

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

2014-307

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/522 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07D 473/12 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

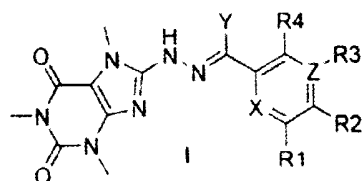
(22) Přihlášeno: **06.05.2014**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13.01.2016**
(Věstník č. 2/2016)

(71) Přihlašovatel:
Vysoká škola chemicko- technologická v Praze,
Praha 6, CZ
Ústav molekulární a translační medicíny Lékařské
fakulty Univerzity Palackého v Olomouci,
Olomouc, CZ
Ústav molekulární genetiky, Akademie Věd ČR,
Praha 4, CZ

(72) Původce:
Ing. Robert Kaplánek, Ph.D., Praha 10, CZ
Ing. Milan Jakubek, Rychvald, CZ
Ing. Martin Havlík, Ph.D., Praha 6, CZ
Ing. Jakub Rak, Plzeň, CZ
Ing. Tomáš Bříza, Ph.D., Praha 4, CZ
MUDr. Petr Džubák, Ph.D., Citov, CZ
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Moravský
Beroun, CZ
Mgr. Petr Konečný, Neředín, Olomouc, CZ
Mgr. Jana Štěpánková, Ph.D., Smilovice u Třince,
CZ
RNDr. Jarmila Králová, CSc., Praha 2, CZ
prof. RNDr. Vladimír Král, DSc., Praha 2, CZ

(74) Zástupce:
Oddělení pro vědu a výzkum VŠCHT Praha, Ing.
Iveta Pospíšilová, Technická 1905/5, 166 28 Praha
6



(54) Název přihlášky vynálezu:
**Kofein-8-hydrazony jako nová cytostatika
pro léčbu onkologických onemocnění**

(57) Anotace:
Předmětem vynálezu jsou kofein-8-hydrazony obecného
vzorce I mající substituovanou 2-hydroxyarylovou,
pyridinovou nebo pyrazinovou skupinu. Tyto látky mají
cytostatický účinek a lze je použít k přípravě terapeutik
pro léčbu onkologických onemocnění.

Kofein-8-hydrazony jako nová cytostatika pro léčbu onkologických onemocnění

Oblast techniky

Vynález se týká kofein-8-hydrazonů a jejich použití jako cytostatik pro léčbu onkologických onemocnění.

Dosavadní stav techniky

Onkologická onemocnění zapříčiní celosvětově přibližně 13% všech úmrtí a tento trend je na vzestupu. Jedním ze způsobů léčby onkologických onemocnění je chemoterapie, tedy podávání látek toxických pro rakovinné buňky (cytostatik). Rychle se množící rakovinné buňky jsou vůči cytostatikům citlivější než buňky zdravé. Mezi podstatné vedlejší (nežádoucí) účinky cytostatik patří fakt, že zasahují i buňky zdravé. Vyrůstající rezistence rakovinných buněk vůči cytostatikům také přináší nemalé potíže. Tlak na hledání a vývoj nových terapeutik s výrazně selektivním účinkem je proto stále velký. Z tohoto pohledu jsou perspektivní zejména látky s kombinovaným mechanismem účinku; příkladem takových látek jsou hydrazony.

Hydrazony vykazují často široké spektrum biologických účinků: řada z nich má výrazné antimikrobiální, antivirální, fungicidní, antimykobakteriální či antimalarické účinky. Mohou také sloužit jako terapeutika pro prevenci a léčbu neurodegenerativních onemocnění jako je Parkinsonova nebo Alzheimerova choroba nebo onemocnění spojených s přebytkem železa v organismu (thalasemie, hemochromatózy) [Z.D. Liu, R.C. Hider: Design of iron chelators with therapeutic application *Coord. Chem. Rev.* 2002, 232, 151-171; D. S. Kalinowski, D. R. Richardson: The Evolution of Iron Chelators for the Treatment of Iron Overload Disease and Cancer *Pharm. Rev.* 2005, 57, 547-583; H. Zheng, L. M. Weiner, O. Bar-Am, S. Epsztejn, Z. I. Cabantchik, A. Warshawsky, M. B. H. Youdim, M. Fridkin: Design, synthesis, and evaluation of novel bifunctional iron-chelators as potential agents for neuroprotection in Alzheimer's, Parkinson's, and other neurodegenerative diseases. *Bioorg. Med. Chem.* 2005, 13, 773–783;

N. Birch, X. Wang, H. S. Chong: Iron chelators as therapeutic iron depletion agents. *Expert Opin. Ther. Patents*. 2006, *16*, 1533-1556; S. Rollas, Ş. G. Küçükgülzel: Biological Activities of Hydrazone Derivatives. *Molecules* 2007, *12*, 1910-1939; E. D. Weinberg, J. Moon: Malaria and iron: history and review. *Drug Metabol. Rev.* 2009, *41*, 644-662; B. Narasimhan, P. Kumar, D. Sharma: Biological activities of hydrazide derivatives in the new millennium. *Acta Pharm. Sci.* 2010, *52*, 169-180; X. Li, J. Jankovic, W. Le: Iron chelation and neuroprotection in neurodegenerative diseases. *J. Neural. Transm.* 2011, *118*, 473-477; G. Uppal, S. Bala, S. Kamboj, M. Saini: Therapeutic Review Exploring Antimicrobial Potential of Hydrazones as Promising Lead. *Pharma Chem.* 2011, *3*, 250-268; R. Narang, B. Narasimhan, S. Sharma: A Review on Biological Activities and Chemical Synthesis of Hydrazide Derivatives. *Curr. Med. Chem.* 2012, *19*, 569-612; P. Kumar, B. Narasimhan: Hydrazides/Hydrazones as Antimicrobial and Anticancer Agents in the New Millennium. *Mini-Rev. Med. Chem.* 2013, *13*, 971-987; R. León, A. G. Garcia, J. Marco-Contelles: Recent Advances in the Multitarget-Directed Ligands Approach for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Med. Res. Rev.* 2013, *33*, 139-189].

Hydrazony vykazují v mnoha případech také protirakovinnou aktivitu a mohou tak být použity jako cytostatika pro léčbu onkologických onemocnění [J.L. Buss, B. T. Greene, J. Turner, F. M. Torti, S. V. Torti: Iron Chelators in Cancer Chemotherapy *Curr. Top. Med. Chem.* 2004, *4*, 1623-1635; D. S. Kalinowski, D. R. Richardson: The Evolution of Iron Chelators for the Treatment of Iron Overload Disease and Cancer *Pharm. Rev.* 2005, *57*, 547-583; S. Rollas, Ş. G. Küçükgülzel: Biological Activities of Hydrazone Derivatives. *Molecules* 2007, *12*, 1910-1939; H. Nick: Iron chelation, quo vadis? *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2007, *11*, 419-423; B. Narasimhan, P. Kumar, D. Sharma: Biological activities of hydrazide derivatives in the new millennium. *Acta Pharm. Sci.* 2010, *52*, 169-180; Z. Kovacevic, D. S. Kalinowski, D. B. Lovejoy, Y. Yu, Y. Suryo-Rahmanto, P. C. Sharpe, P. V. Bernhardt D. R. Richardson: The Medicinal Chemistry of Novel Iron Chelators for the Treatment of Cancer. *Curr. Top. Med. Chem.* 2011, *11*, 483-499; Y. Yu, E. Gutierrez, Z. Kovacevic, F. Saletta, P. Obeidy, Y. Suryo Rahmanto, D. R. Richardson: Iron Chelators for the Treatment of Cancer. *Curr. Med. Chem.* 2012, *19*, 2689-2702; P. Kumar, B. Narasimhan: Hydrazides/Hydrazones as Antimicrobial and Anticancer Agents in the New Millennium. *Mini-Rev. Med. Chem.* 2013, *13*, 971-987; A. M. Merlot, D. S. Kalinowski, D. R. Richardson: Novel chelators for cancer treatment: where are we now? *Antioxid. Redox Signal.* 2013, *18*, 973-1006; V. A. Rao: Iron Chelators with Topoisomerase-Inhibitory Activity and Their Anticancer Applications. *Antioxid. Redox Signal.* 2013, *18*, 930-

955; R. Kaplánek, J. Rak, V. Král, J. Králová: Ftalazin-1-ylhydrazony a jejich použití k léčbě nádorových onemocnění. *Patent*, 2013, CZ 303748 B6; J. Rak, R. Kaplánek, V. Král, J. Králová, T. Štulcová, P. Drašar: Konjugáty hydrazonů s kyselinou cholovou jako nová cytostatika. *Patent*, 2013, CZ 304112 B6].

Mechanismus účinku hydrazonů jako cytostatik pro léčbu onkologických onemocnění je založen především na chelataci iontů železa také iontů biologicky významných kovů, např. Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} či Ni^{2+} , protože rychle rostoucí rakovinné buňky potřebují pro svůj vývoj, fungování a dělení daleko větší množství iontů těchto biogenních kovů než zdravé buňky. Dalším možným mechanismem účinku je inhibice řady enzymů (např. ribonukleotid reduktázy, histon deacetyláz, acyl transferáz či topoisomeráz, často v přímé souvislosti s chelatací iontu kovu v metaloenzymu), rušení vzájemné komunikace nádorových buněk, produkce reaktivních kyslíkatých částic (ROS) nebo interkalaci ligandů či metalokomplexů do DNA. Přesný mechanismus účinku hydrazonů nebyl dosud plně vysvětlen, předpokládá se kombinace výše uvedených vlivů [S. Sarel, C. Fizames, F. Lavelle, S. Avramovici-Grisaru: Domain-Structured N1,N2-Derivatized Hydrazines as Inhibitors of Ribonucleoside Diphosphate Reductase: Redox-Cycling Considerations. *J. Med. Chem.* 1999, 42, 242-248; D. R. Richardson: Iron chelators as therapeutic agents for the treatment of cancer *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2002, 42, 267-81; J. L. Buss, B. T. Greene, J. Turner, F. M. Torti, S. V. Torti: Iron Chelators in Cancer Chemotherapy *Curr. Top. Med. Chem.* 2004, 4, 1623-1635; D. S. Kalinowski, D. R. Richardson: The Evolution of Iron Chelators for the Treatment of Iron Overload Disease and Cancer. *Pharmacol. Rev.* 2005, 57, 547-583; Z. Kovacevic, D. S. Kalinowski, D. B. Lovejoy, Y. Yu, Y. Suryo-Rahmanto, P. C. Sharpe, P. V. Bernhardt D. R. Richardson: The Medicinal Chemistry of Novel Iron Chelators for the Treatment of Cancer. *Curr. Top. Med. Chem.* 2011, 11, 483-499; R. Narang, B. Narasimhan, S. Sharma: A Review on Biological Activities and Chemical Synthesis of Hydrazide Derivatives. *Curr. Med. Chem.* 2012, 19, 569-612; V. A. Rao: Iron Chelators with Topoisomerase-Inhibitory Activity and Their Anticancer Applications. *Antioxid. Redox Signal.* 2013, 18, 930-955; A. M. Merlot, D. S. Kalinowski, D. R. Richardson: Novel chelators for cancer treatment: where are we now? *Antioxid. Redox Signal.* 2013, 18, 973-1006].

Některé kofein-8-hydrazony byly publikovány jako selektivní duální inhibitory Aurora kinázy A a její T217D varianty [K. H. Barakat, J. T. Huzil, K. E. Jordan, C. Evangelinos, M. Houghton, J. Tuszynski: A Computational Model for Overcoming Drug Resistance Using

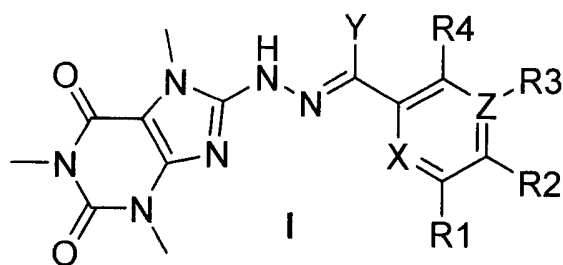
Selective Dual-Inhibitors for Aurora Kinase A and Its T217D Variant. *Mol. Pharmaceutics* 2013, 10, 4572-4589], byly také patentovány jako modulátory buněčné adheze [B. J. Gour, O. W. Blaschuk, A. Ali, F. Ni, Z. Chen, S. D. Michaud, S. Wang, Z. Hu: Peptidomimetic modulators of cell adhesion. *U.S. Pat. Appl. Publ.* 2002, US 20020168761 A1; B. J. Gour, O. W. Blaschuk, A. Ali, F. Ni, Z. Chen, S. D. Michaud, S. Wang, Z. Hu: Peptidomimetic modulators of cell adhesion. *U.S. Pat. Appl. Publ.* 2004, US 20040006011 A1]. Některé kofein-8-hydrazony sloužily jako intermediáty při přípravě biologicky aktivních fúzovaných purinů [M. A. N. Mosselhi, N. M. Tawfik, A. S. Shawali: New [e]-Fused Caffeines: A Simple Synthesis of 3-Substituted [1,2,4]Triazolo[4,3-e]purines. *Monatsh. Chem.* 2003, 134, 565-571; F. A. Ashour, S. M. Rida, S. A. M. El-Hawash, M. M. El-Semary, M. H. Badr: Synthesis, anticancer, anti-HIV-1, and antimicrobial activity of some tricyclic triazino and triazolo[4,3-e]purine derivatives. *Med. Chem. Res.* 2012, 21, 1107-1119], u dalších byla popsána pouze jejich příprava bez uvedení jakékoliv biologické aktivity [J. Klosa: Condensation of aldehydes and ketones with 8-hydrazinocaffeine. *Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharm. Ges.* 1956, 289, 211-217; J. Klosa: The condensation of 8-hydrazinocaffeine with sugars. *Chem. Ber.* 1957, 90, 2439-2443].

Strukturně blízké hydrazony vzniklé kondenzací N⁷-ethyl derivátu kofein-8-hydrazinu s aldopentosami a aldohexosami a jejich peracetylované deriváty vykazují antimikrobiální aktivitu [M. A. Mosselhi, M. A. Abdallah, N. H. Metwally, I. A. El-Desoky, L. M. Break: Synthesis, structure and antimicrobial evaluation of new derivatives of theophylline sugar hydrazones. *Arkivoc* 2009, xiv, 53-63]; u N⁷-[(2-fenyl)ethyl]kofein-8-hydrazonů byla testována jejich antioxidační aktivita [D. B. Korobko, I. F. Belenichev, L. M. Mosula, J. I. Dybko: Search for prospective compounds with antioxidant activities among derivatives of 7-phenethyl-8-hydrazinotheophylline. *Med. Khim.* 2005, 7, 11-15].

Kofein-8-hydrazony mající substituovanou 2-hydroxyarylovou, 2-hydroxyheteroarylovou nebo 2-N-heteroarylovou skupinu a využití těchto látek k léčbě onkologických onemocnění jsou předmětem tohoto patentu.

Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu jsou kofein-8-hydrazony obecného vzorce I mající substituovanou 2-hydroxyarylovou, 2-hydroxyheteroarylovou nebo 2-N-heteroarylovou skupinu.



kde Y je H, CH₃ nebo 2-pyridyl,

X je C-OH nebo N,

Z je C nebo N,

R je alkyl s 1 až 6 uhlíkovými atomy,

R₁, R₂, R₃, R₄ jsou H, OH, alkyl s 1 až 6 uhlíkovými atomy, allyl, fenyl (Ph), halogen, CH₂OH, OR, CF₃, CF₂CF₃, OCF₃, OCOCH₃, OPh, CN, COOH, COOR, CONH₂, CONHR, CONR₂, CONHOH, CONHNH₂, NO₂, SH, SR, SCN, NH₂, NHR, NR₂, NHCOCH₃, NHCONH₂, NHCSNH₂, NHSO₂NH₂, NHCOOtBu, B(OH)₂, B(OCH₃)₂, SO₃H, SO₂NH₂, SO₂N(CH₃)₂,

R₁, R₂ nebo R₂, R₃ nebo R₃, R₄ jsou CH=CH-CH=CH, tedy přikondenzované benzenové jádro,

R₁, R₂ nebo R₂, R₃ nebo R₃, R₄ jsou N=CH-CH=CH, tedy přikondenzované pyridinové jádro,

R₁, R₂ nebo R₂, R₃ nebo R₃, R₄ jsou CH=N-CH=CH, tedy přikondenzované pyridinové jádro,

s výjimkou látky, kde X = N; Z = C; Y = H; R₁ = Me; R₂ = R₃ = R₄ = H a látky, kde X = N; Z = C; Y = H; Y = H, R₁, R₂ = CH=CH-CH=CH; R₃ = R₄ = H.

Kofein-8-hydrazony obecného vzorce I mají cytostatické účinky a lze je použít pro přípravu léčiv k léčbě leukémií a nádorových onemocnění.

Příprava kofein-8-hydrazonů obecného vzorce I, jejich stabilita v roztoku, komplexační a cytostatické vlastnosti jsou doloženy následujícími příklady, aniž by jimi byly jakkoliv omezeny.

Příklady provedení přípravy nových sloučenin a měření jejich vlastností.

Příklad 1. Příprava 8-[2-(2-hydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxybenzaldehyd (122 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 145 mg (88%) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3,18 (s, 3H); 3,37 (s, 3H); 3,80 (s, 3H); 6,86 (m, 2H); 7,21 (m, 1H); 7,54 (dd, $J = 7,6, 1.5$ Hz, 1H); 8,37 (s, 1H); 10,71 (s, 1H); 11,40 (s, 1H)

Příklad 2. Příprava 8-[2-(2-hydroxy-3-methylbenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-3-methylbenzaldehyd (136 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 135 mg (79%) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 2,48 (s, 3H); 3,19 (s, 3H); 3,38 (s, 3H); 3,81 (s, 3H); 6,86 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H); 7,35 (dd, $J = 8,7, 2,6$ Hz, 1H); 7,73 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H); 8,34 (s, 1H); 10,86 (s, 1H); 11,52 (s, 1H)

Příklad 3. Příprava 8-[2-(2-hydroxy-3-methoxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd (152 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s isopropanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 166 mg (86 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3,17 (s, 3H); 3,36 (s, 3H); 3,79 (s, 3H); 3,80 (s, 3H);

6.80 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H); 6.96 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H); 7.14 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H); 8.37 (s, 1H); 10.24 (s, 1H); 11.41 (s, 1H)

Příklad 4. Příprava 8-[2-(2,3-dihydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2,3-Dihydroxybenzaldehyd (138 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 65°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 143 mg (83 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3,19 (s, 3H); 3,38 (s, 3H); 3,80 (s, 3H); 6,70 (m, 1H); 6,80 (dd, $J = 7,8, 1,7$ Hz, 1H); 6,98 (dd, $J = 7,8, 1,7$ Hz, 1H); 8,36 (s, 1H); 9,27 (s, 1H); 10,40 (s, 1H); 11,40 (s, 1H)

Příklad 5. Příprava 8-[2-(3-allyl-2-hydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

3-Allyl-2-hydroxybenzaldehyd (162 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 142 mg (77 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3,17 (s, 3H); 3,35 (m, 2H); 3,38 (s, 3H); 3,72 (s, 3H); 5,03 (m, 2H); 5,98 (m, 1H); 6,86 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,12 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H); 7,27 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H); 8,34 (s, 1H); 11,43 (s, 1H); 11,46 (s, 1H)

Příklad 6. Příprava 8-[2-(2-hydroxy-4-methoxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyd (152 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s isopropanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 80°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 143 mg (80 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.18 (s, 3H); 3.37 (s, 3H); 3.75 (s, 3H); 3.78 (s, 3H); 6.47 (m, 2H); 7.44 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H); 8.31 (s, 1H); 11.02 (s, 1H); 11.25 (s, 1H)

Příklad 7. Příprava 8-[2-(2,4-dihydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2,4-Dihydroxybenzaldehyd (138 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 158 mg (92 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.17 (s, 3H); 3.36 (s, 3H); 3.77 (s, 3H); 6.32 (m, 2H); 7.30 (m, 1H); 8.28 (s, 1H); 10.45 (bs, 1H); 11.12 (bs, 1H)

Příklad 8. Příprava 8-{2-[4-(diethylamino)-2-hydroxybenzyliden]hydrazinyl}kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

4-(Diethylamino)-2-hydroxybenzaldehyd (193 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 172 mg (86 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 1.10 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H); 3.18 (s, 3H); 3.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H); 3.37 (s, 3H); 3.75 (s, 3H); 6.11 (s, 1H); 6.24 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H); 7.22 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H); 8.21 (s, 1H); 10.87 (s, 1H); 11.01 (s, 1H)

Příklad 9. Příprava 8-{2-[(8-hydroxy-2,3,6,7-tetrahydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]chinolin-9-yl)methyliden]hydrazinyl}kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

8-hydroxy-1,2,3,5,6,7-hexahydropyridochinolin-9-karbaldehyd (217 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 176 mg (83 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 1.85 (m, 4H); 2.60 (m, 4H); 3.14 (m, 4H); 3.18 (s, 3H); 3.38 (s, 3H); 3.70 (s, 3H); 6.70 (s, 1H); 8.11 (s, 1H); 10.96 (s, 1H); 11.29 (s, 1H)

Příklad 10. Příprava 8-[2-(2-hydroxy-5-methylbenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-5-methylbenzaldehyd (137 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s isopropanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 80°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 135 mg (79 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 2.23 (s, 3H); 3.19 (s, 3H); 3.38 (s, 3H); 3.81 (s, 3H); 6.79 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H); 7.04 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H); 7.34 (s, 1H); 8.35 (s, 1H); 10.52 (s, 1H); 11.38 (s, 1H)

Příklad 11. Příprava 8-[2-(2-hydroxy-5-methoxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-5-methoxybenzaldehyd (152 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methoxyethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 80°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 154 mg (86 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.18 (s, 3H); 3.37 (s, 3H); 3.71 (s, 3H); 3.83 (s, 3H); 6.82 (m, 2H); 7.10 (m, 1H); 8.34 (s, 1H); 10.18 (s, 1H); 11.44 (bs, 1H)

Příklad 12. Příprava 8-[2-(2,5-dihydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2,5-Dihydroxybenzaldehyd (138 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 153 mg (89 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.19 (s, 3H); 3.38 (s, 3H); 3.83 (s, 3H); 6.68 (m, 2H); 7.00 (dd, $J = 2,9, 1,4$ Hz, 1H); 8.32 (s, 1H); 8.91 (s, 1H); 9.85 (s, 1H); 11.34 (s, 1H)

Příklad 13. Příprava 8-[2-(5-chlor-2-hydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-5-chlorbenzaldehyd (156 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methoxyethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 80°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 167 mg (92 %) pevné látky.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 3,19 (s, 3H); 3,38 (s, 3H); 3,82 (s, 3H); 6,91 (m, 1H); 7,25 (m, 1H); 7,60 (s, 1H); 8,34 (s, 1H); 10,85 (s, 1H); 11,54 (s, 1H)

Příklad 14. Příprava 8-[2-(5-brom-2-hydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

3-Brom-2-Hydroxybenzaldehyd (201 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methoxyethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 80°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 189 mg (93 %) pevné látky.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 3,18 (s, 3H); 3,39 (m, 3H); 3,74 (s, 3H); 6,82 (t, J = 7,5 Hz, 1H); 7,15 (d, J = 7,5 Hz, 1H); 7,24 (d, J = 7,5 Hz, 1H); 8,35 (s, 1H); 11,37 (s, 1H); 11,42 (s, 1H)

Příklad 15. Příprava 8-[2-(5-*terc*-butyl-2-hydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

5-*terc*-Butyl-2-hydroxybenzaldehyd (178 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 154 mg (80 %) pevné látky.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 1,25 (s, 9H); 3,19 (s, 3H); 3,37 (s, 3H); 3,82 (s, 3H); 6,82 (d, J = 8,6 Hz, 1H); 7,26 (dd, J = 8,6, 2,5 Hz, 1H); 7,51 (d, J = 2,5 Hz, 1H); 8,37 (s, 1H); 10,55 (s, 1H); 11,41 (s, 1H)

Příklad 16. Příprava 8-[2-(2-hydroxy-5-nitro-benzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-5-nitrobenzaldehyd (167 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (43 mg; 0,15 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 175 mg (94 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3,19 (s, 3H); 3,39 (m, 3H); 3,83 (s, 3H); 7,07 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H); 8,11 (d, $J = 9,01$ Hz, 1H); 8,44 (s, 1H); 8,50 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); 11,65 (s, 1H); 12,00 (s, 1H)

Příklad 17. Příprava 8-{2-[2-hydroxy-5-(methoxykarbonyl)benzyliden]hydrazinyl}kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

Methyl 3-formyl-4-hydroxybenzoát (180 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 60°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 176 mg (91 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3,21 (s, 3H); 3,41 (s, 3H); 3,37 (s, 3H); 3,83 (s, 3H); 7,01 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H); 7,83 (dd, $J = 8,6, 2,2$ Hz, 1H); 8,25 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H); 8,45 (s, 1H); 11,52 (bs, 1H)

Příklad 18. Příprava 8-{2-[(1-hydroxynaftalen-2-yl)methyliden]hydrazinyl}kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

1-Hydroxy-2-formyl-naftalen (172 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s isopropanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 80°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 172 mg (91 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3,19 (s, 3H); 3,43 (s, 3H); 3,78 (s, 3H); 7,51 (m, 4H); 7,85 (m, 1H); 8,27 (m, 1H); 8,51 (s, 1H); 11,52 (s, 1H); 12,20 (s, 1H)

Příklad 19. Příprava 8-{2-[(2-hydroxynaftalen-1-yl)methyliden]hydrazinyl}kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-1-formylnaftalen (172 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s isopropanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 80°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 167 mg (88 %) pevné látky.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 3,20 (s, 3H); 3,41 (s, 3H); 3,79 (s, 3H); 7,38 (m, 1H); 7,57 (m, 1H); 7,87 (m, 2H); 8,29 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 9,18 (s, 1H); 11,45 (s, 1H); 12,20 (s, 1H)

Příklad 20. Příprava 8-[2-(3,5-di-*terc*-butyl-2-hydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

3,5-Di(*terc*-butyl)-2-hydroxybenzaldehyd (234 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methoxyethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 90°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 169 mg (77 %) pevné látky.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 1,28 (s, 9H); 1,41 (s, 9H); 3,20 (s, 3H); 3,41 (s, 3H); 3,75 (s, 3H); 7,21 (s, 1H); 7,27 (s, 1H); 8,38 (s, 1H); 11,39 (s, 1H); 11,74 (s, 1H)

Příklad 21. Příprava 8-[2-(3,5-dichlor-2-hydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-3,5-dichlorbenzaldehyd (191 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methoxyethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 90°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 185 mg (93 %) pevné látky.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 3,18 (s, 3H); 3,39 (s, 3H); 3,75 (s, 3H); 7,52 (d, J = 2,5 Hz, 1H); 7,58 (d, J = 2,5 Hz, 1H); 8,31 (s, 1H); 11,87 (bs, 2H)

Příklad 22. Příprava 8-[2-(3,5-dibrom-2-hydroxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-3,5-dibrombenzaldehyd (280 mg; 0,5 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methoxyethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při

90°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 219 mg (90 %) pevné látky.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 3,13 (s, 3H); 3,35 (s, 3H); 3,69 (s, 3H); 7,63 (m, 2H); 8,18 (s, 1H); 11,70 (bs, 1H); 12,03 (bs, 1H)

Příklad 23. Příprava 8-[2-[2-hydroxy-3-methoxy-5-(prop-2-en-1-yl)benzyliden]hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

5-Allyl-2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyd (192 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s dioxanem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 80°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 161 mg (81 %) pevné látky.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 3,20 (s, 3H); 3,31 (m, 2H); 3,39 (s, 3H); 3,79 (s, 3H); 3,82 (s, 3H); 5,07 (m, 2H); 5,96 (m, 1H); 6,80 (s, 1H); 6,98 (s, 1H); 8,38 (s, 1H); 10,06 (s, 1H); 11,39 (s, 1H)

Příklad 24. Příprava 8-[2-(5-brom-2-hydroxy-3-methoxybenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

5-Brom-2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyd (231 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s dioxanem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 80°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 188 mg (86 %) pevné látky.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 3,18 (s, 3H); 3,38 (s, 3H); 3,81 (s, 3H); 3,83 (s, 3H); 7,10 (d, J = 2,2 Hz, 1H); 7,33 (d, J = 2,2 Hz, 1H); 8,34 (s, 1H); 10,39 (s, 1H); 11,52 (s, 1H)

Příklad 25. Příprava 8-[2-(2-hydroxy-3-methoxy-5-nitrobenzyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Hydroxy-3-methoxy-5-nitrobenzaldehyd (197 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s dioxanem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 80°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml).

Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 194 mg (96 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3,18 (s, 3H); 3,39 (s, 3H); 3,83 (s, 3H); 3,94 (s, 3H); 7,70 (s, 1H); 8,13 (s, 1H); 8,44 (s, 1H); 11,57 (s, 2H)

Příklad 26. Příprava 8-[2-(pyridin-2-ylmethyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

Pyridin-2-karbaldehyd (107 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 60°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 130 mg (83%) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3,19 (s, 3H); 3,38 (s, 3H); 3,94 (s, 3H); 7,35 (m, 1H); 7,86 (m, 2H); 8,13 (s, 1H); 8,57 (m, 1H); 11,71 (s, 1H)

Příklad 27. Příprava 8-{2-[(6-methylpyridin-2-yl)methyliden]hydrazinyl}kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

6-Methyl-pyridin-2-karbaldehyd (121 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 60°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 129 mg (79 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 2,47 (s, 3H); 3,20 (s, 3H); 3,38 (s, 3H); 3,95 (s, 3H); 7,21 (dd, $J = 6,8, 1,7$ Hz, 1H); 7,69 (m, 2H); 8,07 (s, 1H); 11,70 (s, 1H)

Příklad 28. Příprava 8-{2-[(6-methoxypyridin-2-yl)methyliden]hydrazinyl}kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

6-Methoxy-pyridin-2-karbaldehyd (137 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 60°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 149 mg (87 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.21 (s, 3H); 3.39 (s, 3H); 3.88 (s, 3H); 3.97 (s, 3H); 6.79 (d, J = 8.1 Hz, 1H); 7.46 (d, J = 7.3 Hz, 1H); 7.75 (m, 1H); 8.03 (s, 1H); 11.68 (s, 1H)

Příklad 29. Příprava 8-[2-(dipyridin-2-ylmethyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

Di(2-pyridyl)keton (184 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 166 mg (85 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.22 (s, 3H); 3.41 (s, 3H); 3.97 (s, 3H); 7.48 (m, 1H); 7.59 (m, 2H); 7.89 (m, 1H); 7.99 (m, 2H); 8.61 (m, 1H); 8.89 (m, 1H)

Příklad 30. Příprava 8-[2-(chinolin-2-ylmethyliden)hydrazinyl]kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

Chinolin-2-karaldehyd (157 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s ethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 70°C po dobu 2 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs odpařena do sucha. Odparek byl suspendován v diethyletheru (50 ml), odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 147 mg (81 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.21 (s, 3H); 3.40 (s, 3H); 4.00 (s, 3H); 7.59 (m, 1H); 7.75 (m, 1H); 7.99 (m, 3H); 8.27 (s, 1H); 8.34 (d, J = 8,6 Hz, 1H); 11.84 (bs, 1H)

Příklad 31. Příprava 8-{2-[1-(pyrazin-2-yl)ethyliden]hydrazinyl}kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

Acetylpyrazin (122 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methoxyethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 90°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 126 mg (77 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 2.39 (s, 3H); 3.22 (s, 3H); 3.41 (s, 3H); 4.01 (s, 3H); 8.58 (d, J = 2,5 Hz, 1H); 8.62 (m, 1H); 9.19 (s, 1H); 10.77 (bs, 1H)

Příklad 32. Příprava 8-{2-[1-(3-methylpyrazin-2-yl)ethyliden]hydrazinyl}kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I.

2-Acetyl-3-methylpyrazin (136 mg; 1 mmol) a 8-hydrazinylkofein (112 mg; 0,5 mmol) byly smíšeny v baňce s methoxyethanolem (20 ml). Reakční směs byla míchána při 90°C po dobu 3 dní. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs nalita do diethyletheru (250 ml). Pevný produkt byl odfiltrován, na fritě promyt další várkou diethyletheru (3x 30 ml) a usušen za vakua při 50°C. Bylo získáno 135 mg (79 %) pevné látky.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 2,40 (s, 3H); 2,73 (s, 3H); 3,20 (s, 3H); 3,39 (s, 3H); 3,84 (s, 3H); 8,48 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); 8,50 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); 10,31 (s, 1H)

Příklad 33. Stabilita kofein-8-hydrazonů v roztoku.

Hydrazony mohou za určitých podmínek podléhat hydrolyze. Pro jejich případné využití ve veterinární či humánní medicíně je nezbytné, aby byly po určitou dobu stabilní ve vodě, pufrech či směsi vody s organickými rozpouštědly (zejména DMSO, jež se u hůře rozpustných látek používá pro jejich převedení do roztoku a následnou aplikaci).

Zředěné roztoky látek uvedených v příkladech 1-32 ve směsi DMSO/voda (1:1, v/v) jsou stabilní při fyziologickém pH = 7,4 po dobu nejméně 2 dny při laboratorní teplotě ($\approx 20^\circ\text{C}$) a po dobu nejméně 7 dní při teplotě do 5°C (jejich UV-Vis spektra jsou po této době nezměněná). Látky uvedené v příkladech 1-32 jsou stabilní v roztoku deuterovaného DMSO při laboratorní teplotě ($\approx 20^\circ\text{C}$) po dobu nejméně 21 dní (jejich ^1H NMR spektra jsou po celou dobu neměnná). Látky je tak možno po uvedené doby skladovat jako roztoky, ideálně jako roztoky v čistém DMSO při nízké teplotě (tedy za podmínek, kdy nedochází k jejich hydrolyze či rozkladu).

Příklad 34. Komplexační vlastnosti.

Jedním z předpokládaných mechanismů účinku tohoto typu látek je chelatace iontů biologicky významných kovů, které jsou součástí metaloproteinů a metaloenzymů a způsobují tak inhibici enzymové aktivity. UV/Vis titrace 8-[2-(2-hydroxybenzyliden)hydrazinyl]-kofeinu, spadajícího pod obecný vzorec I s železitými (Fe^{3+}), kobaltnatými (Co^{2+}) a měďnatými (Cu^{2+}) ionty ukazují, že tento hydrazon tvoří s železitým a

kobaltnatým iontem komplex 2:1, s měďnatým iontem komplex 1:1, které se však liší v konstantě stability. Titrace byly provedeny ve směsi DMSO-voda (1:1 v/v).

Příklad 35. Protirakovinné vlastnosti.

Byly provedeny testy kofein-8-hydrazonů na sedmi rakovinných liniích CCRF-CEM (T-lymfoblastická leukémie), CEM-DNR (T-lymfoblastická leukémie, daunorubicin resistantní), K562 (myeloidní leukémie), K562-TAX (myeloidní leukémie, paclitaxel resistantní), HCT116 (lidský kolorektální karcinom), HCT116p53/- (lidský kolorektální karcinom, p53-deficientní), A549 (lidský plicní adenokarcinom) a dvou zdravých liniích BJ (lidské fibroblasty) a MRC-5 (lidské plicní fibroblasty).

V Tabulkách 1 a 2 jsou uvedeny příklady struktur a koncentrace kofein-8-hydrazonů inhibující buněčnou viabilitu buněčných linií na 50% uvedená jako IC_{50} (μM) $\pm$ SD.

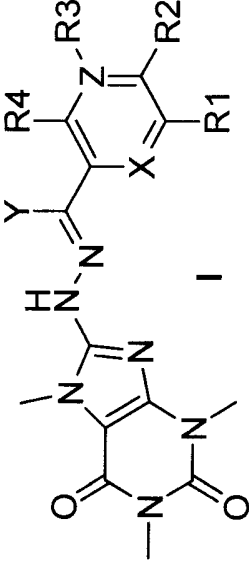
Testované látky vykazují hodnoty IC_{50} od 0,4 μM . Většina derivátů vykazují vyšší cytotoxicitu vůči leukemické buněčné linii CCRF-CEM (T-lymfoblastická leukémie) než vůči buněčné linii CEM-DNR (daunorubicin resistantní T-lymfoblastická leukémie). V případě myeloidní leukémie vykazují testované látky obdobnou cytotoxickou aktivitu vůči liniím K562 a K562-TAX (paclitaxel resistantní myeloidní leukémie). Většina derivátů vykazovala obdobnou inhibiční aktivitu vůči lidskému kolorektálnímu karcinomu (linie HTC116) a vůči jeho p53 deficitní variantě (linie HCT116p53/-). Hodnoty IC_{50} pro linii A549 (lidský plicní adenokarcinom) se pohybovaly v rozmezí 2 až přes 25 μM . Připravené a testované látky vykazovaly ve většině případů hodnoty IC_{50} pro zdravé buněčné linie - BJ (lidské fibroblasty) a MRC-5 (lidské plicní fibroblasty) v rozsahu nad 25 μM . Ve většině případů vykazovaly testované látky vyšší cytotoxicitu (nižší hodnoty IC_{50}) pro leukemické a rakovinné linie CCRF-CEM, K562, HTC116, HCT116p53/- a A549 než pro zdravé linie BJ a MRC-5.

Ze strukturního pohledu jsou nejaktivnější lipofilní deriváty znázorněné obecným vzorcem I, kde X je C-OH; Z je C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = tBu a kde X je C-OH; Z je C; Y = H; R1, R2 = CH=CH-CH=CH; R3 = R4 = H; dále pak pyridinové deriváty znázorněné obecným vzorcem I, kde X je N; Z je C; Y = H; R1 = R2 = R3 = R4 = H a kde X je N; Z je C; Y = 2-Py; R1 = R2 = R3 = R4 = H a pyrazinové deriváty znázorněné obecným vzorcem I, kde X je N; Z je N; Y = Me; R1 = R2 = R5 = H a kde X je N; Z je N; Y = Me; R1 = R2 = H; R5 = Me.

Průmyslové využití

Vynález je využitelný ve farmaceutickém průmyslu, k přípravě nových léčiv a k léčbě onkologických onemocnění.

Tabulka 1. IC₅₀ (μM) pro vybrané hydrazony (linie CCRF-CEM, CEM-DNR, K562 a K562-TAX)

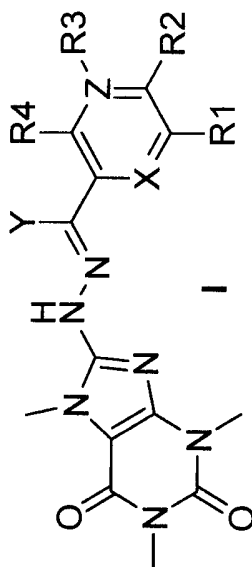
		IC ₅₀ ± SD (μM)			
		CCRF-CEM	CEM-DNR	K562	K562-TAX
	X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R3 = R4 = H	20,25 ± 3,24	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	21,36 ± 2,13
	X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = Me; R2 = R3 = R4 = H	5,02 ± 2,51	25,00 ± 0,00	19,77 ± 4,06	24,10 ± 1,43
	X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = OMe; R2 = R3 = R4 = H	24,40 ± 1,01	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
	X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = OH; R2 = R3 = R4 = H	3,79 ± 0,32	22,99 ± 3,11	25,00 ± 0,00	24,95 ± 0,11
	X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = Allyl; R2 = R3 = R4 = H	4,25 ± 0,58	19,24 ± 4,35	13,78 ± 1,39	16,84 ± 0,87
	X = C-OH; Z = C; Y = H; R2 = OMe; R1 = R3 = R4 = H	4,40 ± 0,42	11,96 ± 3,50	25,00 ± 0,00	4,15 ± 0,23
	X = C-OH; Z = C; Y = H; R2 = OH; R1 = R3 = R4 = H	22,73 ± 1,96	16,59 ± 6,60	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
	X = C-OH; Z = C; Y = H; R2 = N(Et ₂); R1 = R3 = R4 = H	3,59 ± 0,28	15,07 ± 0,59	14,15 ± 0,47	13,11 ± 1,00
	X = C-OH; Z = C; Y = H; R1, R2, R3 = (CH ₂) ₃ -N-(CH ₂) ₃ ; R4 = H	15,80 ± 0,70	19,81 ± 4,39	16,04 ± 1,57	16,79 ± 1,30
	X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = Me	24,63 ± 0,64	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	21,47 ± 2,09

X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = OMe	15,15 ± 6,23	25,00 ± 0,00	4,31 ± 0,87	6,48 ± 2,49
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = OH	15,37 ± 0,55	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = Cl	3,37 ± 0,22	23,69 ± 2,02	15,49 ± 0,81	18,42 ± 0,85
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = Br	24,45 ± 0,90	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = tBu	0,49 ± 0,25	25,00 ± 0,00	14,64 ± 2,76	18,38 ± 1,65
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = NO ₂	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	19,90 ± 2,19
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = COOMe	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1, R2 = CH=CH-CH=CH; R3 = R4 = H	3,16 ± 0,31	16,27 ± 6,79	13,15 ± 3,03	4,30 ± 0,12
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = H; R3, R4 = CH=CH-CH=CH	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R3 = tBu; R2 = R4 = H	4,73 ± 1,64	15,34 ± 0,79	12,56 ± 0,79	15,57 ± 0,84
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R3 = Cl; R2 = R4 = H	3,64 ± 0,14	20,35 ± 5,17	15,51 ± 1,36	16,32 ± 1,15
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R3 = Br; R2 = R4 = H	1,37 ± 0,74	16,24 ± 1,40	13,16 ± 0,97	16,92 ± 1,26
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = OMe; R3 = Allyl; R2 = R4 = H	3,04 ± 0,30	15,32 ± 0,91	14,16 ± 0,53	15,11 ± 0,56
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = OMe; R3 = Br; R2 = R4 = H	25,00 ± 0,00	14,91 ± 4,04	25,00 ± 0,00	20,58 ± 3,05
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = OMe; R3 = NO ₂ ; R2 = R4 = H	25,00 ± 0,00	4,40 ± 0,29	21,48 ± 1,02	7,35 ± 1,51
X = N; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R3 = R4 = H	1,04 ± 0,42	4,97 ± 0,52	3,33 ± 0,11	6,76 ± 1,70
X = N; Z = C; Y = H; R1 = Me; R2 = R3 = R4 = H	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = N; Z = C; Y = H; R1 = OMe; R2 = R3 = R4 = H	25,00 ± 0,00	24,34 ± 1,03	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00

X = N; Z = C; Y = 2-Py; R1 = R2 = R3 = R4 = H	0,51 ± 0,11	2,89 ± 0,18	0,88 ± 0,09	1,05 ± 0,26
X = N; Z = C; Y = H; R1, R2 = CH=CH-CH=CH; R3 = R4 = H	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = N; Z = N; Y = Me; R1 = R2 = R5 = H	0,34 ± 0,13	4,19 ± 0,52	2,79 ± 0,24	3,74 ± 0,05
X = N; Z = N; Y = Me; R1 = R2 = H; R5 = Me	2,84 ± 0,31	14,73 ± 0,55	8,93 ± 1,00	14,77 ± 0,90

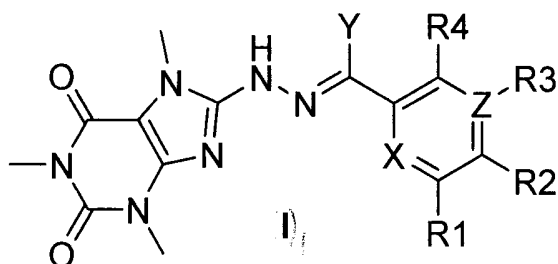
Tabulka 2. IC₅₀ (μM) pro vybrané hydrazony (linie HCT116, HCT116p53^{-/-}, A549, BJ a MRC-5)

	IC ₅₀ ± SD (μM)				
	HCT116	HCT116 p53 ^{-/-} /-	A549	BJ	MRC-5
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R3 = R4 = H	25,00 ± 0,00	23,80 ± 1,41	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = Me; R2 = R3 = R4 = H	17,12 ± 0,94	20,12 ± 3,87	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = OMe; R2 = R3 = R4 = H	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00



X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = OH; R2 = R3 = R4 = H	24,12 ± 1,13	24,82 ± 0,28	25,00 ± 0,00	24,92 ± 0,13	24,23 ± 1,20
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = Allyl; R2 = R3 = R4 = H	20,64 ± 2,97	17,30 ± 3,71	23,69 ± 2,04	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R2 = OMe; R1 = R3 = R4 = H	19,21 ± 3,16	15,24 ± 0,75	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R2 = OH; R1 = R3 = R4 = H	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R2 = N(Et ₂); R1 = R3 = R4 = H	4,93 ± 2,31	16,21 ± 0,70	15,01 ± 0,88	25,00 ± 0,00	24,23 ± 1,23
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1, R2, R3 = (CH ₂) ₃ -N-(CH ₂) ₃ ; R4 = H	14,42 ± 1,91	13,63 ± 1,95	23,14 ± 2,52	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = Me	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = OMe	23,65 ± 2,17	25,00 ± 0,00	24,76 ± 0,38	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = OH	20,96 ± 1,67	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = Cl	15,87 ± 1,01	16,13 ± 4,26	23,10 ± 1,55	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = Br	23,30 ± 2,58	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = tBu	19,41 ± 2,37	19,97 ± 2,90	24,00 ± 1,64	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = NO ₂	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	22,51 ± 1,13	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R4 = H; R3 = COOMe	20,45 ± 2,65	20,93 ± 3,22	20,89 ± 0,83	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1, R2 = CH=CH=CH; R3 = R4 = H	5,70 ± 2,16	5,86 ± 2,96	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R2 = H; R3, R4 = CH=CH=CH	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	18,03 ± 3,10
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R3 = tBu; R2 = R4 = H	22,71 ± 2,29	16,74 ± 1,31	16,56 ± 0,52	25,00 ± 0,00	22,90 ± 1,65
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R3 = Cl; R2 = R4 = H	15,38 ± 1,45	16,73 ± 3,66	22,22 ± 0,80	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00

X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = R3 = Br; R2 = R4 = H	15,59 ± 1,75	15,07 ± 2,16	23,47 ± 1,31	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = OMe; R3 = Allyl; R2 = R4 = H	14,65 ± 1,71	13,78 ± 2,98	20,43 ± 1,82	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = OMe; R3 = Br; R2 = R4 = H	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = C-OH; Z = C; Y = H; R1 = OMe; R3 = NO ₂ ; R2 = R4 = H	25,00 ± 0,00	24,41 ± 1,10	24,50 ± 0,77	23,25 ± 2,83	25,00 ± 0,00
X = N; Z = C; Y = H; R1 = R2 = R3 = R4 = H	3,83 ± 0,96	3,70 ± 1,06	8,04 ± 1,86	25,00 ± 0,00	20,97 ± 3,41
X = N; Z = C; Y = H; R1 = Me; R2 = R3 = R4 = H	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = N; Z = C; Y = H; R1 = OMe; R2 = R3 = R4 = H	25,00 ± 0,00	24,34 ± 1,03	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00
X = N; Z = C; Y = 2-Py; R1 = R2 = R3 = R4 = H	1,40 ± 1,14	1,40 ± 1,14	2,00 ± 0,12	25,00 ± 0,00	3,87 ± 0,89
X = N; Z = C; Y = H; R1, R2 = CH=CH-CH=CH; R3 = R4 = H	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	25,00 ± 0,00	23,57 ± 2,22
X = N; Z = N; Y = Me; R1 = R2 = R5 = H	2,97 ± 1,02	2,56 ± 1,40	4,50 ± 0,29	25,00 ± 0,00	23,18 ± 2,82
X = N; Z = N; Y = Me; R1 = R2 = H; R5 = Me	4,75 ± 1,61	3,33 ± 0,54	8,99 ± 1,87	25,00 ± 0,00	22,74 ± 0,53

Patentové nároky~~Pr 2014-309~~**1. Kofein-8-hydrazony obecného vzorce I,**

kde Y je H, CH₃ nebo 2-pyridyl,

X je C-OH nebo N,

Z je C nebo N,

R je alkyl s 1 až 6 uhlíkovými atomy,

R₁, R₂, R₃, R₄ jsou H, OH, alkyl s 1 až 6 uhlíkovými atomy, allyl, fenyl (Ph), halogen, CH₂OH, OR, CF₃, CF₂CF₃, OCF₃, OCOCH₃, OPh, CN, COOH, COOR, CONH₂, CONHR, CONR₂, CONHOH, CONHNH₂, NO₂, SH, SR, SCN, NH₂, NHR, NR₂, NHCOCH₃, NHCONH₂, NHCSNH₂, NHSO₂NH₂, NHCOOtBu, B(OH)₂, B(OCH₃)₂, SO₃H, SO₂NH₂, SO₂N(CH₃)₂,

R₁, R₂ nebo R₂, R₃ nebo R₃, R₄ jsou CH=CH-CH=CH, tedy přikondenzované benzenové jádro,

R₁, R₂ nebo R₂, R₃ nebo R₃, R₄ jsou N=CH-CH=CH, tedy přikondenzované pyridinové jádro,

R₁, R₂ nebo R₂, R₃ nebo R₃, R₄ jsou CH=N-CH=CH, tedy přikondenzované pyridinové jádro;

s výjimkou látky, kde X ≠ N; Z ≠ C; Y ≠ H; R₁ ≠ Me; R₂, R₃ ≠ R₄ ≠ H a látky, kde X ≠ N; Z ≠ C; Y

≠ H; Y = H, R₁, R₂ ≠ CH=CH-CH=CH; R₃, R₄ ≠ H.

2. Použití kofein-8-hydrazonů obecného vzorce I podle nároku 1 pro přípravu léčiva k léčbě onkologických onemocnění.