

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **241843**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **430867**

(22) Data zgłoszenia: **13.08.2019**

(51) Int.Cl.

C07C 243/38 (2006.01)

C07C 243/26 (2006.01)

C07C 251/86 (2006.01)

C07C 249/16 (2006.01)

A01N 37/28 (2006.01)

A01P 3/00 (2006.01)

(54) **Iminowe pochodne aldehydów salicylowych i hydrazydów kwasowych,
sposób ich wytwarzania oraz ich zastosowanie**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

22.02.2021 BUP 04/21

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

12.12.2022 WUP 50/22

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA WROCŁAWSKA, Wrocław, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

MIROŚLAW GIURG, Wrocław, PL

HALINA MANIAK, Wrocław, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Katarzyna Paprzycka

PL 241843 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są hydrazydo-hydrazony, iminowe pochodne hydrazydów kwasowych i aldehydów salicylowych, sposób ich wytwarzania oraz zastosowanie iminowych pochodnych aldehydów salicylowych i hydrazydów kwasowych zawierających fragment aromatyczny, znajdujące zastosowanie w syntezie organicznej, jako ligandy metali, w opracowaniu nowych farmaceutyków i jako środki zwalczające patogenne mikroorganizmy, przydatne jako środki ochrony roślin zwłaszcza roślin ozdobnych, w produkcji żywności i materiałów odnawialnych na potrzeby energetyki i przemysłu chemicznego.

W technice znane są niskocząsteczkowe iminowe pochodne hydrazydów kwasowych i aldehydów salicylowych, związki zawierające ugrupowanie hydrazydo-hydrazonowe [-C(O)-NH-N=C-].

Z artykułu Melnyk et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2006, 16, 31–35, znane są pochodne aldehydu salicylowego funkcjonalizowane grupą tert-butyłową lub metylową w pozycji 5 oraz benzohydrazydów hamujące wzrost opornego na chlorochinon szczepu *Plasmodium falciparum* wywołującego malarię. W innej publikacji Cui et al., *PLoS ONE*, 2014, 9(9), e108338 znane są glikokoniułaty pochodnych hydrazydu kwasu salicylowego i aldehydu 2-furfurylowego funkcjonalizowanego w pozycji 5 pierścieniem fenyłowym działające *in vivo* jako środki indukujące oporność pędów ogórka na powszechnie występujące patogeny roślinne: *Colletotrichum orbiculare*, *Sphaerotheca fuliginea*, *Fusarium oxysporum*, *Rizoctonia solani* i *Phytophthora capsici*. Z artykułu naukowego Hanna et al., *Bioorganic Chemistry*, 2007, 35(1), 50–58 znane są pochodne hydrazydów kwasów karboksylowych i aldehydu salicylowego jako inhibitory zabójczego dla zwierząt hodowlanych białka LF wytwarzanego przez laseczkę węgliką. W pracy Alam et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2017, 25, 389–396 ujawniono pochodną hydrazydu kwasu 2,4-dihydroksybenzoesowego i aldehydu salicylowego jako związek działający cytotoksycznie na linie komórek rakowych człowieka.

W międzynarodowym zgłoszeniu patentowym WO 2006/136008 (A1) ujawniono zastosowanie arylowych pochodnych hydrazydów i aldehydów salicylowych jako inhibitory proliferacji komórek rakowych, przeżywalności komórek rakowych i wzrostu klonogenicznych komórek rakowych. W szczególności, hydrazony pochodne aldehydów salicylowych wykazują działanie hamujące ścieżkę ERK MAP-kinazy regulującą proliferację lub przeżywalność komórek raka prostaty DU-145. W innym zgłoszeniu patentowym WO 2013/076275 (A1) ujawniono zdolność inhibowania ludzkiego receptora androgenowego przez hydrazydo-hydrazony pochodne hydrazydu kwasu 3-hydroksy-2-naftoesowego i aldehydów salicylowych, przydatne w leczeniu różnych stanów zależnych od androgeny, od regulacji męskiej płodności po raka prostaty. W jeszcze innym amerykańskim patencie US 008715745B2 ujawniono hydrazony pochodne aldehydu salicylowego funkcjonalizowanego podstawnikiem chlorowym (Cl) i hydrazydów kwasu benzoowego funkcjonalizowanego chlorowcem, grupą metylową, grupą hydroksylową, nitrową lub trifluorometyłową (-CF₃) korzystnie w mieszaninie z dwuwodnym chlorkiem miedzi(II) do hamowania wzrostu mikroskopowych grzybów patogennych, *Leptosphaeria nodorum*, *Phytophthora infestans*, *Phytophthora capsici*, *Ustilago maydis*, *Septoria tritici*, atakujących rośliny uprawne, pszenicę, żyto, ziemniaki, pomidory i paprykę.

Z artykułu Narang i Singh, *Transition Metal Chemistry*, 1996, 21, 507–511 znanym jest, że hydrazydo-hydrazony chelatują jony metali przejściowych. Z artykułu Vrdoljak et al., *New Journal of Chemistry*, 2016, 40(11), 9263–9274 znanym jest, że hydrazony pochodne aldehydu salicylowego i hydrazydów kwasów monohydroksylowych kompleksują jony miedzi(II), a z publikacji Mishra et al., *Polyhedron*, 2014, 77, 57–65, dodatkowo jony manganu(II) i cynku(II). Z pracy Prakash et al., *Polyhedron*, 2015, 89, 62–69 znane są dwurdzeniowe kompleksy miedzi(I) z ligandami bis(salicylidene)hydrazonami jako łatwo dostępne katalizatory stosowane w reakcji N-alkilacji amin. Z innej pracy Gökçe & Gup, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2013, 122, 15–23 znane są kompleksy miedzi(II) z pochodnymi hydrazydu kwasu 4-hydroksybenzoesowego i aldehydu acylo- β -naftoesowego. W jeszcze innej publikacji Monfared et al., *Inorganic Chimica Acta*, 2010, 363, 2574–2583 ujawniono kompleksy mono oksowanadu(V) z iminami hydrazydu kwasu 3-hydroksy-2-naftoesowego z aldehydem salicylowym i jego 2-metoksy i 5-bromo pochodnymi przydatne jako katalizatory w utlenianiu nadtleniem wodoru olefin terminalnych, olefin cyklicznych i pochodnych styrenu.

Przykładowo z prac przeglądowych Narang et al., *Current Medicinal Chemistry*, 2012, 19, 569–612 oraz Verma et al., *Journal of Pharmacy and Bioallied Science*, 2014, 6(2), 69–80 znane

są hydrazony o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych przeciwko szczepowi *Mycobacterium tuberculosis* wywołującym gruźlicę oraz grzybom jak również pasożytom i pierwotniakom wywołującym malarię. Z opracowania Chmiel i Grudziński, *Biotechnologia i Chemia Antybiotyków*, Wyd. Nauk. PWN **1998**, znany jest Nifuroksazyd, iminowa pochodna aldehydu 5-nitro-2-furylowego – stosowany w zatruciach pokarmowych i w biegunkach.

W europejskim zgłoszeniu patentowym EP2338879 (A1) ujawniono arylove pochodne hydrazonów przydatne jako farmaceutyki w profilaktyce chorób związanych z zaburzeniami metabolizmu. Z międzynarodowego zgłoszenia patentowego WO2012027548 (A1) znane są hydrazony pochodne hydrazynu kwasu benzoowego i benzaldehydu funkcjonalizowanego grupami hydroksylową lub alkilową przydatne w leczeniu lub w profilaktyce choroby Alzheimera. Z patentu polskiego P.427076 (A1) znane są inne iminowe pochodne aldehydów salicylowych i hydrazynu kwasu 4-hydroksybenzoowego.

Z prac przeglądowych Morozova et al., *Applied Biochemistry and Microbiology*, **2007**, 43(5), 523-535 i Solomon et al., *Chemical Reviews* 1996, 96(7), 2563–2606 znanym jest, że lakazy (EC 1.10.3.2) są oksydazami polifenolowymi specyficznymi względem bogatych w elektrony hydroksylowanych i animowanych związków aromatycznych, fenoli i anilin. Większość lakaz zawiera cztery atomy miedzi w cząsteczce, dzięki którym katalizują redukcję tlenu cząsteczkowego do wody równocześnie utleniając rodnikowo bogaty w elektrony związek aromatyczny. W naturze niektóre grzyby nadrzewne i patogenne mikroorganizmy infekujące rośliny ozdobne oraz rośliny uprawne wydzielają do tkanek gospodarza lakazę. Lakazy za pomocą tzw. mediatora oksydacyjnie degradują związki związane z barierą ochronną roślin, jak ligniny oraz dezaktywują związki obronne, polifenolowe antybiotyki roślinne, wywołując tzw. białą zgniliznę drewna i obniżenie oporności roślin co skutkuje obumieraniem zainfekowanej roślinności w wyniku pogarsza się jakość sadów i ogrodów oraz spada produkcja rolna i leśna. Najlepiej poznana jest komercyjnie dostępna (Sigma, 38429) lakaza z wrośniaka różnobarwnego (*Trametes versicolor*, synonim *Cariolus versicolor*, *Polyporus versicolor*, etc).

Z artykułu przeglądowego Widhalm & Dudereva *Molecular Plant*, **2015**, 8, 83–97 znanych jest szereg produktów naturalnych pochodzenia roślinnego z grupy karboksy i formylo arenów, takie jak benzaldehyd, aldehyd salicylowy, aldehyd protokatechinowy, aldehyd 4-hydroksybenzoowy, aldehyd wanilinowy, aldehyd syringowy, kwas benzoowy, kwas salicylowy, kwas 4-hydroksybenzoowy, kwas protokatechinowy, kwas galusowy, kwas para-aminobenzoowy. Z innych artykułów przeglądowych Canas & Camarero, *Biotechnology Advances* **2010**, 28, 694–705 i Christopher et al., *Frontiers in Energy Research* **2014**, 2, 12 znanym jest, że niektóre z tych cząsteczek są naturalnymi mediatorami lakaz. Naturalnymi mediatorami lakaz są związki fenolowe takie jak kwas 3-hydroksyantranilowy, kwas 4-hydroksybenzoowy, aldehyd syringowy, kwas para-kumarowy, kwas ferulowy, kwas sinapowy, ester metylowy kwasu syringowego. Jeden z mediatorów, kwas 4-hydroksybenzoowy jest fragmentem strukturalnym lignin, naturalnego kopolimeru odpowiedzialnego za funkcjonowanie rośliny. Degradacja ligniny umożliwia grzybom białej zgnilizny drewna dostęp do celulozy, głównego źródła glukozy.

Z pracy przeglądowej Couto & Herrera, *Current Enzyme Inhibition*, **2010** 2(4), 343–352 znanych jest szereg inhibitorów lakaz, są to głównie sole metali ciężkich zakłócające naturalne cykle biologiczne, tak u ludzi, jak i w roślinach. Innym sposobem inhibicji lakaz jest stosowanie silnych reduktorów, takich jak azydki i uciążliwe merkaptany. Z pracy przeglądowej Chang & Lamm, *International Journal of Toxicology*, **2003**, 22, 175–186, znanym jest niekorzystny wpływ azydku sodu na zdrowie ludzi. Jeszcze inne inhibitory z grupy ligandów metali, EDTA, deferoksamina, silnie wiążą mikroelementy zawarte w roślinie.

Z literatury przedmiotu znane są naturalne związki organiczne hamujące lakazy. Z artykułu Doralyn et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2011**, 19(22), 6654–6657 znana jest trudno dostępna ptylomykalina A, alkaloid guanidynowy wyizolowany z gąbki morskiej *Monanchora arbuscula*, której środowiskiem naturalnym są akweny morskie w okolicach Wysp Bahama. Ptylomykalina A hamuje aktywność lakazy z *Trametes versicolor* z IC_{50} równym 4,7 μ M w teście enzymatycznym wykorzystującym epinefrynę jako substrat. Z innej publikacji Zavarzina et al., *Soil Biology and Biochemistry*, **2004**, 36(2), 359–369 znane są wielkocząsteczkowe substancje humusowe, związki organiczne powstające z rozkładu materii organicznej w glebie, które hamują aktywność lakazy grzybowej z *Panus tigrinus* ze stałymi inhibicji K, w przedziale 3–25 μ g/ml. Substancje humusowe są mieszaniną związków organicznych pozyskiwanych w uciążliwym i mało efektywnym

procesie izolacji z gleby. W jeszcze innym artykule Martinez-Sotres et al., *Wood Science and Technology*, **2015**, 49, 857–868 ujawniono trudno dostępną medikarpinę, phytoaleksynę wyizolowaną z drzewa endemicznego *Dalbergia congestiflora* Pittier występującego w Meksyku, należącego do rodziny Leguminosae i podrodziny Papilionoideae. W hodowlach wrośniaka różnobarwnego, paszyta wywołującego białą zgniliznę drewna, w obecności medikarpiny, nie wykryto aktywności lakazy. Polskie zgłoszenie patentowe P.427085 (A1) ujawnia zastosowanie syntetycznie dostępnych hydrazydo-hydrazonów pochodnych hydrazydu kwasu 4-hydroksybenzoesowego z aldehydami zawierającymi fragment aromatyczny do inhibowania lakaz ze stałą inhibicji K_i , w przypadku pochodnej aldehydu 5-hydroksysalicylowego, dochodzącej do 7,1 μM .

Innym pospolitym grzybem wydzielającym lakazę do podłoża w celu osłabienia systemu odporności zainfekowanej rośliny są grzyby pleśniowe z rodziny twardnicowatych, znane z rozdziału w książce Pezet R., Pont, V., Hoang-Van, K. „Enzymatic detoxification of stilbenes by *Botrytis cinerea* and inhibition by grape berries proanthocyanidins” Ed. By Verhoeff, K., Malathrakis, E.N., Williamson, B. „Recent Advances In Botrytis Research” Pudoc Scientific, Wageningen, 1992, str. 87–92, które infekują miękkie tkanki roślin, w tym roślin uprawnych i ozdobnych.

Ze studiów przedmiotu i przytoczonych przykładów wynika, iż w technice stosuje się hydrazony pochodne hydroksylowanych aldehydów aromatycznych i aromatycznych hydrazydów kwasowych. Wiązanie iminowe w hydrazydo-hydrazonach wytwarza się w odwracalnej reakcji kondensacji aldehydu lub ketonu i hydrazydu kwasowego lub hydrazyd wytwarza się w środowisku reakcji.

W przypadku mniej reaktywnych reagentów, z książki Robert Thornton Morison & Robert Neilson Boyd „Chemia Organiczna” Tom 1. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1998 r. znana jest konieczność stosowania dodatku kwasowego w celu utworzenia wiązania iminowego (C=N). Dodatek kwasowy protonuje ugrupowanie karbonylowe aldehydu lub ketonu ułatwiając addycję nukleofilową reagenta aminowego oraz eliminację wody z utworzonego adduktu. W wyniku zbyt dużej ilości dodatku kwasowego protonowaniu ulega również aminowy atom azotu zmniejszając ilość aminy nukleofilowej, co skutkuje brakiem efektywności reakcji.

Z publikacji Oliveira et al., *RSC Advances*, **2014**, 4, 56736–56742 (Materiały Dodatkowe S2) znana jest procedura wytwarzania hydrazydo-hydrazonów, w której ominięto uniedogodnienie związane z optymalizacją dodatku kwasowego w reakcji prowadzonej w rozpuszczalniku, polegająca na ucieraniu równopolowych ilości hydroksylowanych benzaldehydów i hydrazydów kwasowych zawierających fragment aromatyczny w nieobecności rozpuszczalnika i dodatku aktywującego z wytworzeniem 4-pirydylo-N'-[(E)-(4-hydroksyfenylo)metylideno]-hydrazydu lub benzo-N'-[(E)-(4-hydroksyfenylo)metylideno]-hydrazydu, jednak procedura ta wymaga zastosowania młyna kulowego, a jej istotnym ograniczeniem są ciekłe reagenty i brak usuwania wody poreakcyjnej. W innej publikacji Wilde et al., *Molecular Diversity*, **2014**, 18, 307–322 znana jest procedura z zastosowaniem rozpuszczalnika, alkoholu metylowego lub etylowego w nieobecności aktywatora ze wzbudzeniem mikrofalowym, jednak uniedogodnieniem tego sposobu otrzymywania jest niska do umiarkowanej, od 15% do 83%, wydajność acylohydrazonów pochodnych aldehydów salicylowych przy czym wytwarzanie N-(2-hydroksybenzylideno)-2-(4-metoksyfenylo)acetohydazydu wymaga dodatku kwasu octowego.

Z publikacji Masunari & Tavares **2007**, 15, 4229–4236 znane są analogii nifuroksazydu, pochodne benzohydrazydów, do wytwarzania których stosuje się rozpuszczalnik i dodatek kwasu siarkowego, co skutkuje uciążliwą rekrytalizacją surowego produktu z wysokowrzącego rozpuszczalnika w postaci N,N-dimetyloformamidu (DMF). Zgłoszenie patentowe WO 2011/073165 (A1) ujawnia pochodne benzoksyhydrazydów i aldehydów salicylowych, które są wytwarzane w reakcji kondensacji równopolowych ilości reagentów w DMF-ie w obecności dodatku zasadowego w postaci diizopropylaminy. Niedogodnością tego sposobu wytwarzania jest długi 24 godzinny czas prowadzenia reakcji, konieczność usunięcia wysokowrzącego rozpuszczalnika i żmudne oczyszczanie surowych produktów reakcji. Inne zgłoszenie patentowe WO 2007/131310 (A1) ujawnia hydrazony wytwarzane w bezwodnym alkoholu etylowym. Niedogodnością tego sposobu wytwarzania jest stosowanie bezwodnego etanolu i konieczność oczyszczania surowych produktów.

Z amerykańskiego opisu patentowego US8715745 B2 znana jest procedura wytwarzania hydrazydo-hydrazonów pochodnych aldehydów salicylowych i benzohydrazydów zawierających podstawniki alkilowe, chlorowiec, grupę nitrową i hydroksylową w etanolu w 333K bez aktywatora, jednak po czasie osiemnastu godzin 3-metylo-[1-(3-chloro-2-hydroksy-fenylo)-metylideno]-benzohydrazyd wytwarzany jest z umiarkowaną, 25% wydajnością. Z innej publikacji Bhole & Bhusari, Arch.

Pharm Chem Life Sci., **2011**, 2, 119–134 znana jest podobna procedura z zastosowaniem 4-hydroksybenzhydrazidu i aldehydów aromatycznych we wrzącym rozpuszczalniku w nieobecności aktywatora w czasie skróconym do 6-ściu godzin. Zgodnie z naturą aldehydów salicylowych, w wyniku długotrwałego kontaktu z tlenem z powietrza ulegają one powolnej przemianie w odpowiedni kwas salicylowy, silny kwas karboksylowy, będący dobrym donorem protonów, co skutkuje katalizą procesu kondensacji, a niedogodnością tego sposobu otrzymywania jest konieczność usunięcia wytworzonego katalizatora z mieszaniny poreakcyjnej.

W naszych badaniach nieoczekiwanie w reakcji równopoloowych ilości wysokiej czystości aldehydu 2-hydroksy-3-fenylbenzoesowego i hydrazidu kwasu 4-metoksybenzoesowego we wrzącym metanolu w nieobecności aktywatora przy przedłużonym czasie reakcji zaobserwowaliśmy niepełne przereagowanie substratów.

Istotą rozwiązania według wynalazku są iminowe pochodne aldehydów salicylowych i hydrazydów kwasowych o wzorze 8 lub 11 lub o wzorze ogólnym 1, w którym R^1 oznacza t-Bu, Ph, R^2 oznacza H, CH_3 , t-Bu, lub o wzorze ogólnym 3, w którym R^3 oznacza Ph, 2-HOC₆H₄, 3-HOC₆H₄, 4-HOC₆H₄CH₂, 3-CH₃OC₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄, 3,5-(HO)₂C₆H₃, 3-pirydyd.

Sposób wytwarzania iminowych pochodnych aldehydów salicylowych i hydrazydów kwasowych przedstawionych wzorem 8 lub 11 lub wzorem ogólnym 1, w którym R^1 oznacza t-Bu, Ph, R^2 oznacza H, CH_3 , t-Bu, lub wzorem ogólnym 3, w którym R^3 oznacza Ph, 2-HOC₆H₄, 3-HOC₆H₄, 4-HOC₆H₄CH₂, 3-CH₃OC₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄, 3,5-(HO)₂C₆H₃, 3-pirydyd polega na tym, że równomową mieszaninę aldehydu salicylowego o wzorze 6 lub 9 lub o wzorze ogólnym 2, w którym R^1 oznacza t-Bu, Ph, R^2 oznacza H, CH_3 , t-Bu, lub o wzorze 6, oraz hydrazidu kwasu octowego o wzorze 7 lub hydrazidu kwasu 4-metoksybenzoesowego o wzorze 10 lub hydrazidu kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego o wzorze 5 lub hydrazydów kwasowych o wzorze ogólnym 4, w których R^3 oznacza Ph, 2-HOC₆H₄, 3-HOC₆H₄, 4-HOC₆H₄CH₂, 3-CH₃OC₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄, 3,5-(HO)₂C₆H₃, 3-pirydyd w rozpuszczalniku traktuje się kwasem octowym i reakcję prowadzi się we wrzącym rozpuszczalniku w temperaturze 338K do praktycznego przereagowania substratów a następnie z mieszaniny poreakcyjnej wydziela się produkty.

Korzystnie jako rozpuszczalnik stosuje się alkohol metylowy.

Korzystnie kwas octowy stosuje się w ilości co najwyżej 0,1 ml na 1 mmol substratu.

Korzystnie uzyskane produkty przedstawione wzorem 8 i 11 i wzorem ogólnym 1 i wzorem ogólnym 3 oczyszcza się przez krystalizację bezpośrednio z mieszaniny poreakcyjnej.

Istotą rozwiązania według wynalazku jest również zastosowanie iminowych pochodnych aldehydów salicylowych i hydrazydów kwasowych o wzorze 8 lub 11 lub o wzorze ogólnym 1, w którym R^1 oznacza t-Bu, Ph, R^2 oznacza H, CH_3 , t-Bu, lub o wzorze ogólnym 3 w którym R^3 oznacza Ph, 2-HOC₆H₄, 3-HOC₆H₄, 4-HOC₆H₄CH₂, 3-CH₃OC₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄, 3,5-(HO)₂C₆H₃, 3-pirydyd, jako środków ochrony roślin, zwłaszcza przeciugrzybiczych, korzystnie obejmujących działanie przeciugrzybicze wobec lakazy wrośniaka różnobarwnego.

Przedmiot wynalazku przedstawiony jest bliżej na schematach reakcji, w przykładach realizacji oraz w tabeli 1. W tabeli 2 przedstawiono związki referencyjne (odniesienia).

Przykład 1

Aldehyd 6-metoksylsalicylowy (0,15 g, 1,0 mmol) znany z publikacji Haight et al., Organic Process Research & Developed, **2004**, 8(6), 897–902 rozpuszcza się w alkoholu metylowym (25 ml), następnie dodaje się odpowiednio kwas octowy w ilości 0,10 ml oraz hydrazid kwasu 4-hydroksybenzoesowego w ilości 0,15 g (1,0 mmol). Uzyskaną w wyniku mieszaninę ogrzewa się w temperaturze wrzącego rozpuszczalnika w około 338K pod chłodnicą zwrotną mieszając do pełnego przereagowania substratów w czasie dwóch godzin. Mieszaninę poreakcyjną pozostawia się do ochłodzenia w temperaturze pokojowej i pozostawia na noc (20 godzin) w temperze około 249K, po czym wytworzone ciało stałe odsącza się i suszy na powietrzu, w wyniku uzyskuje się wysokiej czystości kremowy produkt w postaci N'-[(E)-(6-metoksy-2-hydroksyfenylo)metylideno]-4-hydroksybenzohydrazidu z wydajnością 71% topiący się w temperaturze 529,5–530.5K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3139 (O-H), 3016 (N-H), 2947 (C-H), 1601 (C=O), 1544 (C=N), 1509, 1498, 1466, 1347, 1283 (C-O), 1230 (C-O), 1169, 1058 (C-O), 954, 846, 769, 671, 650, 612, 486 cm^{-1} .

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,31 (s, 1H, ArC-2-OH), 11,98 (s, 1H, CONH), 10,20 (s, 1H, C-4-OH), 8,93 (s, 1H, CH=N), 7,48 (d, ³J = 8,7 Hz, 2H, H-2,6), 7,25 (dd, ³J = 8,3 Hz, ³J = 8,3 Hz,

¹H, ArH-4), 6,88 (d, ³J = 8,7 Hz, 2H, H-3,5), 6,55 (d, ³J = 8,3 Hz, 1H, ArH-3), 6,54 (d, ³J = 8,3 Hz, 1H, ArH-5), 3,85 (s, 3H, OCH₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 162,07 (C=O), 160,93 (C), 159,12 (C), 158,37 (C), 144,65 (CH=N), 132,07 (CH), 129,65 (2xCH), 122,87 (CH), 115,11 (2xCH), 109,35 (CH), 106,87 (C), 101,51 (CH), 55,83 (CH₃) ppm.

HRMS (EI): m/z [M+H]⁺ obliczono dla C₁₅H₁₅N₂O₄: 287,1026; oznaczono: 287,1035.

Przykład 2

Postępuje się jak w przykładzie 1 z tą różnicą, że jako aldehydowy substrat reakcji kondensacji stosuje się aldehyd 3-fenylsalicylowy w ilości 198 mg (1,0 mmol) znany z publikacji Nomura et al., *Chemistry a European Journal*, **2007**, 13(16), 4433–4451 (patrz strona 4445), który rozpuszcza się w mieszaninie alkoholu metylowego (50 ml) i kwasu octowego (0,1 ml), po czym dodaje się hydrazyd kwasu 4-metoksybenzoesowego w ilości 167 mg (1,0 mmol) otrzymany metodą znaną z publikacji Pereira et al., *New Journal of Chemistry*, **2016**, 40, 8846–8854. Po trzech godzinach prowadzenia reakcji w temperaturze wrzącego rozpuszczalnika w około 338K pozwala się mieszaninie poreakcyjnej ostygnąć do temperatury otoczenia i pozostawia w około 277K na noc (przez 20 godzin), po czym utworzone ciało stałe przesącza się, suszy na powietrzu, w wyniku uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci N'-[(E)-(3-fenyl-2-hydroksyfenyl)metylideno]-4-metoksybenzohydrazidu z wydajnością 77%. Produkt ma postać białej waty topiącej się w temperaturze 513,0–515,5K. W wyniku zatężenia połączonych przesączy do objętości około 3 ml uzyskuje się kolejną porcję produktu w postaci N'-[(E)-(3-fenyl-2-hydroksyfenyl)metylideno]-4-metoksybenzohydrazidu z wydajnością 7% topiącego się w temperaturze 512,5–515,0K identyczny ze związkami powyżej. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{max} 3168 (br, N-H i O-H), 3019 (C-H), 2989 (C-H), 2963 (C-H), 2931 (C-H), 1647 (C=C), 1603 (C=O), 1545 (CH=N), 1508, 1427, 1359, 1281, 1252 (C-O), 1176, 1111, 1027 (C-O), 961, 883, 847, 757, 748, 698, 649, 611, 562, 483 cm⁻¹.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,40 (s, 1H, OH), 12,18 (s, 1H, NHCO), 8,64 (s, 1H, CH=N), 7,95 (d, ³J = 8,9 Hz, 2H, H-2,6), 7,61 (dd, ³J = 7,8 Hz, ⁴J = 1,3 Hz, 2H, PhH-2,6), 7,46 (dd, ³J = 7,6 Hz, ⁴J = 1,4 Hz, 1H, ArH-4), 7,44 (dd, ³J = 7,8 Hz, ³J = 7,6 Hz, 2H, PhH-3,5), 7,39 (dd, ³J = 7,6 Hz, ⁴J = 1,4 Hz, 1H, ArH-6), 7,35 (tt, ³J = 7,6 Hz, ⁴J = 1,3 Hz, 1H, PhH-4), 7,09 (d, ³J = 8,9 Hz, 2H, H-3,5), 7,04 (dd, ³J = 7,6 Hz, ³J = 7,6 Hz, 1H, ArH-5), 3,84 (s, 3H, OCH₃) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 162,25 (C=O), 162,15 (C), 154,87 (C), 149,35 (CH=N), 137,43 (C), 132,05 (CH), 130,44 (CH), 129,58 (2xCH), 128,73 (C), 127,99 (2xCH), 126,95 (CH), 124,39 (C), 119,43 (CH), 118,22 (C), 113,82 (2xCH), 55,41 (OCH₃) ppm.

HRMS (EI): m/z [M+Na]⁺ obliczono dla C₂H₁₈N₂O₃Na: 369,1210; oznaczono: 369,1198.

Przykład 3

Postępuje się jak w przykładzie 2 z tą różnicą, że reakcję prowadzi się w nieobecności kwasu octowego, w temperaturze 338K w czasie ośmiu godzin w wyniku uzyskuje się mieszaninę produktu w postaci N'-[(E)-(3-fenyl-2-hydroksyfenyl)metylideno]-4-metoksybenzohydrazidu i nieprereagowanego substratu aldehydowego w stosunku molowym 3 do 1 z 75% przereagowaniem substratów. Na podstawie analizy danych ¹H NMR uzyskuje się produkt w postaci N'-[(E)-(3-fenyl-2-hydroksyfenyl)metylideno]-4-metoksybenzohydrazidu z wydajnością 75%, którego dane ¹H NMR są identyczne z danymi ¹H NMR produktu uzyskanego w przykładzie 2.

Przykład 4

Postępuje się jak w przykładzie 1 z tą różnicą, że jako aldehydowy substrat reakcji kondensacji stosuje się aldehydowy 3-tert-butyl-5-metylo-salicylowy w ilości 192 mg (1,0 mmol), otrzymany metodą znaną publikacji DiCiccio et al., *Journal of the American Chemical Society*, **2016**, 138, 7107–7113 (strony S4-S5), ≥ 90% hydrazyd kwasu octowego (82 mg, ≥1,0 mmol), alkohol metylowy (10 ml) i kwas octowy (0,1 ml) w czasie 2,5 godziny, po czym zatęży się do objętości ok. 0,5 ml, po czym odstawia do krystalizacji. W wyniku uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci N'-[(3-tert-butyl-2-hydroksy-5-metylofenyl)metylideno]-acetohydrazidu z wydajnością 84% w stosunku molowym 4:1 (wg. ¹H NMR), odpowiednio N'-[(E)-(3-tert-butyl-2-hydroksy-5-metylofenyl)metylideno]-acetohydrazidu i N'-[(Z)-(3-tert-butyl-2-hydroksy-5-metylofenyl)metylideno]-acetohydrazidu. Produkt ma postać bezbarwnych pryzm topiących się w temperaturze 504–506K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3203 (O-H i N-H), 3065 (C-H), 2946 (C-H), 2910 (C-H), 2866 (C-H), 1654 (C=O), 1565 (C=N), 1428, 1439, 1360, 1276, 1208 (C-O), 1123, 958, 860, 769, 710, 643, 569, 483 cm^{-1} .

Izomer E; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12,06 (s, 1H, OH), 11,70 (s, 1H, NHCO), 8,21 (s, 1H, CH=N), 7,07 (d, $^4J = 1,6$ Hz, 1H, ArH-4), 7,04 (d, $^4J = 1,6$ Hz, 1H, ArH-6), 2,23 (s, 3H, CH₃), 1,98 (s, 3H, COCH₃), 1,37 (s, 9H, t-Bu) ppm.

Izomer Z; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,38 (s, 1H, NHCO), 10,96 (s, 1H, OH), 8,11 (s, 1H, CH=N), 7,07 (d, $^4J = 1,6$ Hz, 1H, ArH-4), 7,00 (d, $^4J = 1,6$ Hz, 1H, ArH-6), 2,23 (s, 3H, CH₃), 2,17 (s, 3H, COCH₃), 1,37 (s, 9H, t-Bu) ppm.

Izomer E; ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 165,23 (C=O), 154,48 (C), 148,72 (CH=N), 135,95 (C), 129,19 (CH), 129,07 (CH), 126,84 (C), 117,20 (C), 34,28 (C), 29,15 (3xCH₃), 21,15 (CH₃), 20,15 (CH₃) ppm.

Izomer Z; ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 170,62 (C=O), 153,71 (C), 146,62 (CH=N), 136,01 (C), 129,11 (CH), 129,00 (CH), 127,39 (C), 117,63 (C), 34,28 (C), 29,21 (3xCH₃), 20,40 (CH₃), 20,15 (CH₃) ppm.

HRMS (EI): m/z [M+H]⁺ obliczono dla C₁₄H₂₂N₂O₂: 249,1598; oznaczono: 249,1598.

Przykład 5

Postępuje się jak w przykładzie 4 z tą różnicą, że stosuje się aldehydowy substrat reakcji kondensacji w postaci aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego w ilości 384 mg (2,0 mmol), hydrazyd kwasu benzoowego (272 mg, 2,0 mmol), alkohol metylowy (65 ml) i kwas octowy (0,1 ml) w czasie 2 godzin. W wyniku uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci N'-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydroksy-5-metylofenylo)metylideno]-benzohydrazidu z wydajnością 96%. Produkt ma postać bezbarwnego ciała stałego topiącego się w temperaturze 519–521K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3164 (N-H i O-H), 3058 (Ar-H), 3032 (Ar-H), 2947 (CH₃), 2911 (CH₃), 2861 (CH₃), 1635 (C=O), 1561 (C=N), 1440, 1364, 1317, 1285 (C-O), 1207, 1170, 1088, 968, 889, 860, 768, 690, 672, 571, 512, 423 cm^{-1} .

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12,45 (s, 1H, OH), 12,22 (s, 1H, NHCO), 8,53 (s, 1H, CH=N), 7,95 (dd, $^3J = 7,3$ Hz, $^4J = 1,3$ Hz, 2H, H-2,6), 7,63 (tt, $^3J = 7,3$ Hz, $^4J = 1,3$ Hz, 1H, H-4), 7,56 (dd, $^3J = 7,3$ Hz, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, H-3,5), 7,10 (d, $^4J = 1,8$ Hz, 1H, ArH-4), 7,07 (d, $^4J = 1,8$ Hz, 1H, ArH-6), 2,26 (s, 3H, CH₃), 1,40 (s, 9H, t-Bu) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 162,67 (C=O), 154,71 (C), 150,75 (CH=N), 136,09 (C), 132,50 (C), 132,02 (CH), 129,48 (CH), 129,18 (CH), 128,53 (2xCH), 127,57 (2xCH), 126,96 (CH), 117,26 (C), 34,32 (C), 29,17 (3xCH₃), 20,17 (CH₃) ppm.

HRMS (EI): m/z [M+H]⁺ obliczono dla C₁₉H₂₃N₂O₂: 311,1754; oznaczono: 311,1771.

Przykład 6

Postępuje się jak w przykładzie 4 z tą różnicą, że stosuje się aldehydowy substrat reakcji kondensacji w postaci aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego w ilości 192 mg (1,0 mmol), hydrazyd kwasu nikotynowego w ilości 137 mg (1,0 mmol), alkohol metylowy (6,5 ml) i kwas octowy (0,1 ml) w czasie 90-ciu minut. W wyniku destylacyjnego zatężenia mieszaniny poreakcyjnej uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci N'-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydroksy-5-metylofenylo)metylideno]-3-pirydohydrazidu z wydajnością 93%. Produkt ma postać bezbarwnych płatków topiących się w temperaturze 503,0–504,5K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3183 (O-H i N-H), 3011 (Ar-H), 2956 (CH₃), 2910 (CH₃), 2865 (CH₃), 1638 (C=O), 1613, 1590, 1552 (C=N), 1418, 1360, 1314, 1294, 1261 (C-O), 1236, 1207, 1167, 1093, 1028, 955, 893, 867, 784, 768, 709, 670, 619, 465, 409 cm^{-1} .

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12,38 (s, 1H, NHCO), 12,15 (s, 1H, OH), 9,09 (dd, $^4J = 2,4$ Hz, $^5J = 0,8$ Hz, 1H, H-2), 8,79 (dd, $^3J = 4,8$ Hz, $^4J = 1,7$ Hz, 1H, H-4), 8,16 (s, 1H, CH=N), 8,28 (ddd, $^3J = 7,9$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, $^4J = 1,7$ Hz, 1H, H-6), 7,60 (ddd, $^3J = 7,9$ Hz, $^3J = 4,8$ Hz, $^5J = 0,8$ Hz, 1H, H-5), 7,12 (d, $^4J = 1,8$ Hz, 1H, ArH-4), 7,01 (d, $^4J = 1,8$ Hz, 1H, ArH-6), 2,26 (s, 3H, CH₃), 1,40 (s, 9H, t-Bu) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 161,29 (C=O), 154,77 (C), 152,51 (CH), 151,35 (CH=N), 148,53 (CH), 136,14 (C), 135,41 (CH), 129,71 (CH), 129,33 (CH), 128,37 (C), 127,06 (C), 123,64 (CH), 117,13 (C), 34,34 (C), 29,17 (3xCH₃), 20,16 (CH₃) ppm.

HRMS (EI): m/z [M+H]⁺ obliczono dla C₁₈H₂₂N₃O₂: 312,1706; oznaczono: 312,1713.

Przykład 7

Postępuje się jak w przykładzie 4 z tą różnicą, że stosuje się aldehydowy substrat reakcji kondensacji w postaci aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego w ilości 192 mg (1,0 mmol), hydrazyd kwasu 2-hydroksybenzoesowego w ilości 152 mg (1,0 mmol), alkohol metylowy (15 ml) i kwas octowy (0,1 ml) w czasie dwóch godzin. W wyniku destylacyjnego zatężenia mieszaniny poreakcyjnej przed krystalizacją uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci 2-hydroksy-N'-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydroksy-5-metylofenylo)metylideno]benzohydrazidu z wydajnością 95%. Produkt ma postać bezbarwnych pryzm topiących się w temperaturze 525,0–526,5K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3250 (O-H i N-H), 3033 (Ar-H), 2975 (CH₃), 2913 (CH₃), 1637 (C=C), 1615 (C=O), 1581, 1560 (C=N), 1456, 1436, 1361, 1308, 1235 (C-O), 1204 (C-O), 1158, 1098, 942, 786, 768, 743, 719, 617, 530, 469 cm⁻¹.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,17 (s, 1H, ArOH), 12, Hz, 1H, H-6), 7,46 (ddd, ³J = 8,4 Hz, ³J = 7,2 Hz, ⁴J = 1,6 Hz, 1H, H-4), 7,11 (d, ⁴J = 1,7 Hz, 1H, ArH-4), 7,08 (d, ⁴J = 1,7 Hz, 1H, ArH-6), 7,00 (dd, ³J = 8,4 Hz, ⁴J = 1,0 Hz, 1H, H-3), 6,98 (ddd, ³J = 7,8 Hz, ³J = 7,2 Hz, ⁴J = 1,0 Hz, 1H, H-5), 2,26 (s, 3H, CH₃), 1,40 (s, 9H, t-Bu) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 164,15 (C=O), 158,70 (C), 154,76 (C), 151,50 (CH=N), 136,14 (C), 133,94 (CH), 129,68 (CH), 129,30 (CH), 128,61 (CH), 127,02 (C), 119,02 (CH), 117,20 (C, CH), 115,61 (C), 34,33 (C), 29,17 (3xCH₃), 20,18 (CH₃) ppm.

HRMS (EI): m/z [M+H]⁺ obliczono dla C₉H₂₃N₂O₃: 327,1703; oznaczono: 327,1701.

Przykład 8

Postępuje się jak w przykładzie 4 z tą różnicą, że stosuje się aldehydowy substrat reakcji kondensacji w postaci aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego w ilości 192 mg (1,0 mmol), hydrazyd kwasu 3-hydroksybenzoesowego w ilości 152 mg (1,0 mmol), alkohol metylowy (3 ml) i kwas octowy (0,1 ml) w czasie dwóch godzin. W wyniku destylacyjnego zatężenia mieszaniny poreakcyjnej przed krystalizacją do objętości ok. 1 ml uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci 3-hydroksy-N'-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydroksy-5-metylofenylo)metylideno]benzohydrazidu z wydajnością 94%. Produkt ma postać bezbarwnych pryzm topiących się w temperaturze 513,0–515,5K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3226 (O-H i N-H), 3065 (Ar-H), 2957 (C-H), 2914 (C-H), 2867 (C-H), 1644 (C=O), 1614 (C=C), 1586, 1559 (C=N), 1455, 1438, 1360, 1309, 1263, 1236 (C-O), 1209 (C-O), 1166, 1091, 952, 850, 786, 742, 716, 689, 674, 607, 500, 467, 448, 406 cm⁻¹.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12,25 (s, 1H, C2-OH), 12,13 (s, 1H, NHCO), 9,83 (s, 1H, C-4-OH), 8,52 (s, 1H, CH=N), 7,31-7,39 (m, 3H, H-2,5,6), 7,09 (d, ⁴J = 1,7 Hz, 1H, ArH-4), 7,08 (d, ⁴J = 1,7 Hz, 1H, ArH-6), 7,01 (ddd, ³J = 7,3 Hz, ⁴J = 2,6 Hz, ⁴J = 1,7 Hz, 1H, H-4), 2,25 (s, 3H, CH₃), 1,39 (s, 9H, t-Bu) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 162,70 (C=O), 157,45 (C), 154,72 (C), 150,66 (CH=N), 136,09 (C), 133,89 (C), 129,60 (CH), 129,44 (CH), 129,17 (CH), 126,95 (C), 118,98 (CH), 118,06 (CH), 117,30 (C), 114,45 (CH), 34,33 (C), 29,18 (3xCH₃), 20,18 (CH₃) ppm.

HRMS (EI): m/z [M+Na]⁺ obliczono dla C₁₉H₂₂N₂O₃Na: 349,1523; oznaczono: 349,1524.

Przykład 9

Postępuje się jak w przykładzie 4 z tą różnicą, że stosuje się aldehydowy substrat reakcji w postaci aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego w ilości 192 mg (1,0 mmol), hydrazyd kwasu 3,5-dihydroksybenzoesowego w ilości 168 mg (1,0 mmol), alkohol metylowy (5 ml) i kwas octowy (0,1 ml) i reakcję prowadzi się w czasie dwóch godzin. W wyniku uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci 3,5-dihydroksy-N'-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydroksy-5-metylofenylo)metylideno]benzohydrazidu z 54% wydajnością. Produkt ma postać bezbarwnego proszku topiącego się w temperaturze 519K z rozkładem. Połączone przesącze zatężeza się destylacyjnie pod ciśnieniem ok. 20 mm Hg w wyniku uzyskuje się produkt w postaci 3,5-dihydroksy-N'-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydroksy-5-metylofenylo)metylideno]benzohydrazidu z wydajnością 42% identyczny z produktem uzyskanym z pierwszej krystalizacji. Produkt uzyskuje się z 96% wydajnością w przeliczeniu na użyte substraty. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3189 (szeroki, O-H i N-H), 3046 (C-H), 2953 (C-H), 2914 (C-H), 2866 (C-H), 1583 (C=O), 1556 (C=N), 1435, 1363, 1341, 1314, 1265 (C-O), 1208, 1164, 1001, 863, 798, 681, 518, 427 cm⁻¹.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12,25 (s, 1H, OH), 12,04 (s, 1H, CONH), 9,63 (s, 2H, OH), 8,50 (s, 1H, CH=N), 7,09 (d, $^4J = 1,4$ Hz, 1H, ArH-4), 7,03 (d, $^4J = 1,4$ Hz, 1H, ArH-6), 6,78 (d, $^4J = 2,1$ Hz, 2H, H-2,6), 6,45 (t, $^4J = 2,1$ Hz, 1H, H-4), 2,25 (s, 3H, CH₃), 1,39 (s, 9H, t-Bu) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 162,86 (C=O), 158,46 (2xC), 154,71 (C), 150,54 (CH=N), 136,09 (C), 134,52 (C), 129,41 (CH), 129,15 (CH), 126,95 (C), 117,33 (C), 105,90 (CH), 105,71 (2xCH), 34,34 (C), 29,19 (3xCH₃), 20,19 (CH₃) ppm.

HRMS (EI): m/z [M+H]⁺ obliczono dla C₁₉H₂₃N₂O₄: 343,1652; oznaczono: 343,1650.

Przykład 10

Postępuje się jak w przykładzie 4 z tą różnicą, że stosuje się aldehydowy substrat reakcji kondensacji w postaci aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego w ilości 192 mg (1,0 mmol), hydrazyd kwasu 4-metoksybenzoesowego w ilości 167 mg (1,0 mmol), alkohol metylowy (20 ml) i kwas octowy (0,1 ml) w czasie dwóch godzin. W wyniku powolnego zatężenia rozpuszczalnika uzyskuje się wysokiej czystości bezbarwne igły produktu w postaci 4-metoksy-N'-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydrokso-5-metylofenylo)metylideno]benzohydrazidu z wydajnością 81% topiące się w temperaturze 516–517K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{max} 3165 (O-H i N-H), 3008 (Ar-H), 2959 (C-H), 2912 (C-H), 2866 (C-H), 2837 (C-H), 1636 (C=C), 1605 (C=O), 1537 (CH=N), 1508, 1440, 1432, 1358, 1286 (C-O), 1235, 1207 (C-O), 1183, 1173, 1088, 1029 (C-O), 971, 896, 838, 765, 689, 614, 500, 465 cm^{-1} .

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12,28 (s, 1H, OH), 12,08 (s, 1H, NHCO), 8,51 (s, 1H, CH=N), 7,94 (d, $^3J = 8,9$ Hz, 2H, H-2,6), 7,09 (d, $^3J = 8,9$ Hz, 2H, H-3,5), 7,09 (d, $^4J = 1,6$ Hz, 1H, ArH-4), 7,06 (d, $^4J = 1,6$ Hz, 1H, ArH-6), 3,84 (s, 1H, OCH₃), 2,25 (s, 3H, CH₃), 1,39 (s, 9H, t-Bu) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 162,20 (C), 162,06 (C=O), 154,65 (C), 150,09 (CH=N), 136,04 (C), 129,52 (2xCH), 129,30 (CH), 129,06 (CH), 126,90 (C), 124,48 (C), 117,36 (C), 113,76 (2xCH), 55,39 (OCH₃), 34,31 (C), 29,17 (3xCH₃), 20,18 (CH₃) ppm.

HRMS (EI): m/z [M+H]⁺ obliczono dla C₂₀H₂₅N₂O₃: 341,1860; oznaczono: 341,1870.

Przykład 11

Postępuje się jak w przykładzie 4 z tą różnicą, że stosuje się aldehydowy substrat reakcji kondensacji w postaci aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego w ilości 192 mg (1,0 mmol), hydrazyd kwasu 3-metoksybenzoesowego w ilości 167 mg (1,0 mmol), alkohol metylowy (45 ml) i kwas octowy (0,1 ml) w czasie 4,5 godziny, w wyniku uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci 3-metoksy-N'-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydrokso-5-metylofenylo)metylideno]benzohydrazidu z wydajnością 93%. Produkt ma postać bledo żółtego ciała stałego o konsystencji waty topiącego się w temperaturze 511,0–513,5K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{max} 3173 (O-H i N-H), 3064 (Ar-H), 3008 (Ar-H), 2946 (C-H), 2911 (C-H), 2860 (C-H), 1633 (C=C), 1584 (C=O), 1560 (CH=N), 1486, 1462, 1427, 1364, 1318, 1295 (C-O), 1279 (C-O), 1241, 1140, 1083, 1044 (C-O), 970, 861, 811, 755, 714, 693, 570, 493, 466 cm^{-1} .

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12,23 (s, 1H, NH), 12,17 (s, 1H, OH), 8,52 (s, 1H, CH=N), 7,53 (ddd, $^3J = 7,8$ Hz, $^4J = 1,5$ Hz, $^4J = 1,1$ Hz, 1H, H-6), 7,48 (dd, $^4J = 2,5$ Hz, $^4J = 1,5$ Hz, 1H, H-2), 7,47 (dd, $^3J = 8,0$ Hz, $^3J = 7,8$ Hz, 1H, H-5), 7,19 (ddd, $^3J = 8,0$ Hz, $^4J = 2,5$ Hz, $^4J = 1,1$ Hz, 1H, H-4), 7,11 (d, $^4J = 1,7$ Hz, 1H, ArH-4), 7,06 (d, $^4J = 1,7$ Hz, 1H, ArH-6), 3,84 (s, 1H, OCH₃), 2,26 (s, 3H, CH₃), 1,40 (s, 9H, t-Bu) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 162,41 (C=O), 159,20 (C), 154,73 (C), 150,84 (CH=N), 136,10 (C), 133,88 (C), 129,73 (CH), 129,49 (CH), 129,18 (CH), 126,97 (C), 119,76 (CH), 117,65 (CH), 117,27 (C), 112,88 (CH), 55,30 (OCH₃), 34,33 (C), 29,17 (3xCH₃), 20,18 (CH₃) ppm.

HRMS (EI): m/z [M+H]⁺ obliczono dla C₂₀H₂₅N₂O₃: 341,1860; oznaczono: 341, 1852.

Przykład 12

Postępuje się jak w przykładzie 4 z tą różnicą, że stosuje się aldehydowy substrat reakcji kondensacji w postaci aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego w ilości 192 mg (1,0 mmol), hydrazyd kwasu 4-hydroksyfenylooctowego, znany ze zgłoszenia patentowego WO2005010005 / 2005 (A1), w ilości 167 mg (1,0 mmol), alkohol metylowy (20 ml) i kwas octowy (0,1 ml) w czasie 2 godzin. W wyniku uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci 2-(4-hydroksyfenylo)-N'-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydrokso-5-metylofenylo)metylideno]acetohydrazidu krystalizującego z jedną cząsteczką alkoholu metylowego z wydajnością 85%. Produkt ma postać białych pryzm topiących się w temperaturze 515,0–517,5K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3236 (O-H i N-H), 3064 (Ar-H), 3032 (Ar-H), 2964 (C-H), 2919 (C-H), 2830 (C-H), 1654 (C=O), 1612 (C=C), 1552 (CH=N), 1515, 1468, 1363, 1299 (C-O), 1261, 1240 (C-O), 1143, 1022, 799, 769, 651, 642, 623, 521, 417, 435 cm^{-1} .

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12,03 (s, 1H, Ar-2-OH), 11,86 (s, 1H, NHCO), 9,30 (s, 1H, C-4-OH), 8,27 (s, 1H, CH=N), 7,11 (d, $^3\text{J} = 8,5$ Hz, 2H, H-2,6), 7,07 (d, $^4\text{J} = 2,1$ Hz, 1H, ArH-4), 7,04 (d, $^4\text{J} = 2,1$ Hz, 1H, ArH-6), 6,72 (d, $^3\text{J} = 8,5$ Hz, 2H, H-3,5), 4,12 (k, $^3\text{J} = 5,2$ Hz, 1H, CH₃OH), 3,44 (s, 2H, CH₂), 3,17 (d, $^3\text{J} = 5,2$ Hz, 3H, CH₃OH), 2,23 (s, 3H, CH₃), 1,38 (s, 9H, t-Bu) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 166,77 (C=O), 156,11 (C), 154,55 (C), 149,49 (CH=N), 136,01 (C), 129,93 (2xCH), 129,33 (CH), 129,12 (CH), 126,90 (C), 125,33 (C), 117,21 (C), 115,09 (2xCH), 48,55 (CH₃OH), 39,43 (CH₂), 34,30 (C), 29,15 (3xCH₃), 20,18 (CH₃) ppm.

MRMS (EI): m/z [M+Na]⁺ obliczono dla C₂₀H₂₄N₂O₃Na: 363,1679; oznaczono: 363,1698.

Przykład 13

Postępuje się jak w przykładzie 4 z tą różnicą, że stosuje się aldehydowy substrat reakcji kondensacji w postaci aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego w ilości 192 mg (1,0 mmol), hydrazyd kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego, znany z publikacji White et al., Journal of Organic Chemistry, **1967**, 32(4), 1198–1202, w ilości 202 mg (1,0 mmol), alkohol metylowy (65 ml) i kwas octowy (0,1 ml) w czasie 6 godzin, po czym mieszaninę poreakcyjną zatęża się destylacyjnie. W wyniku uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci N'-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydroksy-5-metylo-fenilo)metylideno]-2-(1-hydroksynaftylo)hydrazynu z wydajnością 92%. Produkt ma postać bezbarwnych pryzm topiących się w temperaturze 485,5–490,0K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3379, 3233 (O-H i N-H), 3062 (Ar-H), 2952 (C-H), 2912 (C-H), 2865 (C-H), 1616 (C=O), 1581 (CH=N), 1532 (C=C), 1467, 1388, 1356, 1310, 1275 (C-O), 1250 (C-O), 1207, 1175, 1155, 813, 788, 757, 707, 566, 496, 423 cm^{-1} .

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,85 (s, 1H, OH), 12,50 (s, 1H, OH), 12,19 (s, 1H, NHCO), 8,65 (s, 1H, CH=N), 8,32 (d, $^3\text{J} = 8,2$ Hz, 1H, H-4), 7,97 (d, $^3\text{J} = 8,9$ Hz, 1H, H-8), 7,92 (d, $^3\text{J} = 8,2$ Hz, 1H, H-3), 7,69 (dd, $^3\text{J} = 8,8$ Hz, $^3\text{J} = 6,1$ Hz, 1H, H-6), 7,60 (dd, $^3\text{J} = 8,9$ Hz, $^3\text{J} = 6,1$ Hz, 1H, H-7), 7,49 (d, $^3\text{J} = 8,9$ Hz, 1H, H-5), 7,14 (s, 2H, ArH-4, ArH-6), 2,27 (s, 3H, CH₃), 1,42 (s, 9H, t-Bu) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 166,58 (C=O), 156,15 (C), 154,88 (C), 152,27 (CH=N), 136,23 (C), 135,97 (C), 129,94 (CH), 129,50 (CH), 129,34 (CH), 127,51 (C), 126,08 (CH), 124,52 (C), 123,04 (CH), 122,22 (CH), 118,05 (CH), 117,14 (C), 115,77 (C), 34,36 (C), 29,19 (3xCH₃), 20,18 (CH₃) ppm.

MRMS (EI): m/z [M+H]⁺ obliczono dla C₂₃H₂₅N₂O₃: 377,1865; oznaczono: 377,1858.

Przykład 14

Postępuje się jak w przykładzie 13 z tą różnicą, że stosuje się aldehydowy substrat reakcji kondensacji w postaci aldehydu 3-fenilo-salicylowego w ilości 0,10 g (0,50 mmol), który rozpuszcza się w mieszaninie alkoholu metylowego (50 ml) i kwasu octowego (50 μl), po czym dodaje się hydrazyd kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego w ilości 102 mg (0,50 mmol). W wyniku krystalizacji uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci N'-[(E)-(3-fenilo-2-hydroksy-fenilo)metylideno]-2-(1-hydroksynaftylo)hydrazynu z wydajnością 82%. Produkt ma postać białego proszku topiącego się w temperaturze 499–501K z rozkładem. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3373 (O-H), 2300-3100 (szeroki, O-H i N-H), 1625 (C=C), 1600 (C=O), 1573, 1532 (CH=N), 1461, 1389, 1274 (C-O), 1249 (C-O), 1206, 1158, 1075, 968, 789, 754, 738, 693, 573, 491, 429, 411 cm^{-1} .

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,83 (s, 1H, OH), 12,59 (s, 1H, OH), 12,27 (s, 1H, NHCO), 8,77 (s, 1H, CH=N), 8,32 (d, $^3\text{J} = 8,2$ Hz, 1H, H-8), 7,98 (d, $^3\text{J} = 8,9$ Hz, 1H, H-3), 7,92 (d, $^3\text{J} = 8,1$ Hz, 1H, H-5), 7,69 (ddd, $^3\text{J} = 6,8$ Hz, $^3\text{J} = 6,8$ Hz, $^4\text{J} = 1,2$ Hz, 1H, H-6), 7,62 (d, $^3\text{J} = 7,7$ Hz, 2H, Ph-2,6), 7,60 (ddd, $^3\text{J} = 8,2$ Hz, $^3\text{J} = 6,8$ Hz, $^4\text{J} = 1,1$ Hz, 1H, H-7), 7,53 (dd, $^3\text{J} = 7,7$ Hz, $^4\text{J} = 1,4$ Hz, 1H, ArH-6), 7,49 (d, $^3\text{J} = 8,9$ Hz, H-4), 7,46 (dd, $^3\text{J} = 7,7$ Hz, $^3\text{J} = 7,3$ Hz, 2H, Ph-3,5), 7,43 (dd, $^3\text{J} = 7,5$ Hz, $^4\text{J} = 1,4$ Hz, 1H, ArH-4), 7,36 (t, $^3\text{J} = 7,3$ Hz, 1H, Ph-4), 7,07 (t, $^3\text{J} = 7,7$ Hz, $^3\text{J} = 7,5$ Hz, 1H, ArH-5) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 166,71 (C=O), 160,21 (C), 154,04 (C), 151,45 (CH=N), 137,29 (C), 135,99 (C), 132,59 (CH), 130,85 (CH), 129,36 (CH), 129,16 (2xCH), 128,89 (C), 128,01 (2xCH), 127,50 (CH), 127,02 (CH), 126,07 (CH), 124,51 (C), 123,03 (CH), 122,18 (CH), 119,59 (CH), 118,08 (CH), 118,01 (C), 105,72 (C) ppm.

MRMS (EI): m/z [M+H]⁺ obliczono dla C₂₄H₁₉N₂O₃: 383,1396; oznaczono: 383,1410.

Przykład 15

Postępuje się jak w przykładzie 13 z tą różnicą, że jako aldehydowy substrat reakcji kondensacji stosuje się aldehyd 3,5-di-tert-butylo-salicylowy w ilości 0,23 g (1,0 mmola), który rozpuszcza się w mieszaninie alkoholu metylowego (75 ml) i kwasu octowego (100 µl), po czym dodaje się hydrazyd kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego w ilości 203 mg (1,0 mmol) i reakcję prowadzi się w czasie 2 godzin, po czym uzyskaną mieszaninę poreakcyjną traktuje się węglem aktywnym na gorąco (ok. 338K), węgiel aktywny odsącza się, przesącz zateża się do objętości ok. 7.5 ml i pozostawia do powolnej krystalizacji. W wyniku uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci N-[(E)-(3,5-di-tert-butylo-2-hydroksy-fenilo)metylideno]-2-(1-hydroksynaftylo)hydrazynu krystalizującego z jedną cząsteczką alkoholu metylowego z wydajnością 95%. Produkt ma postać żółtych, krótkich igieł topiących się w temperaturze 394,5–395,5K. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3650 (CH₃OH), 3392 (O-H), 3322 (O-H i N-H), 3060 (Ar-H), 2955 (CH₃), 2917 (CH₃), 2869 (CH₃), 1611 (C=O), 1596 (C=C), 1584, 1563 (CH=N), 1531, 1467, 1390, 1356, 1278 (C-O), 1250 (C-O), 1208, 1173, 1027, 815, 759, 709, 535, 494, 419 cm⁻¹.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13,85 (s, 1H, O-H), 12,50 (s, 1H, NHCO), 12,24 (s, 1H, O-H), 8,70 (s, 1H, CH=N), 8,32 (d, ³J = 8,2 Hz, 1H, H-8), 7,98 (d, ³J = 8,8 Hz, 1H, H-3), 7,92 (d, ³J = 8,0 Hz, 1H, H-5), 7,69 (dd, ³J = 8,0 Hz, ³J = 7,2 Hz, 1H, H-6), 7,60 (dd, ³J = 8,2 Hz, ³J = 7,2 Hz, 1H, H-7), 7,50 (d, ³J = 8,8 Hz, 1H, H-4), 7,35 (d, ⁴J = 2,0 Hz, 1H, ArH-4), 7,28 (d, ⁴J = 2,0 Hz, 1H, ArH-6), 4,10 (s, 1H, CH₃OH), 3,17 (s, 3H, CH₃OH), 1,43 (s, 9H, Ar-3-t-Bu), 1,30 (s, 9H, Ar-5-t-Bu) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 166,59 (C), 160,14 (C=O), 154,83 (C), 152,72 (CH=N), 140,52 (C), 135,97 (C), 135,73 (C), 129,34 (CH), 127,51 (CH), 126,08 (CH), 126,01 (CH), 125,97 (CH), 124,53 (C), 123,04 (CH), 122,25 (CH), 118,06 (CH), 116,78 (C), 105,79 (C), 48,52 (CH₃OH), 34,62 (C), 33,85 (C), 31,22 (3xCH₃), 29,23 (3xCH₃) ppm.

MRMS (EI): m/z [M+Na]⁺ obliczono dla C₂₆H₃₀N₂O₃Na: 441,2154; oznaczono: 441,2152.

Przykład 16

Postępuje się jak w przykładzie 13 z tą różnicą, że jako aldehydowy substrat reakcji kondensacji stosuje się aldehyd 3-tert-butylo-salicylowy w ilości 89 mg (1,0 mmol), który rozpuszcza się w mieszaninie alkoholu metylowego (22,5 ml) i kwasu octowego (50 µl), po czym dodaje się hydrazyd kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego w ilości 101 mg (1,0 mmol) i reakcję prowadzi się w czasie 2 godzin, po czym uzyskaną mieszaninę poreakcyjną traktuje się węglem aktywnym na gorąco (ok. 338K), węgiel aktywny odsącza się po czym przesącz pozostawia się do krystalizacji. W wyniku uzyskuje się wysokiej czystości produkt w postaci N-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydroksyfenilo)metylideno]-2-(1-hydroksynaftylo)hydrazynu z wydajnością 65%. Produkt ma postać drobnych, żółtych kryształów topiących się w temperaturze 493,0–495,5K. Połączone przesącze zateża się destylacyjnie do objętości około 5 ml, po czym wydzieli się produkt poprzez krystalizację. W wyniku uzyskuje się drugą porcję produktu w postaci N-[(E)-(3-tert-butylo-2-hydroksyfenilo)metylideno]-2-(1-hydroksynaftylo)hydrazynu z wydajnością 30% identycznego z produktem uzyskanym z pierwszej krystalizacji. Łącznie uzyskuje się produkt z 95% wydajnością w przeliczeniu na użyte substraty. Potwierdzeniem struktury produktu są widma:

FT-IR (ATR): ν_{\max} 3420 (O-H), 3275 (O-H i N-H), 3056 (Ar-H), 2948 (CH₃), 2912 (CH₃), 2872 (CH₃), 1623 (C=C), 1602 (C=O), 1565 (CH=N), 1389, 1358, 1279 (C-O), 1252 (C-O), 1208, 1147, 807, 789, 745, 495, 420 cm⁻¹.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13,84 (s, 1H, OH), 12,51 (s, 1H, NHCO), 12,41 (s, 1H, OH), 8,70 (s, 1H, CH=N), 8,32 (d, ³J = 8,3 Hz, 1H, H-8), 7,98 (d, ³J = 8,9 Hz, 1H, H-3), 7,92 (d, ³J = 8,1 Hz, 1H, H-5), 7,69 (dd, ³J = 8,1 Hz, ³J = 6,9 Hz, ⁴J = 1,2 Hz, 1H, H-6), 7,60 (dd, ³J = 8,3 Hz, ³J = 6,7 Hz, ⁴J = 1,2 Hz, 1H, H-7), 7,49 (d, ³J = 8,9 Hz, 1H, H-4), 7,34 (d, ³J = 7,6 Hz, 1H, ArH-6), 7,33 (d, ³J = 7,8 Hz, 1H, ArH-4), 6,91 (dd, ³J = 7,8 Hz, ³J = 7,6 Hz, 1H, ArH-5), 1,42 (s, 9H, t-Bu) ppm.

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 166,61 (C), 160,18 (C=O), 157,05 (C), 152,27 (CH=N), 136,42 (C), 135,98 (C), 129,84 (CH), 129,34 (CH), 128,90 (CH), 127,50 (CH), 126,07 (CH), 124,53 (C), 123,05 (CH), 122,19 (CH), 118,84 (CH), 118,07 (CH), 117,45 (C), 105,74 (C), 34,45 (C), 29,16 (3xCH₃) ppm.

MRMS (EI): m/z [M+Na]⁺ obliczono dla C₂₂H₂₂N₂O₃Na: 385,1523; oznaczono: 385,1535.

Przykład 17

Wyznaczanie inhibicji lakazy z wrośniaka różnobarwnego

Aktywność lakazy wyznaczono stosując procedurę znaną z publikacji Leonowicz & Grzywnowicz, *Enzyme Microb. Technol.*, **1981**, 3, 55–58 wykorzystując syryngaldazynę (azyna 4-hydroksy-3,5-dimetoksybenzaldehydu, Sigma-Aldrich) jako substrat. Reakcje prowadzono w mieszaninie woda-alkohol metylowy o 12,5% stężeniu alkoholu metylowego. Liofilizowany enzym (Sigma-Aldrich) przygotowano każdorazowo w buforze McIlvaina o pH 5,2. Syryngaldazynę rozpuszczono w alkoholu metylowym otrzymując roztwór o stężeniu 0,1 mM. Badane związki przygotowano w postaci roztworów w alkoholu metylowym i używano do reakcji w stężeniu 0,85 mM. Mieszanina reakcyjna zawierała 1,5 ml lakazy o aktywności 5,0 U/ml i 0,1 ml hydrazydohydrazonu – preinkubowane przez 30 minut – oraz 0,1 ml syryngaldazyny, której dodatek inicjował reakcję i pomiar aktywności enzymu. Jednostkę aktywności lakazy zdefiniowano jako taką ilość enzymu, który uwalnia 1 nmol produktu w czasie 1 minuty przez 1 ml enzymu. Pomiar aktywności lakazy w obecności syryngaldazyny wykonywano w jednorazowych kuwetach (Ratiolab, Bionovo) przy długości fali 525 nm w temperaturze 300K wykorzystując spektrofotometr UV-Vis Shimadzu UV-1800 oraz oprogramowanie UV Probe firmy Shimadzu. Szybkość reakcji obliczono z przyrostu absorbancji w czasie zakładając kinetykę reakcji pierwszego rzędu. Reakcje wykonano w trzykrotnym powtórzeniu. Inhibicję lakazy w obecności hydrazonów pochodnych aldehydów salicylowych i hydrazydów kwasów karboksylowych, jak również w obecności wybranych aldehydów i hydrazydów oraz substancji referencyjnych (substancji odniesienia) przedstawiono jako % szczątkowej aktywności enzymu, który obliczono na podstawie wzoru:

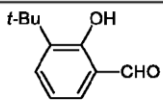
$$\text{Aktywność szczątkowa} = \frac{r_{0_{inh}}}{r_0} \cdot 100\%$$

Gdzie, $r_{0_{inh}}$ – aktywność enzymu w obecności badanego związku, r_0 – aktywność enzymu bez związku.

T a b e l a 1. Szczątkowa aktywność (%) lakazy wrośniaka różnobarwnego badana w obecności związku o stężeniu 0,05 mM w mieszaninie reakcyjnej

Struktura	Nazwa	Aktywność szczątkowa* [%]
	(E)-iminowa pochodna kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego i aldehydu 3,5-di-tert-butylo-salicylowego	12
	(E)-iminowa pochodna kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	7
	(E)-iminowa pochodna kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego i aldehydu 3-fenilo-salicylowego	15
	(E)-iminowa pochodna kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego i aldehydu 3-tert-butylo-salicylowego	4
	(E/Z)-iminowa pochodna hydrazylu kwasu octowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	96
	(E)-iminowa pochodna hydrazylu kwasu benzoowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	65

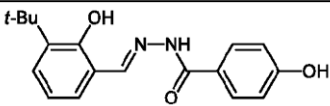
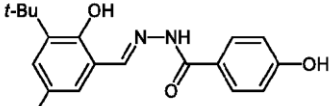
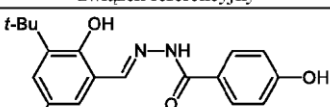
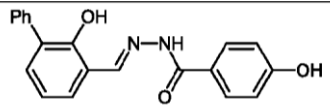
Struktura	Nazwa	Aktywność szczątkowa* [%]
	(E)-iminowa pochodna hydrazylu kwasu 4-metoksy-benzoowego i aldehydu 3-fenilo-salicylowego	94
	(E)-iminowa pochodna hydrazylu kwasu 4-metoksy-benzoowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	56
	(E)-iminowa pochodna hydrazylu kwasu nikotynowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	89
	(E)-iminowa pochodna hydrazylu kwasu salicylowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	63
	(E)-iminowa pochodna hydrazylu kwasu 3,5-di-hydrokso-benzoowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	56
	(E)-iminowa pochodna hydrazylu kwasu 3-hydrokso-benzoowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	16
	(E)-iminowa pochodna hydrazylu kwasu (4-hydroksofenilo)-octowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	37
	(E)-iminowa pochodna hydrazylu kwasu 3-metoksy-benzoowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	64
	Hydrazyl kwasu 1-hydrokso-2-naftoesowego	—**
	Hydrazyl kwasu salicylowego	83
	Hydrazyl kwasu 3,5-di-hydrokso-benzoowego	94
	Hydrazyl kwasu 3-hydrokso-benzoowego	94
	Aldehyd 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowy	99

Struktura	Nazwa	Aktywność szczątkowa* [%]
	Aldehyd 3,5-di-tert-butylo-salicylowy	55
	Aldehyd 3-fenylo-salicylowy	97
	Aldehyd 3-tert-butylo-salicylowy	81

* Odchylenie standardowe od średniej, $SD \leq 7\%$

** Substrat lakazy

T a b e l a 2. Szczątkowa aktywność (%) lakazy wrośnika różnobarwnego badana w obecności związków referencyjnych (odniesienia) o stężeniu 0,05 mM w mieszaninie reakcyjnej

Struktura lub wzór sumaryczny	Nazwa	Aktywność szczątkowa* [%]
 związek referencyjny	(E)-iminowa pochodna hydrazynu kwasu 4-hydroksy-benzoowego i aldehydu 3-tert-butylo salicylowego	64
 związek referencyjny	(E)-iminowa pochodna hydrazynu kwasu 4-hydroksy-benzoowego i aldehydu 3,5-di-tert-butylo-salicylowego	65
 związek referencyjny	(E)-iminowa pochodna hydrazynu kwasu 4-hydroksy-benzoowego i aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego	90
 związek referencyjny	(E)-iminowa pochodna hydrazynu kwasu 4-hydroksy-benzoowego i aldehydu 3-fenylo salicylowego	98
NaN_3 związek referencyjny	Azydek sodu	9
Na_2EDTA związek referencyjny	Sól disodowa kwasu wersenowego	—**

* Odchylenie standardowe od średniej, $SD \leq 7\%$

** Nie zaobserwowano efektu hamowania aktywności

Po przeanalizowaniu tabeli 1, tabeli 2 i sposobu oznaczania aktywności, zasadniczą korzyścią wynikającą ze stosowania inhibitorów będących przedmiotem wynalazku jest wysoka zdolność hamowania aktywności lakazy wrośniaka różnobarwnego wydzielanej do zainfekowanej rośliny. Wartości aktywności szczątkowej lakazy w obecności hydrazonów o stężeniu 0,05 mM zawierają się w przedziale 4–96%. Wartości szczątkowej aktywności lakazy dla hydrazydów i aldehydów zawierają się w przedziałach, odpowiednio 83–94% i 55–99%.

Iminowe pochodne aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego i hydrazydów kwasowych zawierających hydroksylozony lub metoksylozony pierścień benzenowy w stężeniu 0,05 mM hamują lakazę wrośniaka różnobarwnego w zakresie 16-64% szczątkowej aktywności.

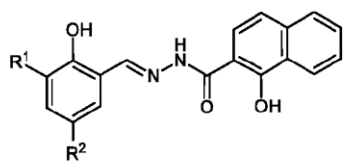
Zaletą wynalazku jest zdolność hamowania aktywności lakazy wrośniaka różnobarwnego na poziomie odpowiednio 63, 16, 56 i 37 % szczątkowej aktywności przez iminowe pochodne aldehydu 3-tert-butylo-5-metylo-salicylowego z hydrazydami kwasów 2-, 3-hydroksy-benzoowych i 3,5-dihydroksy-benzoowego oraz hydrazidem kwasu 4-hydroksy-fenylloctowego. Zaletą jest powszechne występowanie w roślinach aldehydu salicylowego i kwasów hydroksybenzoowych.

Zasadniczą korzyścią techniczno-użytkową jest zdolność hamowania lakazy na poziomie 4–15% szczątkowej aktywności iminowych pochodnych hydrazydu kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego i aldehydów salicylowych funkcjonalizowanych w pozycji 3 aldehydu salicylowego stabilizującym ugrupowaniem fenylowym lub tert-butylovym w porównaniu do 9% szczątkowej aktywności lakazy w obecności znanego silnie toksycznego dla ludzi i zwierząt silnego inhibitora metalo-enzymów, azydku sodu.

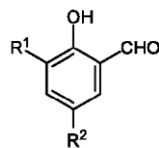
Zastrzeżenia patentowe

1. Iminowe pochodne aldehydów salicylowych i hydrazydów kwasowych o wzorze 8 lub 11 lub o wzorze ogólnym 1, w którym R^1 oznacza t-Bu, Ph, R^2 oznacza H, CH_3 , t-Bu, lub o wzorze ogólnym 3, w którym R^3 oznacza Ph, 2-HOC₆H₄, 3-HOC₆H₄, 4-HOC₆H₄CH₂, 3-CH₃OC₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄, 3,5-(HO)₂C₆H₃, 3-pirydył.
2. Sposób wytwarzania iminowych pochodnych aldehydów salicylowych i hydrazydów kwasowych o wzorze 8 lub 11 lub o wzorze ogólnym 1, w którym R^1 oznacza t-Bu, Ph, R^2 oznacza H, CH_3 , t-Bu, lub o wzorze ogólnym 3, w którym R^3 oznacza Ph, 2-HOC₆H₄, 3-HOC₆H₄, 4-HOC₆H₄CH₂, 3-CH₃OC₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄, 3,5-(HO)₂C₆H₃, 3-pirydył **znamienny tym**, że równomolową mieszaninę aldehydu salicylowego o wzorze 6 lub 9 lub aldehydów salicylowych o wzorze ogólnym 2, w którym R^1 oznacza t-Bu, Ph, R^2 oznacza H, CH_3 , t-Bu, lub o wzorze 6 oraz hydrazydu kwasu octowego o wzorze 7 lub hydrazydu kwasu 4-metoksybenzoowego o wzorze 10 lub hydrazydu kwasu 1-hydroksy-2-naftoesowego o wzorze 5 lub hydrazydów kwasowych o wzorze ogólnym 4, w którym R^3 oznacza Ph, 2-HOC₆H₄, 3-HOC₆H₄, 4-HOC₆H₄, 3-CH₃OC₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄CH, 3,5-(HO)₂C₆H₃, 3-pirydył, w rozpuszczalniku traktuje się kwasem octowym i reakcję prowadzi się we wrzącym rozpuszczalniku w temperaturze 338K do praktycznego przereagowania substratów a następnie z mieszaniny poreakcyjnej wydziela się produkty.
3. Sposób według zastrz. 2 **znamienny tym**, że jako rozpuszczalnik stosuje się alkohol metylowy.
4. Sposób według zastrz. 2 **znamienny tym**, że kwas octowy stosuje się w ilości co najwyżej 0,1 ml na 1 mmol substratu.
5. Sposób według zastrz. 2 **znamienny tym**, że uzyskane produkty przedstawione wzorem 8 lub 11 lub wzorem ogólnym 1 lub wzorem ogólnym 3 oczyszcza się przez krystalizację bezpośrednio z mieszaniny poreakcyjnej.
6. Zastosowanie iminowych pochodnych aldehydów salicylowych i hydrazydów kwasowych o wzorze 8 lub 11 lub o wzorze ogólnym 1 w którym R^1 oznacza t-Bu, Ph, R^2 oznacza H, CH_3 , t-Bu, lub o wzorze ogólnym 3, w którym R^3 oznacza Ph, 2-HOC₆H₄, 3-HOC₆H₄, 4-HOC₆H₄CH₂, 3-CH₃OC₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄, 3,5-(HO)₂C₆H₃, 3-pirydył jako środków ochrony roślin, zwłaszcza przeciwgrzybiczych.
7. Zastosowanie według zastrz. 6 **znamienne tym**, że obejmuje działanie przeciwgrzybiczne wobec lakazy wrośniaka różnobarwnego.

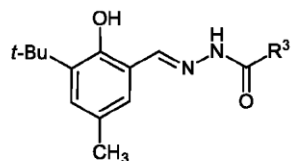
Rysunki



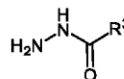
wzór ogólny-1



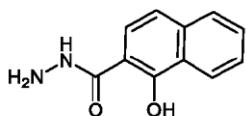
wzór ogólny-2



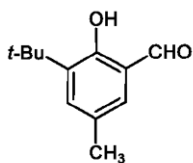
wzór ogólny-3



wzór ogólny-4



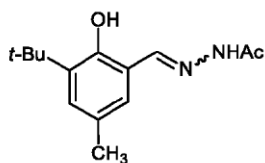
wzór-5



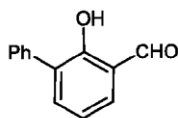
wzór-6



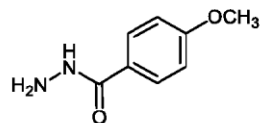
wzór-7



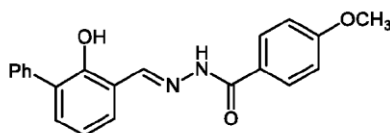
wzór-8



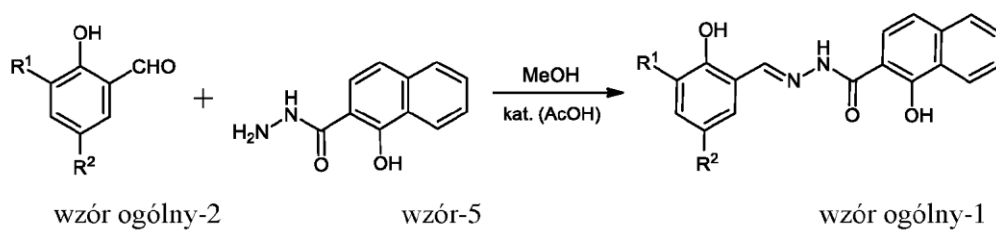
wzór-9



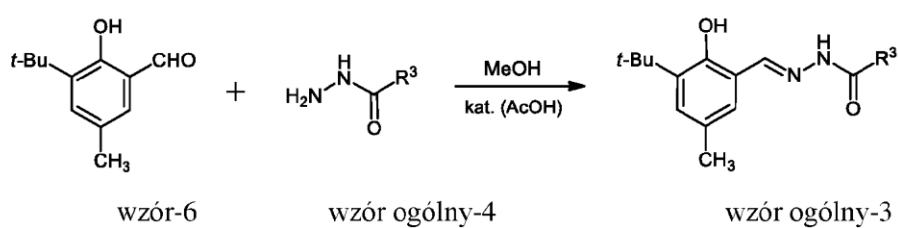
wzór-10



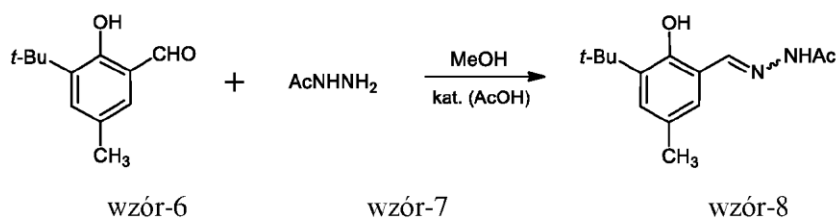
wzór-11



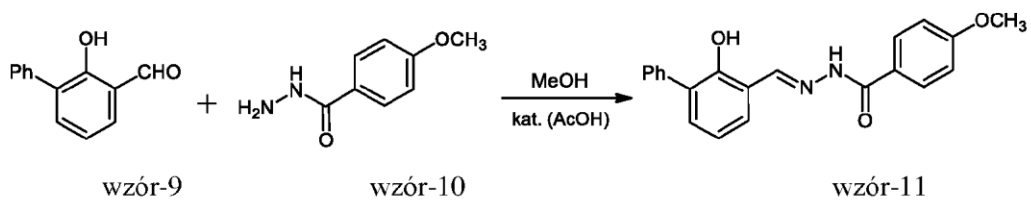
Schemat reakcji 1



Schemat reakcji 2



Schemat reakcji 3



Schemat reakcji 4