaného od látek určených k takové léčbě.

Předkládaný vynález tedy poskytuje sloučeniny podle vynálezu pro použití jako léčiva.

Vynález s výhodou poskytuje sloučeniny obecného vzorce I pro použití při léčbě nebo profylaxi neurodegenerativních onemocnění, zejména vybraných z amyotrofické laterální sklerózy, Parkinsonovy choroby, Alzheimerovy choroby, Huntingtonovy choroby, progresivní supranukleární obrny, kortikobazální degenerace, frontotemporální demence, demence s Lewyho tělísky, multisystémové atrofie, chronické traumatické encefalopatie a spinocerebrální ataxie.

Ve výhodném provedení vynález poskytuje sloučeniny obecného vzorce I pro použití při léčbě a profylaxi Parkinsonovy a Huntingtonovy choroby.

Předkládaný vynález dále poskytuje farmaceutické přípravky obsahující jednu nebo více sloučenin obecného vzorce I společně s alespoň jedním farmaceuticky přijatelným nosičem.

Farmaceutické přípravky

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

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  
 5 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.

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

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  
 15 jako je manitol. Farmaceutické přípravky mohou být sterilizovány a/nebo obsahují pomocné látky, např. konzervační přípravky, stabilizátory, zvlhčovačla 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 suspenze mohou obsahovat  
 20 látky zvyšující viskozitu, jako např. sodnou sůl karboxymethylcelulosity, dextran, polyvinylpyrolidon nebo želatinu.

Olejové suspenze obsahují jako olejovou složku rostlinné, syntetické nebo semisyntetické oleje obvyklé pro injekční účely. Oleje, které zde mohou být zmíněny, jsou obzvláště kapalné estery  
 25 mastných kyselin, které obsahují jako kyselou složku mastnou kyselinu s dlouhým řetězcem majícím 8 až 22, s výhodou pak 12 až 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 přísadkou antioxidantů, např. vitamínu E, beta-karotenu nebo 3,5-di-*terc*-butyl-4-hydroxytoluenu. Alkoholová složka těchto esterů mastných  
 30 kyselin nemá více než 6 uhlíkových atomů a je mono- nebo polyhydričká, např. mono-, di- nebo trihydričké 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, Gattefoseé, Paříž), „Labrafil M 1944 CS“ (nenasycené polyglykolované glyceridy připravené alkoholózou  
 35 oleje z meruňkových jader a složené z glyceridů a esterů polyetylen glykolu; Gattefoseé, Paříž), „Labrasol“ (nasyčené polyglykolované glyceridy připravené alkoholózou TCM a složené z glyceridů a esterů polyetylen glykolu; Gattefoseé, Paříž) a/nebo „Miglyol 812“ (triglycerid nasyčených 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,  
 40 sójový olej a zejména olej z podzemnice olejné.

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

45 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 přísadou dalších neutrálních látek.

50 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 karboxymethylcelulosity a/nebo polyvinylpyrolidin, a/nebo pokud požadováno desintegrátory jako  
 55 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 stearát hořečnatý a/nebo vápenatý, polyetylen glykol nebo jeho deriváty.

- 5 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  
10 celulosových preparátů jako acetylcelulosafthalát nebo hydroxypropylmethylcelulosafthalát. 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  
15 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 kukuričný škrob, pojivy nebo lubrikanty jako talek nebo stearát 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  
20 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  
25 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.

- 30 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, polyetylen glykoly nebo vyšší alkoholy.

- Přípravky vhodné pro parenterální podání jsou vodné roztoky aktivní složky ve formě rozpustné  
35 ve vodě, např. ve vodě rozpustná sůl nebo vodná injekční suspenze, která obsahuje látky zvyšující viskozitu, např. sodnou sůl karboxymethylcelulose, 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,  
40 mohou být použity např. i pro infuzní roztoky. Preferovanými konzervovadly jsou s výhodou antioxidanty jako kyselina askorbová, nebo mikrobicidy kyselina sorbová či benzoová.

- Pěny jsou aplikovány z tlakových nádob a jsou to kapalné emulze oleje ve vodě v aerosolové  
45 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-etanolickou bázi, ke které jsou přimíchána  
50 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 g, s výhodou 0,1 až 0,5 g.

#### Objasnění výkresů

Obr. 1 ukazuje neuroprotektivní účinek nových sloučenin v modelu Parkinsonovy choroby vyvolané salsolinolem. Spolu se sloučeninami podle vynálezu bylo jako pozitivní kontrola použit *N*-acetylcystein (NAC) v koncentracích 10, 100 a 1000  $\mu\text{M}$ . Všechny výsledky jsou uvedeny jako průměr  $\pm$  standardní chyba průměru (SEM) z triplikovaných experimentů ( $n = 3$ ) provedených ve třech nezávislých dnech. ANOVA, Tukey post hoc test; \*, #  $P < 0,05$ ; \*\*, ##  $P < 0,01$ ; \*\*\*, ###  $P < 0,001$ ; \*  $P$  ve srovnání s vehikulem s 800  $\mu\text{M}$  salsolinolem, #  $P$  ve srovnání s vehikulem bez salsolinolu. Hodnota  $P < 0,05$  je považována za statisticky významnou.

Obr. 2 ukazuje protektivní účinky nových sloučenin proti aktivitě kaspázy-3,7 vyvolané salsolinolem. Příklady byly testovány v koncentracích aktivní sloučeniny spolu s pozitivní kontrolou *N*-acetyl cysteinem. Všechny výsledky představují průměr  $\pm$  standardní chybu průměru (SEM) v triplikátech ze dvou nezávislých experimentů.

Obr. 3 zobrazuje neuroprotektivní a astroprotektivní účinek nových sloučenin v modelu Huntingtonovy choroby indukované kyselinou 3-nitropropionovou (3NPA). Spolu se sloučeninami podle vynálezu byly jako pozitivní kontroly použity *N*-acetylcystein (NAC v koncentraci 10, 100 a 1000  $\mu\text{M}$ ) a kyselina *R*-lipoová (*R*-LA, v koncentraci 0,5, 5 a 50  $\mu\text{M}$ ). Všechny výsledky jsou uváděny jako průměr  $\pm$  standardní chyba průměru (SEM) v triplikátech ze tří nezávislých experimentů.

Obr. 4 zobrazuje neuroprotektivní a astroprotektivní účinek nových sloučenin v modelu Huntingtonovy choroby indukované kyselinou 3-nitropropionovou (3NPA) na neuronové buňky SH-SY5Y a astrocyty A-172. Spolu se sloučeninami podle vynálezu byly jako pozitivní kontroly použity *N*-acetylcystein (NAC v koncentracích 10, 100 a 1000  $\mu\text{M}$ ) a kyselina *R*-lipoová (*R*-LA, v koncentracích 0,5, 5 a 50  $\mu\text{M}$ ). Všechny výsledky jsou uvedeny jako průměr  $\pm$  standardní chyba průměru (SEM) v triplikátech ( $n = 3$ ) ve třech (SH-SY5Y) a pěti (A-172) nezávislých opakování.

#### Příklady uskutečnění vynálezu

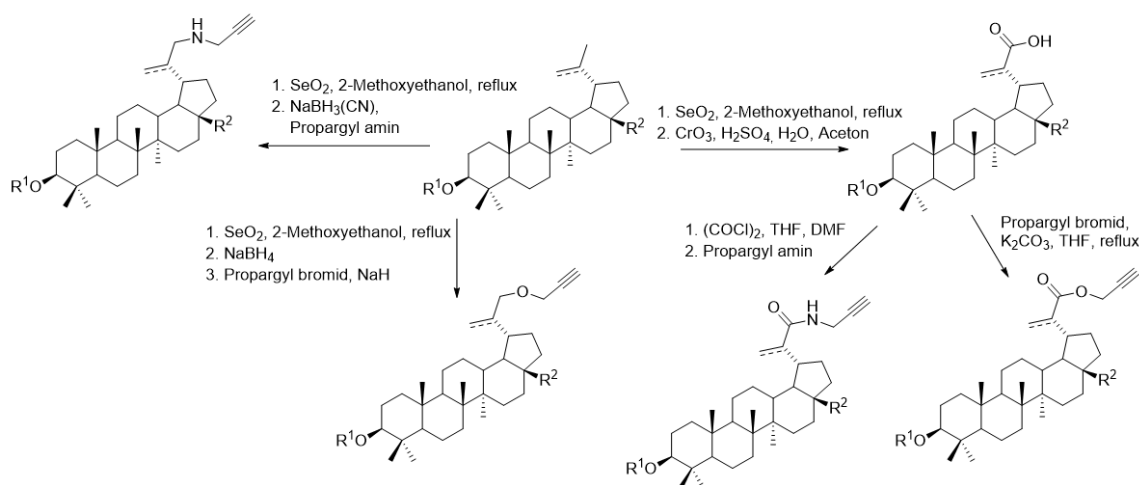
Následující příklady slouží k ilustraci vynálezu bez omezení jeho rozsahu. Pokud není uvedeno jinak, všechna procenta a podobná množství jsou vztažena na hmotnost. Výchozí materiály lze získat z komerčních zdrojů (Sigma, Aldrich, Fluka atd.) nebo je lze připravit níže popsaným způsobem.

Teploty tání byly stanoveny buď pomocí bodotávku Büchi B-545 nebo přístroje STUART SMP30. Infračervená spektra byla měřena na stroji Nicolet Avatar 370 FTIR a zpracována pomocí OMNIC 9.8.372. DRIFT znamená Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform.  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  experimenty byly měřeny na stroji Jeol ECX-500SS (500 MHz for  $^1\text{H}$ ) a Varian<sup>UNITY</sup> Inova 400 (400 MHz pro  $^1\text{H}$ ) s využitím  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  nebo  $\text{THF-d}_8$  jako rozpouštědel (teplota při měření byla 25 °C). Chemické posuny ( $\delta$ ) byly referencovány vůči signálům zbytkových rozpouštědel ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  nebo  $\text{THF-d}_8$ ) a jsou reportovány v ppm. Interakční konstanty ( $J$ ) jsou reportovány v jednotkách Hertz (Hz). NMR spektra byla

interpretována pomocí programů ACD/NMR Processor Academic Edition 12.01, MestReNova 6.0.2-5475 nebo JEOL Delta v5.0.5.1. HRMS byly provedeny na přístroji "LC-MS Orbitrap Elite high-resolution mass spectrometer with electrospray ionization (Dionex Ultimate 3000, Thermo Exactive plus, MA, USA)." Spektra byla zaznamenána jak v pozitivním tak negativním módu a v rozsahu 100 až 1000 *m/z*. Vzorky byly rozpuštěny v MeOH a injektovány do hmotnostního spektrometru prostřednictvím autosampleru připojenému k výstupu z HPLC: předkolona Phenomenex Gemini (C18, 50 × 2 mm, 2.6 μm), isokratická mobilní fáze MeOH/voda/HCOOH 95:5:0.1. Průběh reakcí byl monitorován pomocí TLC na deskách Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck) s detekcí pomocí UV záření (254 nm) a následně postříkáním 10% vodným roztokem H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a zahřátím na 150 °C až 200 °C. Standardní čištění bylo prováděno pomocí kolonové chromatografie na silikagelu 60 (Merck 7734).

Výchozí propargyl deriváty byly připraveny z komerčně dostupných derivátů lupanu podle následného schématu:

15

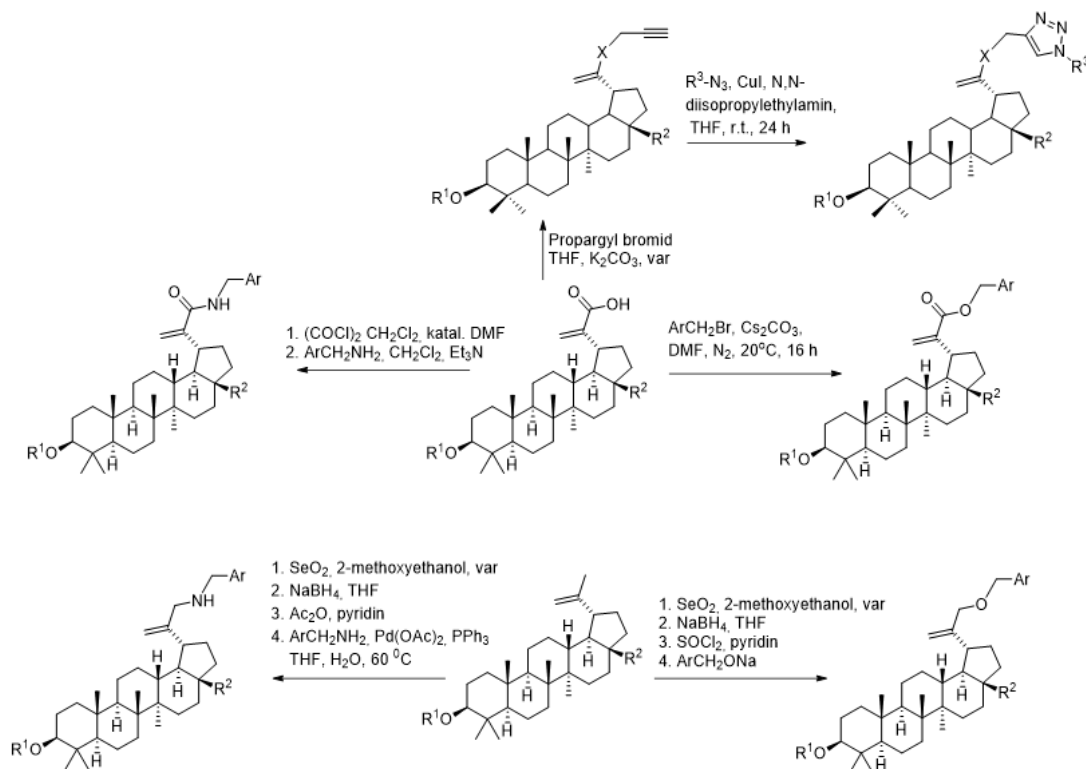


Syntéza substituovaných triazolových konjugátů

20

Některé chráněné molekuly je možno získat podle reakčního schématu:





Ar: Aromatický cyklus, například pyridin, pyrimidin, pyrrol, isoxazol, thiofen, furan, imidazol, thiazol, benzen, atd.

#### A) Huisgenova cykloadice

- 5 Azid (0,34 mmol), CuI (3,3 mg, 0,017 mmol) a *N,N*-diisopropylethylamin (22 mg, 0,17 mmol) byly přidány do roztoku propargylovaného terpenu (0,17 mmol) v THF (5 ml). Bezbarvý roztok bezprostředně změnil barvu do hnědo-zelené, což je znakem, že cykloadiční reakce začíná probíhat. Reakční směs byla dále míchána za pokojové teploty na dalších 24 h a poté byl THF odpařen pomocí sníženého tlaku. Produkt byl dále separován pomocí chromatografie na silikagelu (5 g, cyklohexan/EtOAc 3:1) a tak byly získány čisté triazolové konjugáty, které byly následně krystalizovány ze směsi chloroformu a methanolu, čímž byly získány bílé nebo
- 10 bezbarvé krystaly finálních produktů s průměrným výtěžkem 74 %.

15 Příklad 1: 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát (Sloučenina 1)

Do reakce byla předložena 1-Azido-2,3,4,6-tetraacetyl- $\beta$ -*D*-galaktopyranosa (127 mg, 0,34 mmol) a 30-propargyloxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát (100 mg, 0,17 mmol). Produktem byla bílá pevná látka, sumární vzorec: C<sub>51</sub>H<sub>75</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub>, výtěžek (%): 90 mg, 55 %. Tt: 120 až 126 °C (cyklohexan/EtOAc); IR  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 1751 (C=O), 1628 (C=C). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm: 0,83 (3H, s); 0,84 (6H, s); 0,93 (3H, s); 1,02 (3H, s, 5 × CH<sub>3</sub>); 1,88 (3H, s); 2,01 (3H, s); 2,04 (3H, s); 2,05 (3H, s); 2,06 (3H, s); 2,23 (3H, s, 6 × Ac); 2,77 (1H, td, *J*<sub>1</sub> = 11,2 Hz, *J*<sub>2</sub> = 5,2 Hz, H-19 $\beta$ ); 3,85 (1H, d, *J* = 11,2 Hz); 4,10-4,30 (4H, m); 4,46 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 10,0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 6,0 Hz, H-3 $\alpha$ ); 5,20-5,35 (3H, m); 5,50-5,65 (3H, m, 5 × H - CH<sub>2</sub>O, 1 × H-29 *pro E*); 5,85 (1H, d, *J* = 9,1 Hz, 1 × H - CH<sub>2</sub>O); 6,12 (1H, bs, H-29 *pro Z*); 7,93 (1H, s triazol), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm: 14,58; 15,98; 16,08; 16,45; 18,11; 20,18; 20,25; 20,45; 20,60; 20,65; 20,80; 20,99; 21,28; 23,64; 26,88; 26,96; 27,32; 27,90; 29,74; 30,89; 34,09; 34,19; 37,01; 37,16; 37,75; 38,35; 40,82; 42,59; 46,41; 50,05; 55,32; 57,58; 61,09; 62,55; 66,78; 67,82; 70,71; 74,11; 80,85; 86,31; 119,89; 122,31; 143,46; 145,98; 166,92; 168,93; 169,75; 169,93; 170,25; 170,97; 171,47, HRMS (ESI): *m/z* vypočteno pro C<sub>51</sub>H<sub>75</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub> [M+H]<sup>+</sup> 954,5322, nalezeno 953,5324.

20

25

30

Příklad 2: 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát (Sloučenina 2)

Do reakce byla předložena 1-Azido-2,3,4,6-tetraacetyl- $\beta$ -*D*-glukopyranosa (127 mg, 0,34 mmol) a 30-propargyloxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát (100 mg, 0,17 mmol). Produktem byla bílá pevná látka, sumární vzorec: C<sub>51</sub>H<sub>75</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub>, výtěžek (%): 121 mg, 74 %. Tt: 122 až 126 °C (cyklohexan/EtOAc); IR  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 1732 (C=O); 1635 (C=C). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm: 0,82 (3H, s); 0,83 (6H, s); 0,92 (3H, s); 1,02 (3H, s, 5 × CH<sub>3</sub>); 1,85 (3H, s); 2,02 (3H, s); 2,03 (3H, s); 2,06 (3H, s); 2,08 (3H, s); 2,16 (3H, s, 6 × Ac); 2,76 (1H, td,  $J_1 = 11,5$  Hz,  $J_2 = 5,8$  Hz, H-19 $\beta$ ); 3,86 (1H, td,  $J = 10,8$  Hz); 3,98-4,05 (1H, m); 4,09-4,35 (4H, m); 4,41 (1H, dd,  $J_1 = 10,1$  Hz,  $J_2 = 5,2$  Hz, H-3 $\alpha$ ); 5,20-5,35 (3H, m); 5,42 (2H, m); 5,58 (1H, m); 5,87 (1H, d,  $J = 9,2$  Hz); 6,11 (1H, s); 7,85 (1H, s, triazol), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm: 14,75; 16,14; 16,25; 16,62; 18,12; 20,08; 20,47; 20,50; 20,65; 20,69; 20,80; 20,99; 21,28; 23,64; 26,88; 26,96; 27,37; 27,91; 29,74; 30,89; 34,09; 34,17; 37,01; 37,16; 37,75; 38,34; 40,82; 42,59; 46,41; 50,04; 55,32; 57,67; 61,48; 62,53; 67,64; 70,24; 73,23; 75,38; 81,00; 85,93; 122,20; 122,25; 143,65; 143,81; 167,03; 168,91; 169,45; 170,02; 170,58; 171,12; 171,63, HRMS (ESI):  $m/z$  vypočteno pro C<sub>51</sub>H<sub>73</sub>N<sub>3</sub>O<sub>15</sub> [M+H]<sup>+</sup> 968,5114, nalezeno 968,5131.

Příklad 3: Pyridin-4-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-bis(acetyloxy)lup-20(29)-en-30-oát (Sloučenina 3)

3,28-Bis(acetyloxy)lup-20(29)-en-30-ová kyselina (50 mg, 0,09 mmol) byla rozpuštěna v suchém DMF (2,5 ml). Do reakční směsi byl přidán Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (88 mg, 0,27 mmol) následovaný přidávkem odpovídajícího alkyl bromidu (0,14 mmol) při pokojové teplotě pod dusíkem. Reakční směs byla po 16 hodinovém míchání zředěna vodou, extrahována dichlormethanem, organická fáze byla promyta vodou a vysušena bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, rozpouštědla byla odpařena za vakua. Odparek byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu, eluována směsí hexan/EtOAc. Pyridin-4-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-bis(acetyloxy)lup-20(30)-en-29-oát byl získán jako pevná bílá látka; (hexan/EtOAc); R<sub>f</sub> 0,14 (silikagel, hexan/EtOAc, 3:2), <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm: 0,83 s (3H, Me), 0,837 s (3H, Me), 0,841 s (3H, Me), 0,91 s (3H, Me), 1,02 s (3H, Me), 2,04 s (3H, AcO), 2,07 s (3H, AcO), 2,14-2,22 m (1H), 2,80 td (1H,  $J_1 = 11,3$  Hz,  $J_2 = 5,5$  Hz, H-19), 3,86 d (1H,  $J = 11,0$  Hz, H-28a), 4,26 dd (1H,  $J_1 = 11,0$  Hz,  $J_2 = 1,1$  Hz, H-28b), 4,46 dd (1H,  $J_1 = 10,7$  Hz,  $J_2 = 5,3$  Hz, H-3), 5,19 d (1H,  $J = 13,7$  Hz, CH<sub>a</sub> pyridinyl), 5,24 d (1H,  $J = 13,7$  Hz, CH<sub>b</sub> pyridinyl), 5,65 s (1H, H-30a), 6,20 s (1H, H-30b), 7,26 d (2H<sub>Ar</sub>,  $J = 6,0$  Hz), 8,61 d (2H<sub>Ar</sub>,  $J = 6,0$  Hz), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$ , ppm: 14,7, 16,1, 16,2, 16,6, 18,3, 21,0, 21,1, 21,4, 23,8, 27,1, 27,5, 28,1, 29,8, 29,9, 32,4, 34,3, 34,4, 37,2, 37,3, 37,9, 38,5, 41,0, 42,8, 46,6, 50,2, 51,4, 55,5, 62,7, 64,6, 81,0, 122,0, 124,3, 145,2, 146,3, 150,2, 166,8, 171,1, 171,6, HRMS (ESI): C<sub>40</sub>H<sub>58</sub>NO<sub>6</sub> nalezeno 648,4256 [M+H]<sup>+</sup>; vypočteno 648,4259.

Příklad 4: Pyridin-3-yl-methyl (3 $\beta$ )-3,28-bis(acetyloxy)lup-20(29)-en-30-oát (Sloučenina 4)

Byl využit stejný postup jako v předchozím případě, bylo získáno 31 mg (53%) bílé pevné látky; R<sub>f</sub> 0,18 (silikagel, hexan/EtOAc, 3:2). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ , ppm: 0,83 s (6H, 2Me), 0,84 s (3H, Me), 0,88 s (3H, Me), 1,01 s (3H, Me), 2,04 s (3H, AcO), 2,06 s (3H, AcO), 2,10-2,19 m (1H), 2,76 td (1H,  $J_1 = 11,3$  Hz,  $J_2 = 5,6$  Hz, H-19), 3,84 d (1H,  $J = 11,0$  Hz, H-28a), 4,25 dd (1H,  $J_1 = 11,0$  Hz,  $J_2 = 0,8$  Hz, H-28b), 4,46 dd (1H,  $J_1 = 11,1$  Hz,  $J_2 = 5,0$  Hz, H-3), 5,20 d (1H,  $J = 12,7$  Hz, CH<sub>a</sub>pyridinyl), 5,24 d (1H,  $J = 12,7$  Hz, CH<sub>b</sub>pyridinyl), 5,60 s (1H, H-30a), 6,12 s (1H, H-30b), 7,31 ddd (1H<sub>Ar</sub>,  $J_1 = 7,8$  Hz,  $J_2 = 4,7$  Hz,  $J_3 = 0,6$  Hz), 7,70-7,72 m (1H<sub>Ar</sub>), 8,59 dd (1H<sub>Ar</sub>,  $J_1 = 4,7$  Hz,  $J_2 = 1,4$  Hz), 8,65 d (1H<sub>Ar</sub>,  $J_1 = 1,4$  Hz), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$ , ppm: 14,7, 16,1, 16,2, 16,6, 18,3, 20,9, 21,1, 21,4, 23,8, 27,1, 27,4, 28,1, 29,8, 29,9, 32,2, 34,2, 34,4, 37,2, 37,3, 37,9, 38,5, 41,0, 42,7, 46,6, 50,2, 51,2, 55,5, 62,7, 64,0, 81,0, 123,6, 124,1, 131,9, 136,1, 146,4, 149,8, 149,9, 167,0, 171,1, 171,6, HRMS (ESI): C<sub>40</sub>H<sub>58</sub>NO<sub>6</sub> nalezeno 648,4258 [M+H]<sup>+</sup>; vypočteno 648,4259.

Příklad 5: Furan-2-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetyloxylup-20(29)-en-30-oát (Sloučenina 5)

55

Sloučenina byla připravena obecným postupem z 3,28-bis(acetyloxy)lup-20(29)-en-30-ové kyseliny (50 mg; 0,09 mmol), Ph<sub>3</sub>P (34 mg, 0,13 mmol), furfuryl alkoholu (8 μl, 9 mg, 0,09 mmol) a DIADu (27 μl, 28 mg, 0,14 mmol) v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml). Po vyčištění na sloupcové chromatografii (mobilní fáze hexan/EtOAc 5:1) Sloučenina 5 byla získána jako bílá pevná látka s výtěžkem 46 mg (81%) R<sub>f</sub> 0,41 (silikagel, hexan/EtOAc, 4:1). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ, ppm: 0,83 s (6H, 2Me), 0,84 s (3H, Me), 0,89 s (3H, Me), 1,01 s (3H, Me), 1,75-1,90 m (3H), 2,04 s (3H, AcO), 2,06 s (3H, AcO), 2,09-2,17 m (1H), 2,74 td (1H, J<sub>1</sub> = 11,3 Hz, J<sub>2</sub> = 5,7 Hz, H-19), 3,84 d (1H, J = 11,0 Hz, H-28a), 4,25 dd (1H, J<sub>1</sub> = 11,0 Hz, J<sub>2</sub> = 1,3 Hz, H-28b), 4,46 dd (1H, J<sub>1</sub> = 10,9 Hz, J<sub>2</sub> = 5,3 Hz, H-3), 5,13 d (1H, J = 13,1 Hz, CH<sub>a</sub> furanyl), 5,16 d (1H, J = 13,1 Hz, CH<sub>b</sub> furanyl), 5,55 s (1H, H-30a), 6,08 s (1H, H-30b), 6,37 dd (1H, J<sub>1</sub> = 3,3 Hz, J<sub>2</sub> = 1,9 Hz, H-4'), 6,42 dd (1H, J<sub>1</sub> = 3,3 Hz, J<sub>2</sub> = 0,8 Hz, H-3'), 7,42 dd (1H, J<sub>1</sub> = 1,9 Hz, J<sub>2</sub> = 0,8 Hz, H-5'), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ, ppm: 14,7, 16,1, 16,2, 16,6, 18,3, 20,9, 21,2, 21,4, 23,8, 27,1, 27,2, 28,1, 29,8, 29,9, 32,0, 34,26, 34,33, 37,2, 37,3, 37,9, 38,5, 41,0, 42,8, 46,5, 50,2, 51,0, 55,5, 58,3, 62,8, 81,0, 110,70, 110,74, 124,2, 143,3, 146,3, 149,7, 167,0, 171,1, 171,7, HRMS (ESI): C<sub>39</sub>H<sub>57</sub>O<sub>7</sub> nalezeno 637,4095 [M+H]<sup>+</sup>; vypočteno 637,4099.

**Příklad 6: Thiofen-2-ylmethyl 3β,28-diacetyloxy-lup-20(29)-en-30-oát (Sloučenina 6)**

Byla připravena obecným postupem z 3,28-bis(acetyloxy)lup-20(29)-en-30-ové kyseliny (50 mg; 0,09 mmol), Ph<sub>3</sub>P (34 mg, 0,13 mmol), 2-thiofenemethanolu (10 mg, 0,09 mmol) a DIADu (27 μl, 28 mg, 0,14 mmol) v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml). Po vyčištění pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze hexan/EtOAc 8:1) Sloučenina 6 byla získána jako bílá krystalická látka ve výtěžku 52 mg (88%); R<sub>f</sub> 0,23 (silikagel, hexan/EtOAc, 6:1). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ, ppm: 0,83 s (6H, 2Me), 0,84 s (3H, Me), 0,87 s (3H, Me), 1,01 s (3H, Me), 1,75-1,93 m (3H), 2,04 s (3H, AcO), 2,06 s (3H, AcO), 2,09-2,18 m (1H), 2,75 td (1H, J<sub>1</sub> = 11,5 Hz, J<sub>2</sub> = 5,9 Hz, H-19), 3,84 d (1H, J = 11,0 Hz, H-28a), 4,25 dd (1H, J<sub>1</sub> = 11,0 Hz, J<sub>2</sub> = 0,9 Hz, H-28b), 4,46 dd (1H, J<sub>1</sub> = 10,9 Hz, J<sub>2</sub> = 5,2 Hz, H-3), 5,34 dd (1H, J<sub>1</sub> = 12,9 Hz, J<sub>2</sub> = 0,6 Hz, CH<sub>a</sub> thienyl), 5,37 d (1H, J<sub>1</sub> = 12,9 Hz, J<sub>2</sub> = 0,6 Hz, CH<sub>b</sub> thienyl), 5,56 s (1H, H-30a), 6,10 s (1H, H-30b), 6,99 dd (1H, J<sub>1</sub> = 5,1 Hz, J<sub>2</sub> = 3,5 Hz, H-4'), 7,41 ddt (1H, J<sub>1</sub> = 3,5 Hz, J<sub>2</sub> = 1,2 Hz, J<sub>3</sub> = 0,6 Hz, H-3'), 7,32 dd (1H, J<sub>1</sub> = 5,1 Hz, J<sub>2</sub> = 1,2 Hz, H-5'), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ, ppm: 14,7, 16,1, 16,2, 16,6, 18,3, 20,9, 21,2, 21,4, 23,8, 27,1, 27,3, 28,1, 29,8, 29,9, 32,0, 34,3, 34,4, 37,2, 37,3, 37,9, 38,5, 41,0, 42,8, 46,6, 50,2, 51,1, 55,5, 60,8, 62,8, 81,0, 124,1, 126,91, 126,92, 128,2, 138,2, 146,4, 167,1, 171,1, 171,7, HRMS (ESI): C<sub>39</sub>H<sub>57</sub>O<sub>6</sub>S nalezeno 653,3870 [M+H]<sup>+</sup>; vypočteno, 653,3870.

Tabulka 1. Připravené lupanové deriváty vzorce I, kde A=B=Y = N, m = 1 a ----- je dvojná vazba (Ac = acetyl)

Substituenty					CHN analýza	MS analýza
	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	[%C, %H, %N] [vypočteno/nalezeno]	[M+H] <sup>+</sup>
7	CH <sub>2</sub> O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	H	71,23/71,15, 9,21/9,27, 6,74/6,70	624
8	CH <sub>2</sub> O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH <sub>3</sub>	71,55/71,31, 9,32/9,21, 6,59/6,74	638
9	CH <sub>2</sub> O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	pyridin-3-yl	71,97/71,64, 8,63/8,53, 7,99/8,11	701
10	CH <sub>2</sub> O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	peracetylgluktosyl	64,20/64,02, 7,92/7,54, 4,40/4,14	954
11	CH <sub>2</sub> O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	peracetylgluktosyl	64,20/64,13, 7,92/7,71, 4,40/4,24	954
12	CH <sub>2</sub> O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	gluktosyl	65,71/65,70, 8,59/8,47, 5,35/5,15	786
13	CH <sub>2</sub> O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	gluktosyl	65,71/65,65, 8,59/8,50, 5,35/5,28	786
14	CH <sub>2</sub> O	H	CH <sub>2</sub> OH	H	73,43/73,40, 9,90/10,00, 7,78/7,81	540
15	CH <sub>2</sub> O	H	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	73,74/73,70, 10,01/10,02, 7,59/7,47	554
16	CH <sub>2</sub> O	H	CH <sub>2</sub> OH	pyridin-3-yl	73,99/74,14, 9,15/9,24, 9,08/9,14	617
17	CH <sub>2</sub> O	H	CH <sub>2</sub> OH	peracetylgluktosyl	64,88/64,37, 8,23/8,24, 4,83/4,72	913
18	CH <sub>2</sub> O	H	CH <sub>2</sub> OH	peracetylgluktosyl	64,88/64,66, 8,23/8,08, 4,83/4,55	913

19	CH <sub>2</sub> O	H	CH <sub>2</sub> OH	galaktosyl	66,19/66,17, 8,81/8,74, 5,65/5,41	744
20	CH <sub>2</sub> O	H	CH <sub>2</sub> OH	glukosyl	66,19/66,02, 8,81/9,03, 5,65/5,81	744
21	CH <sub>2</sub> NH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	H	71,35/71,28, 9,39/9,47, 8,99/9,07	623
22	CH <sub>2</sub> NH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH <sub>3</sub>	71,66/71,59, 9,50/9,47, 8,80/8,46	637
23	CH <sub>2</sub> NH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	pyridin-3-yl	72,07/72,35, 8,78/8,69, 10,01/9,87	699
24	CH <sub>2</sub> NH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	peracetylgalaktosyl	64,26/64,23, 8,04/7,85, 5,88/5,92	954
25	CH <sub>2</sub> NH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	peracetylglukosyl	64,26/64,15, 8,04/7,96, 5,88/5,48	954
26	CH <sub>2</sub> NH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	galaktosyl	65,79/65,71, 8,73/8,77, 7,14/7,01	786
27	CH <sub>2</sub> NH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	glukosyl	65,79/65,68, 8,73/8,67, 7,14/7,21	786
28	CH <sub>2</sub> NH	H	CH <sub>2</sub> OH	H	73,56/73,47, 10,10/10,05, 10,40/10,27	539
29	CH <sub>2</sub> NH	H	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	73,87/73,88, 10,21/10,28, 10,13/10,02	553
30	CH <sub>2</sub> NH	H	CH <sub>2</sub> OH	pyridin-3-yl	74,11/74,27, 9,33/9,27, 11,37/11,33	616
31	CH <sub>2</sub> NH	H	CH <sub>2</sub> OH	peracetylgalaktosyl	64,95/64,49, 8,35/8,17, 6,45/6,37	870
32	CH <sub>2</sub> NH	H	CH <sub>2</sub> OH	peracetylglukosyl	64,95/64,73, 8,35/8,54, 6,45/6,54	870
33	CH <sub>2</sub> NH	H	CH <sub>2</sub> OH	galaktosyl	66,83/66,95, 9,20/9,13, 7,99/7,75	701
34	CH <sub>2</sub> NH	H	CH <sub>2</sub> OH	glukosyl	66,83/66,68, 9,20/9,21, 7,99/8,20	701
35	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	H	69,78/69,65, 8,86/8,95, 8,80/8,67	637
36	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH <sub>3</sub>	70,12/70,24, 8,98/9,04, 8,61/8,57	651
37	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	pyridin-3-yl	70,66/70,58, 8,33/8,17, 9,81/9,98	714
38	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	peracetylgalaktosyl	63,34/63,27, 7,71/7,57, 5,79/5,81	968
39	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	peracetylglukosyl	63,34/63,54, 7,71/7,68, 5,79/5,71	968
40	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	galaktosyl	64,64/64,71, 8,33/8,21, 7,01/7,14	799
41	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	glukosyl	64,64/64,57, 8,33/8,38, 7,01/6,94	799
42	CONH	H	CH <sub>2</sub> OH	H	71,70/71,50, 9,48/9,39, 10,14/9,99	553
43	CONH	H	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	72,05/72,13, 9,60/9,38, 9,88/10,03	567
44	CONH	H	CH <sub>2</sub> OH	pyridin-3-yl	72,46/72,27, 8,80/8,79, 11,12/11,07	629
45	CONH	H	CH <sub>2</sub> OH	peracetylgalaktosyl	63,92/63,71, 7,99/7,78, 6,34/6,14	884
46	CONH	H	CH <sub>2</sub> OH	peracetylglukosyl	63,92/63,64, 7,99/7,78, 6,34/6,25	884
47	CONH	H	CH <sub>2</sub> OH	galaktosyl	65,52/65,27, 8,74/8,57, 7,84/8,02	715
48	CONH	H	CH <sub>2</sub> OH	glukosyl	65,52/65,79, 8,74/8,71, 7,84/7,77	715

Substituenty					CHN analýza	MS analýza
	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	[%C, %H, %N] [vypočteno/nalezeno]	[M+H] <sup>+</sup>
49	CH <sub>2</sub> O	Ac	COOH	H	70,56/70,47, 8,97/9,14, 7,05/6,91	596
50	CH <sub>2</sub> O	Ac	COOH	CH <sub>3</sub>	70,90/80,02, 9,09/8,94, 6,89/6,78	610
51	CH <sub>2</sub> O	Ac	COOH	pyridin-3-yl	71,40/71,34, 8,39/8,27, 8,33/8,27	673
52	CH <sub>2</sub> O	Ac	COOH	peracetylgalaktosyl	63,55/63,27, 7,73/7,57, 4,54/4,36	927
53	CH <sub>2</sub> O	Ac	COOH	peracetylglukosyl	63,55/63,64, 7,73/7,55, 4,54/4,23	927
54	CH <sub>2</sub> O	Ac	COOH	galaktosyl	64,97/64,97, 8,38/8,24, 5,54/5,47	758
55	CH <sub>2</sub> O	Ac	COOH	glukosyl	64,97/64,78, 8,38/8,27, 5,54/5,39	758
56	CH <sub>2</sub> O	H	COOH	H	71,57/71,69, 9,28/9,34, 7,59/7,47	554
57	CH <sub>2</sub> O	H	COOH	CH <sub>3</sub>	71,92/72,07, 9,41/9,37, 7,40/7,65	568
58	CH <sub>2</sub> O	H	COOH	pyridin-3-yl	72,35/72,29, 8,63/8,55, 8,88/9,00	631
59	CH <sub>2</sub> O	H	COOH	peracetylgalaktosyl	63,85/63,77, 7,87/7,69, 4,75/4,71	884
60	CH <sub>2</sub> O	H	COOH	peracetylglukosyl	63,85/63,68, 7,87/7,74, 4,75/4,59	884
61	CH <sub>2</sub> O	H	COOH	galaktosyl	64,97/64,79, 8,38/8,17, 5,54/5,47	758

62	CH <sub>2</sub> O	H	COOH	glukosyl	64,97/64,88, 8,38/8,34, 5,54/5,41	758
63	CH <sub>2</sub> NH	Ac	COOH	H	70,55/70,39, 9,30/9,24, 9,40/9,57	595
64	CH <sub>2</sub> NH	Ac	COOH	CH <sub>3</sub>	71,02/70,87, 9,27/9,15, 9,20/9,03	609
65	CH <sub>2</sub> NH	Ac	COOH	pyridin-3-yl	71,50/71,38, 8,55/8,64, 10,42/10,47	672
66	CH <sub>2</sub> NH	Ac	COOH	peracetylgalaktosyl	63,62/63,27, 7,84/7,77, 6,06/6,01	926
67	CH <sub>2</sub> NH	Ac	COOH	peracetylglukosyl	63,62/63,51, 7,84/7,57, 6,06/5,79	926
68	CH <sub>2</sub> NH	Ac	COOH	galaktosyl	65,05/65,17, 8,52/8,24, 7,40/7,51	757
69	CH <sub>2</sub> NH	Ac	COOH	glukosyl	65,05/64,87, 8,52/8,48, 7,40/7,32	757
70	CH <sub>2</sub> NH	H	COOH	H	71,70/71,54, 9,48/9,57, 10,14/10,03	553
71	CH <sub>2</sub> NH	H	COOH	CH <sub>3</sub>	72,05/71,92, 9,60/9,67, 9,88/9,74	567
72	CH <sub>2</sub> NH	H	COOH	pyridin-3-yl	72,46/72,39, 8,80/8,69, 11,12/11,04	630
73	CH <sub>2</sub> NH	H	COOH	peracetylgalaktosyl	63,92/63,78, 7,99/7,74, 6,34/6,34	884
74	CH <sub>2</sub> NH	H	COOH	peracetylglukosyl	63,92/63,79, 7,99/7,71, 6,34/6,28	884
75	CH <sub>2</sub> NH	H	COOH	galaktosyl	65,52/65,71, 8,74/8,71, 7,84/7,88	715
76	CH <sub>2</sub> NH	H	COOH	glukosyl	65,52/65,27, 8,74/8,68, 7,84/7,70	715
77	CONH	Ac	COOH	H	69,05/69,21, 8,61/8,54, 9,20/9,07	609
78	CONH	Ac	COOH	CH <sub>3</sub>	69,42/69,37, 8,74/8,56, 9,00/8,87	623
79	CONH	Ac	COOH	Pyridin-3-yl	70,04/69,95, 8,08/7,87, 10,21/10,17	686
80	CONH	Ac	COOH	peracetylgalaktosyl	62,67/62,57, 7,51/7,13, 5,97/5,76	939
81	CONH	Ac	COOH	peracetylglukosyl	62,67/62,76, 7,51/7,68, 5,97/5,47	939
82	CONH	Ac	COOH	galaktosyl	63,87/63,74, 8,11/7,95, 7,27/7,10	771
83	CONH	Ac	COOH	glukosyl	63,87/63,81, 8,11/8,20, 7,27/7,14	771
84	CONH	H	COOH	H	69,93/70,05, 8,89/8,76, 9,89/9,99	567
85	CONH	H	COOH	CH <sub>3</sub>	70,31/70,27, 9,02/8,88, 9,65/9,74	581
86	CONH	H	COOH	pyridin-3-yl	70,89/70,78, 8,30/8,17, 10,88/10,97	644
87	CONH	H	COOH	peracetylgalaktosyl	62,93/62,74, 7,64/7,71, 6,25/6,11	897
88	CONH	H	COOH	peracetylglukosyl	62,93/62,91, 7,64/7,27, 6,25/6,38	897
89	CONH	H	COOH	galaktosyl	64,26/64,10, 8,30/8,14, 7,69/7,74	729
90	CONH	H	COOH	glukosyl	64,26/64,33, 8,30/8,17, 7,69/7,47	729

Substituenty					CHN analýza	MS analýza
	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	[%C, %H, %N] [calc./found]	[M+H] <sup>+</sup>
91	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	H	69,67/69,71, 8,69/8,68, 6,59/6,54	638
92	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH <sub>3</sub>	70,01/70,03, 8,81/8,84, 6,45/6,39	652
93	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	Pyridin-3-yl	70,56/70,45, 8,18/8,23, 7,84/8,00	715
94	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	peracetylgalaktosyl	63,27/63,27, 7,60/7,51, 4,34/4,37	968
95	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	peracetylglukosyl	63,27/63,29, 7,60/7,64, 4,34/4,30	968
96	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	galaktosyl	64,56/64,48, 8,19/8,17, 5,25/5,20	800
97	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	glukosyl	64,56/64,50, 8,19/8,24, 5,25/5,23	800
98	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	H	71,57/71,59, 9,28/9,30, 7,59/7,54	554
99	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	71,92/72,01, 9,41/9,42, 7,40/7,47	568
100	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	Pyridin-3-yl	72,35/72,31, 8,63/8,57, 8,88/8,97	631
101	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	peracetylgalaktosyl	63,85/63,79, 7,87/7,75, 4,75/4,70	884
102	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	peracetylglukosyl	63,85/63,77, 7,87/7,89, 4,75/4,81	884
103	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	galaktosyl	65,43/65,47, 8,59/8,47, 5,87/5,77	716

104	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	glukosyl	65,43/65,40, 8,59/8,54, 5,87/5,91	716
105	C(O)O	Ac	COOH	H	68,94/68,91, 8,43/8,55, 6,89/6,78	610
106	C(O)O	Ac	COOH	CH <sub>3</sub>	69,31/69,30, 8,56/8,61, 6,74/6,69	624
107	C(O)O	Ac	COOH	Pyridin-3-yl	69,94/71,38, 7,92/7,88, 8,16/8,27	687
108	C(O)O	Ac	COOH	peracetylgalaktosyl	62,60/62,51, 7,40/7,52, 4,47/4,54	940
109	C(O)O	Ac	COOH	peracetylglukosyl	62,60/62,47, 7,40/7,41, 4,47/4,60	940
110	C(O)O	Ac	COOH	galaktosyl	63,79/63,87, 7,97/7,84, 5,44/5,34	772
111	C(O)O	Ac	COOH	glukosyl	63,79/63,87, 7,97/7,84, 5,44/5,34	772
112	C(O)O	H	COOH	H	71,70/71,54, 9,48/9,57, 10,14/10,03	553
113	C(O)O	H	COOH	CH <sub>3</sub>	70,19/70,24, 8,84/8,78, 7,22/7,31	582
114	C(O)O	H	COOH	Pyridin-3-yl	70,78/70,69, 8,13/8,15, 8,69/8,58	645
115	C(O)O	H	COOH	peracetylgalaktosyl	62,86/62,78, 7,52/7,49, 4,68/4,57	898
116	C(O)O	H	COOH	peracetylglukosyl	62,86/62,80, 7,52/7,51, 4,68/4,59	898
117	C(O)O	H	COOH	galaktosyl	64,18/64,23, 8,15/8,07, 5,76/5,68	730
118	C(O)O	H	COOH	glukosyl	64,18/64,09, 8,15/8,21, 5,76/5,90	730

Tabulka 2, Připravené lupanové deriváty vzorce I, kde ----- je dvojná vazba a R<sup>3</sup> je H (Ac = acetyl)

	Substituenty			Heteroatomy				m	CHN analýza [%C, %H, %N] [calc./found]	MS analýza [M+H] <sup>+</sup>
	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	A	B	Y				
119	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	NH	CH	CH	1	73,67/73,55, 9,04/9,14, 2,20/2,09	636	
120	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH	N	CH	1	73,67/73,68, 9,04/9,09, 2,20/2,22	636	
121	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH	S	CH	1	71,74/71,65, 8,65/8,58	653	
122	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	N	S	CH	1	69,80/69,75, 8,48/8,54, 2,14/2,04	654	
123	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	N	CH	S	1	69,80/69,81, 8,48/8,59, 2,14/2,25	654	
124	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	N	NH	CH	1	71,67/71,50, 8,86/8,74, 4,40/4,51	637	
125	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	N	O	CH	1	71,55/71,48, 8,69/8,74, 2,20/2,04	638	
126	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	N	CH	N	2	72,19/72,27, 8,70/8,59, 4,32/4,28	649	
127	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH	CH	CH	2	76,12/76,14, 9,04/9,12,	647	
128	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	N	CH	CH	2	74,15/74,06, 8,87/8,92, 2,16/2,24	648	
129	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH	N	CH	2	74,15/74,12, 8,87/8,96, 2,16/2,08	648	
130	C(O)O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH	CH	N	2	74,15/74,15, 8,87/8,65, 2,16/2,04	648	
131	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	N	CH	NH	1	73,87/73,69, 9,48/9,56, 5,07/5,14	553	
132	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	CH	NH	CH	1	76,18/76,20, 9,68/9,59, 2,54/2,65	552	
133	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	CH	S	CH	1	73,90/73,78, 9,21/9,14	569	
134	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	N	CH	S	1	71,66/71,54, 9,02/8,88, 2,46/2,27	570	
135	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	N	CH	N	2	74,43/74,39, 9,28/9,01, 4,96/5,07	565	
136	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	N	CH	CH	2	76,69/76,54, 9,48/9,34, 2,48/2,51	564	
137	C(O)O	H	CH <sub>2</sub> OH	CH	N	CH	2	76,69/76,60, 9,48/9,52, 2,48/2,30	564	
138	C(O)O	Ac	COOH	CH	NH	CH	1	73,11/72,98, 8,79/8,65, 2,30/2,25,	608	
139	C(O)O	Ac	COOH	CH	S	CH	1	71,12/71,21, 8,39/0,14	625	
140	C(O)O	Ac	COOH	N	S	CH	1	69,09/68,98, 8,21/8,07, 2,24/2,05	626	
141	C(O)O	Ac	COOH	N	CH	S	1	69,09/69,00, 8,21/8,27, 2,24/2,14	626	

142	C(O)O	Ac	COOH	N	CH	N	2	71,58/71,49, 8,44/8,24, 4,51/4,29	621
143	C(O)O	Ac	COOH	N	CH	CH	2	73,63/73,59, 8,62/8,76, 2,26/2,07	620
144	C(O)O	Ac	COOH	CH	N	CH	2	73,63/73,63, 8,62/8,54, 2,26/2,30	620
145	C(O)O	H	COOH	CH	NH	CH	1	74,30/74,05, 9,09/8,94, 2,48/2,39	566
146	C(O)O	H	COOH	CH	S	CH	1	72,13/72,01, 8,65/8,54	583
147	C(O)O	H	COOH	N	S	CH	1	69,95/70,09, 8,46/8,67, 2,40/2,39	584
148	C(O)O	H	COOH	N	CH	S	1	69,95/70,11, 8,46/8,38, 2,40/2,51	584
149	C(O)O	H	COOH	N	CH	N	2	72,63/72,56, 8,71/8,65, 4,84/4,94	579
150	C(O)O	H	COOH	N	CH	CH	2	74,83/74,68, 8,90/8,70, 2,42/2,38	578
151	C(O)O	H	COOH	CH	N	CH	2	74,83/74,80, 8,90/8,94, 2,42/2,47	578
152	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH	NH	CH	1	73,78/73,69, 9,21/9,41, 4,41/4,29	635
153	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH	S	CH	1	71,85/71,93, 8,81/8,68, 2,15/2,21	652
154	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	N	S	CH	1	69,90/69,87, 8,65/8,67, 4,29/4,14	653
155	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	N	CH	S	1	69,90/69,99, 8,65/8,48, 4,29/4,33	653
156	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	N	CH	N	2	72,30/72,18, 8,87/8,76, 6,49/6,31	648
157	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	N	CH	CH	2	74,27/74,18, 9,04/8,97, 4,33/4,51	647
158	CONH	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH	N	CH	2	74,27/74,32, 9,04/9,13, 4,33/4,41	647
159	CH <sub>2</sub> O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH	S	CH	1	73,31/73,28, 9,15/9,21	638
160	CH <sub>2</sub> O	Ac	CH <sub>2</sub> OAc	CH	N	CH	2	75,79/75,68, 9,38/9,38, 2,21/2,24	634
161	CH <sub>2</sub> NH	H	CH <sub>2</sub> OH	CH	S	CH	1	75,90/75,92, 10,01/10,13, 2,53/2,48	554
162	CH <sub>2</sub> NH	H	CH <sub>2</sub> OH	CH	N	CH	2	78,78/78,91, 10,28/10,26, 5,10/5,03	549
163	CH <sub>2</sub> O	H	COOH	CH	N	CH	2	76,69/76,67, 9,48/9,52, 2,48/2,50	564
164	CH <sub>2</sub> O	H	COOH	CH	S	CH	1	73,90/73,93, 9,21/9,28	569

## Příklad 7: Cytotoxicita nových sloučenin pro neuronální buňky

Lidská buněčná neuroblastomová linie SH-SY5Y získaná z ECACC (Evropská sbírka ověřených buněčných kultur) byla kultivována v Dulbekově modifikovaném Eaglově médiu a Hamově výživové směsi F12 (DMEM: F-12, 1: 1), doplněné 10% fetálním hovězím sérem (FBS) a 1% penicilinem a streptomycinem při 37 °C v atmosféře 5% CO<sub>2</sub> s 95% vlhkostí v limitu pasáže do ECACC + 20. Test byl proveden v 96-jamkové mikrodestičce s 7000 buňkami SH-SY5Y na jamku. Další den byla přidána *all-trans* retinová kyselina v koncentraci 10 μM a buňky byly ponechány diferenciovat 48 hodin. Po 48 hodinách bylo staré médium DMEM/F12 vyměněno čerstvým médiem obsahujícím testované sloučeniny v koncentracích 0,1, 1 a 10 μM po dobu 24 hodin. Gliální buněčná linie A-172 zakoupená od ATCC byla kultivována za stejných podmínek jako buněčná linie SH-SY5Y. Buňky A-172 byly nasety v hustotě 2000 buněk na jamku, a kultivační médium bylo nahrazeno testovacím médiem obsahujícím testované sloučeniny v koncentraci 0,1, 1 a 10 μM; nebo ve vyšších koncentracích pro pozitivní kontroly R-LA nebo NAC po dobu 48 hodin. Všechny testované sloučeniny rozpuštěné v DMSO byly přidány do média. Maximální koncentrace DMSO v médiu byla udržována pod 0,1% (obj./obj.). Životaschopnost buněk byla měřena testem Calcein AM (1 mg/ml ThermoFisher). Roztok Calceinu AM v PBS (0,75 μM) byl pipetován do buněk a inkubován po dobu 50 minut. Poté byla měřena fluorescence při 488/517 nm (excitace / emise) pomocí mikrodestičkového readeru Infinite M200 (TECAN). Stanovení Calcein AM je založeno na štěpení intracelulárně-esterázového barviva nefluorescenčního barviva (Calcein AM) živými buňkami na fluorescenční barvivo (Calcein), zatímco umírající buňky tuto schopnost ztrácejí. Hodnoty v tabulce 2 ukazují % životaschopnosti ve srovnání s kontrolou pro všechny testované sloučeniny. Výsledky kontroly DMSO (médium s DMSO, <0,1% (obj./obj.)) Byly postulovány jako 100% životaschopnost (viz první řádek tabulky 2). Jak je uvedeno v tabulce 2, ukázalo se, že všechny deriváty neindukují

snížení životaschopnosti v buňkách podobných neuronům, zatímco u astrocytů sloučeniny **3** a **4** společně s 1000  $\mu\text{M}$  NAC vykazovaly mírné snížení procenta živých buněk.

5 Tabulka 2. Cytotoxicita studovaných pentacyklických triterpenů a pozitivních kontrol N-acetyl cysteinu (NAC) a R-lipoové kyseliny (R-LA) na neuronálních SH-SY5Y a gliových A-172 buňkách. Data jsou vyjádřena jako procenta DMSO kontroly; průměr  $\pm$  SEM z dvou nezávislých experimentů.

sloučenina	Neuronální SH-SY5Y buňky						gliové A-172 buňky					
	0,1 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	1 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	10 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	0,1 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	1 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	10 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM
<b>3</b>	115,8	2,78	145,0	3,10	137,4	1,82	95,5	3,74	98,2	2,43	71,7	1,07
<b>4</b>	99,9	3,52	146,1	3,28	142,5	2,89	104,2	2,80	97,9	2,62	83,6	4,86
<b>5</b>	91,9	4,05	106,4	3,84	129,5	3,32	96,6	3,56	100,0	2,41	90,8	2,40
<b>6</b>	92,1	4,39	96,2	5,01	113,5	1,69	99,9	1,09	98,4	3,11	96,2	4,64
NAC	10 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	100 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	1000 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	10 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	100 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	1000 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM
	92,7	3,68	97,5	3,70	101,5	5,25	102,9	2,65	96,6	5,86	83,0	3,69
R-Lipoová kyselina	0,5 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	5 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	50 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	0,5 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	5 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	50 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM
	107,1	3,21	100,9	3,06	95,2	2,25						

10

<sup>a</sup>životaschopnost je vyjádřena jako průměr  $\pm$  SEM (směrodatná odchylka), sloučeniny byly testovány v triplicátech ve dvou nezávislých experimentech.

15

Příklad 8: Testy životaschopnosti na buněčné linii lidského neuroblastomu SH-SY5Y (diferencovaný fenotyp)

20

Podobně jako v předchozím „Testu bezpečnosti“ byly buňky SH-SY5Y nasety v hustotě 7000 buněk/jamku. Po 48 hodinové diferenciaci bylo staré 1% médium DMEM / F12 nahrazeno čerstvým médiem obsahujícím 800  $\mu\text{M}$  salsolinolu (SAL) a testované sloučeniny v koncentracích 0,1, 1 a 10  $\mu\text{M}$ . Jako pozitivní kontrola byl vybrán *N*-acetylcystein. Po 24 hodinách byla životaschopnost buněk měřena testem Calcein AM. Hodnoty v tabulce 3 ukazují % životaschopnosti všech testovaných sloučenin ve srovnání s kontrolou. Kontrola (médium s DMSO, <0,1% (v/v)) byla postulována jako 100% životaschopnost, zatímco expozice SAL vedla ke snížení životaschopnosti na 65,4  $\pm$ 0,97%. NAC (1000  $\mu\text{M}$ , 81,54  $\pm$ 1,59%) prokázal silné ochranné účinky, které byly v těsné korelaci s publikovanými údaji z literatury (Wanpen et al., Brain Res. 2004, 1005, 67). Jak je uvedeno v tabulce 2, deriváty 3 až 5 vykazovaly silný neuroprotektivní účinek na neuronální buňky SH-SY5Y. Celkově vykazovaly deriváty triterpenů **3**, **4** a **5** lepší účinek než 1 000  $\mu\text{M}$  NAC a měly vyšší účinnost, pokud jde o aktivní koncentrace.

30

Tabulka 3. Účinek nových pentacyklických triterpenů a pozitivní kontroly N-acetyl cysteinu (NAC) na životaschopnost lidských neuroblastomové buněčné linie SH-SY5Y na salsolinolem indukovaném modelu PD.



Sloučenina	Neuroprotektivní efekt (% kontroly)			p hodnota
	10 $\mu\text{M}$	100 $\mu\text{M}$	1000 $\mu\text{M}$	
NAC	N/A	N/A	16,15	>0,001
	<b>0,1 <math>\mu\text{M}</math></b>	<b>1 <math>\mu\text{M}</math></b>	<b>10 <math>\mu\text{M}</math></b>	
<b>3</b>	N/A	33,10	21,50	>0,001
<b>4</b>	N/A	33,70	33,99	>0,001
<b>5</b>	N/A	N/A	18,96	>0,001
<b>6</b>	N/A	N/A	7,38	n.s.

N/A = žádná protekce; Data jsou vyjádřena jako rozdíly mezi průměry skupin 800  $\mu\text{M}$  SAL a co-aplikace (sloučeniny) s signifikancemi po statistické analýze (ANOVA, Tukeyho post hoc test).

5

Příklad 9: Vliv nových pentacyklických triterpenů a pozitivní kontroly N-acetylcysteinu (NAC) na aktivitu kaspáz-3,7 v modelu PD indukovaném salsolinolem na lidské neuroblastomové buněčnou linii SH-SY5Y.

- 10 Podobně, jak je ukázáno v předchozím testu, buňky rostly na 96-jamkových destičkách v hustotě 20 000 buněk na jamku, prošly diferenciací a testováním pro salsolinolový model. Po 24-hodinové co-aplikaci salsolinolem byla aktivita kaspáz-3,7 (kasp-3,7) jako markeru apoptózy kvantifikována jeho substrátem Ac-DEVD-AMC podle Carrasco et al. (2003, BioTechniques, 34, 1064-1067). V tomto modelu byla celková aktivita casp-3,7 indukovaná 800  $\mu\text{M}$  SAL
- 15 považována za 100%, a tak bylo pozorováno snížení kasp-3,7 po léčbě ochrannými terpenoidními deriváty. Jak ukazuje tabulka 4 a obr. 2, 800  $\mu\text{M}$  SAL vyvolalo 2,9-násobné zvýšení kaspáz. Ještě důležitější je, že nové sloučeniny při 10  $\mu\text{M}$  vykazovaly srovnatelné (sloučenina **3**) nebo lepší (**4**) snížení aktivity kaspázy-3,7 než NAC. Další deriváty jako **5** a **6** také vykazovaly pozitivní účinek na aktivitu casp-3,7. Dohromady všechny příklady ukázaly redukcující účinek na aktivitu kasp-
- 20 3,7. Zejména deriváty **3**, **4** a **5** vykazovaly lepší účinnost než NAC pozitivní kontrola kvůli jejich nižší použité koncentraci (10krát účinnější než pozitivní kontrola).

25 Tabulka 4. Účinek nových pentacyklických triterpenů a pozitivní kontroly N-acetylcysteinu (NAC) na aktivitu kaspázy-3,7 indukovanou salsolinolem (SAL). Data jsou vyjádřena jako procenta kontroly (800  $\mu\text{M}$  SAL), průměr  $\pm$  SEM z alespoň dvou nezávislých experimentů.

Aktivita kaspáz-3,7 (% snížení)				
	průměr		$\pm$ SEM	
DMSO kontrola	34,19		2,49	
SAL (800 $\mu\text{M}$ )	100,00		3,14	
Sloučenina	1 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	10 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM
<b>3</b>	73,7	3,88	55,6	2,16
<b>4</b>	67,2	2,87	46,0	2,67
<b>5</b>	86,8	8,52	76,5	6,12
<b>6</b>	93,2	5,74	88,3	5,58
NAC	100 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM	1000 $\mu\text{M}$	$\pm$ SEM
	60,4	1,08	55,2	3,19

Příklad 10: Účinek nových pentacyklických triterpenů a pozitivní kontroly *N*-acetylcysteinu (NAC) v modelu Huntingtonovy choroby indukované kyselinou 3-nitropropionovou (3NPA) na lidské buňky SH-SY5Y podobné neuronům a buňky gliové A-172.

5

Před aplikací toxinu 3-nitropropionové kyseliny (3NPA) pro modelování Huntingtonovy choroby byl 3NPA rozpuštěn ve vodě a neutralizován hydroxidem sodným. Buňky SH-SY5Y byly vysety ve stejné hustotě a diferencovány výše uvedeným postupem. Astrocytální buňky A-172 byly také vysety, jak je popsáno v předchozí části. Obě buněčné linie byly společně ošetřeny 3NPA (20 mM pro buňky SH-SY5Y, 10 mM pro buňky A-172) a testované sloučeniny v koncentraci 0,1, 1 a 10  $\mu\text{M}$  po dobu 48 hodin. Jako pozitivní kontroly byly použity NAC (buněčná linie SH-SY5Y) a kyselina R-lipoová (R-LA). Jak je uvedeno v tabulce 5, všechny deriváty vykazovaly neuroprotektivní účinek na buňky SH-SY5Y mírně nižší než 100  $\mu\text{M}$  NAC, avšak při mnohem nižších koncentracích. Na rozdíl od NAC vykazovaly sloučeniny **3** a **5** pozitivní účinek srovnatelný s kontrolou R-LA, známým protektivní látkou pro astrocyty (Molinari *et al.*, Oxid. Med. Cell. Longev. 2019, 2019, 2843121). Celkově vzato, deriváty triterpenů prokázaly vyšší účinnost při léčbě PD a HD (model salsolinol) než pozitivní kontrolní NAC kvůli ochranné aktivitě jak na neuronální, tak na astrocytální buněčné linie při nižších mikromolárních koncentracích.

20

Tabulka 5. Protektivní účinek nových pentacyklických triterpenů a pozitivních kontrol *N*-acetylcysteinu (NAC) a kyseliny R-lipoové (R-LA) v *in vitro* modelech Huntingtonovy choroby na lidských neuronálních SH-SY5Y a astrocytálních A-172 buňkách. N/A = žádná protekce; Data jsou vyjádřena jako rozdíly mezi průměrem 20 mM 3NPA (SH-SY5Y) a 10 mM 3NPA (A-172) a skupinami ko-treatmentů (sloučeniny) ze tří (SH-SY5Y) nebo alespoň ze čtyř (A-172) nezávislých experimentů v triplikátech.

25

Sloučeniny	Neuronální SH-SY5Y buňky			Astrocytální A-172 buňky		
	Neuro-protektivní efekt (% kontroly)			Astro-protektivní efekt (% kontroly)		
	10 $\mu\text{M}$	100 $\mu\text{M}$	1000 $\mu\text{M}$	0,5 $\mu\text{M}$	5 $\mu\text{M}$	50 $\mu\text{M}$
NAC	N/A	51,35	65,72	N/A	N/A	N/A
R-LA				N/A	13,27	14,87
	0,1 $\mu\text{M}$	1 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$	0,1 $\mu\text{M}$	1 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$
<b>3</b>	N/A	39,96	24,13	N/A	11,98	N/A
<b>4</b>	N/A	32,36	28,98	7,38	3,25	N/A
<b>5</b>	N/A	N/A	20,63	N/A	12,87	14,05
<b>6</b>	N/A	N/A	20,53	4,27	4,57	7,45

Příklad 11: Měření oxidačního stresu (OS) na lidské neuroblastomové buněčné linii SH-SY5Y 3NPA- indukovaný model Huntingtonovy choroby

30

Podobně jako v předchozím testu, buňky pěstované na 96-jamkových destičkách v hustotě 20 000 buněk na jamku prošly v tomto modelu diferenciací a intoxikací kyselinou 3-nitropropionovou (3NPA). Po 24 hodinách intoxikace 20 mM 3NPA, byla kvantifikována tvorba superoxidového radikálu jako markeru oxidačního stresu dihydroethidiem (DHE) podle Kim *et al.* (2017, J. Med. Food, 20, 140 až 151). Stručně, neuronální buňky SH-SY5Y byly centrifugovány při 500 g po dobu 5 min a 30 s, poté bylo médium nahrazeno 10  $\mu\text{M}$  roztokem DHE v fosfátovém pufru (PBS) a udržováno při pokojové teplotě po dobu 30 min. Poté bylo DHE měřeno při 500 nm/580 nm (excitace/emise) mikrodestičkovým readerem Infinite M200 Pro (Tecan). DHE je barvivo propustné pro buňky, které je selektivní pro detekci superoxidových radikálů. Celkový oxidativní stres dosažený 20 mM 3NPA byl považován za 100%, tudíž snížení tvorby superoxidových radikálů bylo stanoveno (OS-snižující účinek). Jak ukazuje tabulka 6 a

40

obr. 4, 20 mM 3NPA vyvolalo 2,7-násobné zvýšení tvorby superoxidových radikálů. Při 10  $\mu$ M vykazovaly všechny nové terpenoidní deriváty srovnatelný OS snižující účinek jako 100  $\mu$ M NAC, kromě sloučeniny **3**, která vykazovala i silnější aktivitu vůči oxidačnímu stresu. Závěrečně lze konstatovat, že všechny testované sloučeniny vykazovaly vyšší účinnost než pozitivní kontrola v koncentracích zodpovědných za aktivitu snižující OS (všechny sloučeniny byly 10krát účinnější než pozitivní kontrola).

Tabulka 6. Snižování oxidačního stresu (OS) pomocí nových pentacyklických triterpenů a pozitivní kontroly *N*-acetylcysteinu (NAC) v *in vitro* modelu Huntingtonovy choroby na neuronálních buňkách SH-SY5Y po 24 hodinách. Jako kontrola je použit DMSO (označeno DMSO CTR)

Tvorba superoxidových radikálů (oxidativní stress) %						
	průměr			±SEM		
DMSO CTR	37,08			1,14		
3-NPA 20mM	100			2,50		
Sloučenina	0,1 $\mu$ M	±SEM	1 $\mu$ M	±SEM	10 $\mu$ M	±SEM
<b>3</b>	88,4	4,92	79,0	3,48	81,9	2,11
<b>4</b>	84,7	6,37	78,5	4,46	65,8	5,63
<b>5</b>	94,1	3,93	87,3	3,86	87,1	3,54
<b>6</b>	92,2	6,37	89,9	4,46	88,0	5,63
NAC	10 $\mu$ M	±SEM	100 $\mu$ M	±SEM	1000 $\mu$ M	±SEM
	79,6	5,99	79,7	8,18	48,5	2,84

#### Příklad 12 – Farmaceutické přípravky

Farmaceutické přípravky pro obvykle obsahují 0,1 až 99 % z hmotnosti, obzvláště 0,1 až 95 % hmotnosti, účinných látek obsahujících terpenoidní 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. Tyto prostředky mohou také obsahovat další přísady, jako jsou stabilizátory, činidla proti pění, například silikonový olej, konzervační látky, regulátory viskozity, pojidla, látky způsobující lepivost anebo jiné aktivní složky. Výhodné formulace mají zejména následující složení: (% = hmotnostní procenta):

#### F1: Suspenzní koncentrát

	a)	b)	c)	d)
Aktivní složka	3%	10%	25%	50%
ethylen glykol	5%	5%	5%	5%
nonylfenol polyglykol ether (15 mol ethylen oxid)	-	1%	2%	-
lignosulfonát sodný	3%	3%	4%	5%
karboxymethylcelulosa	1%	1%	1%	1%
emulze silikonového oleje	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%
voda	87%	79%	62%	38%

Jemně rozemletá aktivní složka je smíchána s pomocnými látkami. Vzniklý suspenzní koncentrát umožňuje přípravu suspenze o požadované koncentraci zředěním vodou.

## F2: Suché kapsle

5 5000 Tobolek, z nichž každá obsahuje 0,25 g terpenoidního derivátu, se připraví následujícím způsobem:

Složení: derivát: 1250 g; talek 180 g; pšeničný škrob: 120 g; stearát hořečnatý: 80 g; laktóza 20 g.

10 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.

## F3: Měkké tobolky

15 5000 měkkých želatinových tobolek, z nichž každá obsahuje 0,05 g terpenoidního derivátu jako účinnou látku, se připraví následujícím způsobem:

Složení: 250 g účinná látka + 2l g Lauroglycol

20 Postup přípravy: Prášková aktivní složka je suspendována v Lauroglykol<sup>®</sup> (propylenglykol laurát, Gattefossé SA, Saint Priest, Francie) a rozetřena 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.

## F4: Měkké tobolky

25

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

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

30

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 rozetřena ve vlhkém pulverizátoru na velikost částic asi 1 až 3 mm. Dávka o velikosti 0,43 g směsi je potom přenesena  
35 do měkkých želatinových tobolek pomocí přístroje na plnění tobolek.

## Příklad 13 – Formulace tablety s řízeným uvolňováním

40 Jedna tableta obsahuje například 300 až 350 mg terpenoidního derivátu jako účinnou látku. Pomocná látka se známým účinkem: Jedna tableta obsahuje 150 až 200 mg retardující složky (Methocel, Parateck<sup>®</sup> SRP 80, Kollidon<sup>®</sup> SR, Kollidon 25, chitosan, alginát), dále lubrikantu (stearát hořečnatý), účinné látky (VH), pojiva (Prosolv SMCC 90). Lékovou formou je tableta s řízeným uvolňováním.

45 Příprava tabletoviny: Tablety jsou připraveny přímým lisováním. Nejprve je naváženo vypočtené množství retardující složky (Methocel, Parateck<sup>®</sup> SRP 80, Kollidon<sup>®</sup> 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  
50 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 ±5 mg.

*Hydrofilní matricové tablety s hypromelózou*

55

Tablety jsou připraveny metodou přímého lisování dle postupu uvedeného výše.

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

<b>Formulace</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
Prosolv SMCC 90	49%	49%	49%
Methocel K4M	-	30%	-
Methocel K15M	30%	-	-
Methocel K100M	-	-	30%
Účinná látka	20%	20%	20%
Stearát hořčnatý	1%	1%	1%

5

*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 %:

10

<b>Formulace</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>	<b>F5</b>
Prosolv® SMCC 90	49%	49%	49%	49%	49%
Kollidon 25	30%	20%	10%	-	-
Kollidon® SR	-	-	-	30%	-
Parateck® SRP 80	-	-	-	-	30%
Účinná látka	20%	30%	40%	20%	20%
Stearát hořčnatý	1%	1%	1%	1%	1%

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

Tablety jsou připraveny metodou přímého lisování dle postupu uvedeného výše.

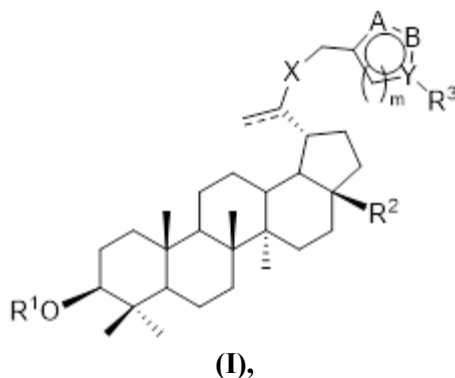
15

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

<b>Formulace</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>
LubriTose™ MCC	50%	50%
Methocel K15M	30%	-
Methocel K4M	-	30%
Účinná látka	20%	20%

## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Terpenoidní derivát obecného vzorce **I**,



5

ve kterém

----- je jednoduchá nebo dvojná vazba;

X je vybráno z  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$

A, B a Y jsou vzájemně nezávisle vybrané ze skupiny, kterou tvoří CH, C, N, NH, O, S;

10

$m = 1, 2$  nebo  $3$ ;

$\text{R}^1$  je vybrán z H-,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $n = 0$  až  $5$ ;

$\text{R}^2$  je vybrán ze skupiny  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{COO}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$  a  $-\text{COO}(\text{CH}_2)\text{Ph}$ , kde  $n = 0$  až  $5$ ;

15

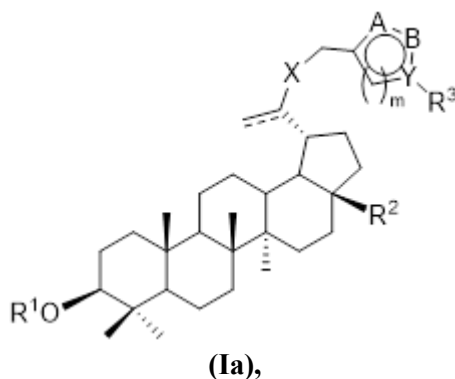
$\text{R}^3$  je vybrán ze skupiny H; C1-C6 alkyl; C6-C12 aryl; heteroaryl obsahující 5 až 8 atomů, s výhodou 5 nebo 6 atomů, v aromatickém cyklu, z nichž alespoň jeden je heteroatom vybraný ze skupiny N, O, S; a monosacharid nebo jeho acetylovaná forma, s výhodou jeho peracetylovaná forma; přičemž  $\text{R}^3$  není přítomno, když Y je O nebo S;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli,

pro použití při léčbě nebo profylaxi neurodegenerativních onemocnění.

20

2. Terpenoidní derivát obecného vzorce **Ia**,



ve kterém

----- je jednoduchá nebo dvojná vazba;

X je vybráno z  $-\text{CH}_2\text{O}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ ;

A, B a Y jsou vzájemně nezávisle vybrané ze skupiny, kterou tvoří CH, C, N, NH, O, S;

$m = 1, 2$  nebo  $3$ ;

5  $\text{R}^1$  je vybrán z H-,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $n = 0$  až  $5$ ;

$\text{R}^2$  je vybrán ze skupiny  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{COO}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$  a  $-\text{COO}(\text{CH}_2)\text{Ph}$ , kde  $n = 0$  až  $5$ ;

10  $\text{R}^3$  je vybrán ze skupiny H; C1-C6 alkyl; C6-C12 aryl; heteroaryl obsahující 5 až 8 atomů, s výhodou 5 nebo 6 atomů, v aromatickém cyklu, z nichž alespoň jeden je heteroatom vybraný ze skupiny N, O, S; a monosacharid nebo jeho acetylovaná forma, s výhodou jeho peracetylovaná forma); přičemž  $\text{R}^3$  není přítomno, když Y je O nebo S;

za předpokladu, že když X je  $\text{C}(\text{O})\text{NH}$  nebo  $\text{C}(\text{O})\text{O}$ ,  $\text{R}^1$  je  $\text{CH}_3\text{CO}-$ ,  $\text{R}^2$  je  $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$  nebo  $\text{COOH}$ ,  $\text{A} = \text{B} = \text{Y} = \text{N}$  a  $m = 1$ , pak  $\text{R}^3$  není fenyl, 4-aminofenyl, 4-thiokyanatofenyl, 2-karboxyfenyl, peracetylglukosyl, peracetylgalaktosyl;

15 nebo

X je  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,

A, B a Y jsou vzájemně nezávisle vybrané ze skupiny, kterou tvoří CH, C, N, NH, O, S;

$m = 1, 2$  nebo  $3$ ;

$\text{R}^1$  je vybrán z H-,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$  a  $n = 0$  až  $5$ ;

20  $\text{R}^2$  je vybrán ze skupiny  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{COO}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$  a  $-\text{COO}(\text{CH}_2)\text{Ph}$ , kde  $n = 0$  až  $5$ ;

25  $\text{R}^3$  je vybrán ze skupiny H; C1-C6 alkyl; heteroaryl obsahující 5 až 8 atomů, s výhodou 5 nebo 6 atomů, v aromatickém cyklu, z nichž alespoň jeden je heteroatom vybraný ze skupiny N, O, S; a monosacharid nebo jeho acetylovaná forma, s výhodou jeho peracetylovaná forma; přičemž  $\text{R}^3$  není přítomno, když Y je O nebo S;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

3. Terpenoidní derivát obecného vzorce I pro použití podle nároku 1 nebo terpenoidní derivát obecného vzorce Ia podle nároku 2, s tím, že  $\text{R}^3$  je vybrán ze skupiny aryl nebo heteroaryl, s výhodou je vybrán ze skupiny fenyl, triazolyl, pyridinyl, thiofenyl, imidazolyl, furyl a pyrazinyl.

30 4. Terpenoidní derivát obecného vzorce I pro použití podle nároku 1 nebo terpenoidní derivát obecného vzorce Ia podle nároku 2, s tím, že  $\text{R}^3$  je monosacharid nebo jeho acetylovaná forma, s výhodou je vybrán ze skupiny zahrnující glukózu, galaktózu, manózu, ramnózu, laktózu, ribózu, arabinózu, 2-deoxyglukózu, 2-deoxygalaktózu, 2-deoxymanózu a jejich peracetylované deriváty.

35 5. Terpenoidní deriváty obecného vzorce I pro použití podle nároku 1, vybrané ze skupiny 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-methyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-fenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[pyridin-2-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-

3,28-diol diacetát, 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-methyl1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxylup-20(29)-en-3,28-diol, 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-methyl1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-methyl1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylaminolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30-[(1-methyl1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30-[(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30-[(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30-[(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30-[(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, Methyl 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, Methyl 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, Methyl 30-[(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, 30-[(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová kyselina, Methyl 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methoxy)-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, Methyl 30-[(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, Methyl 30-[(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methoxy]-3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-oát, 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol diacetát, 30-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[peracetyl glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1-[glukos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino,30-oxolup-20(29)-en-3,28-diol, 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino)-3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30-[(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina, 30-[(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-ová kyselina, Methyl 30-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methylamino)-3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát, methyl 30-[(1-[peracetyl galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát, methyl 30-[(1-[galaktos-1-yl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-methylamino]-3 $\beta$ -hydroxy,30-oxolup-20(29)-en-28-oát, pyridin-2-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, pyridin-3-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, pyridin-4-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, furan-2-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, furan-3-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, thiofen-2-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, thiofen-2-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, and 1,2,3-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl-methyl 3 $\beta$ ,28-diacetoxylup-20(29)-en-30-oát, a jejich farmaceuticky akceptovatelné soli.

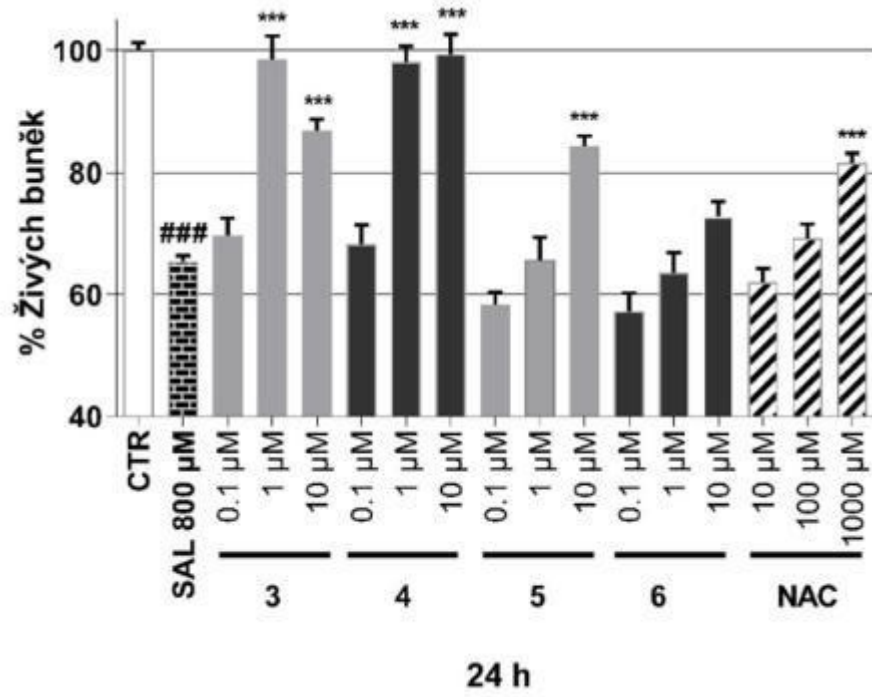
6. Terpenoidní derivát obecného vzorce Ia podle nároku 2 pro použití jako léčivo.

7. Terpenoidní derivát obecného vzorce I pro použití podle nároku 1, kde neurodegenerativní onemocnění je vybráno ze skupiny zahrnující amyotrofické laterální sklerózy, Parkinsonovy choroby, Alzheimerovy choroby, Huntingtonovy choroby, progresivní supranukleární obrny, kortikobazální degenerace, frontotemporální demence, demence s Lewyho tělísky, multisystémová atrofie, chronické traumatické encefalopatie a spinocerebelární ataxie.

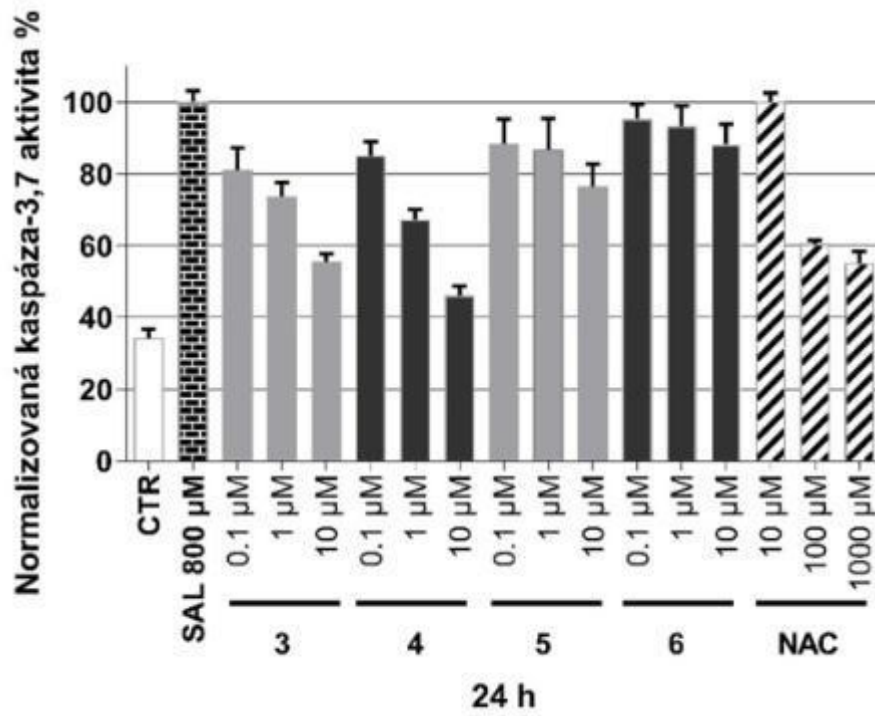


8. Farmaceutický přípravek, **vyznačující se tím**, že obsahuje jeden nebo více terpenoidových derivátů obecného vzorce Ia podle nároku 2 a alespoň jeden farmaceuticky přijatelný excipient.

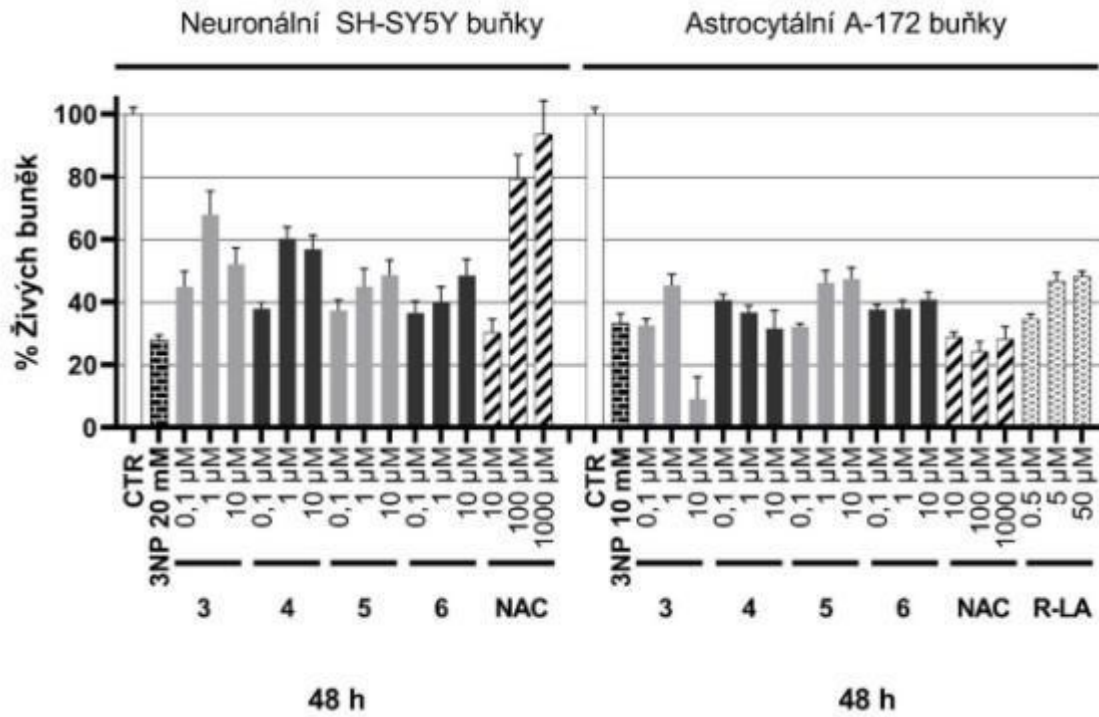
2 výkresy



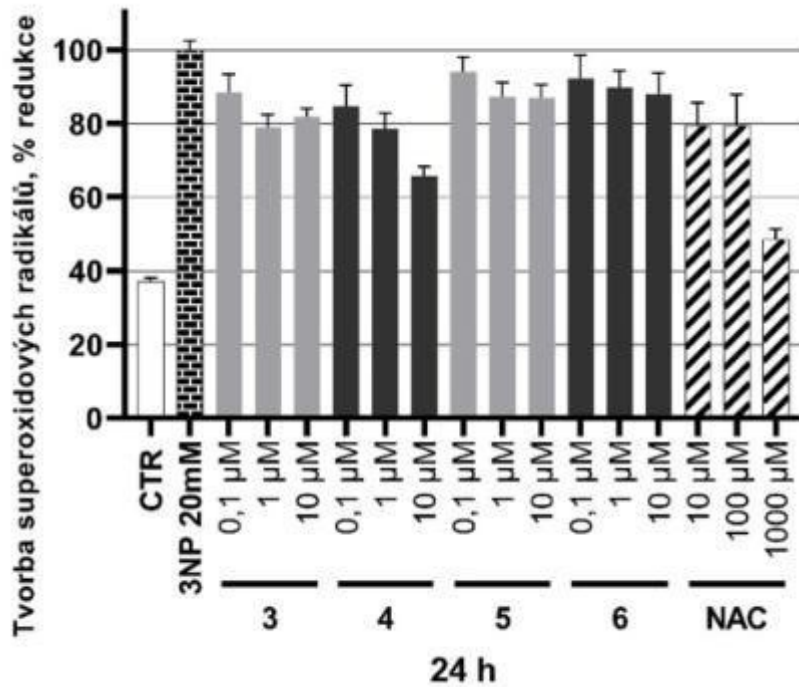
Obr. 1



Obr. 2



Obr. 3



Obr. 4