

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra anorganické a organické chemie

**Syntéza 5-substituovaných tetrazolů –
srovnání klasických metod syntézy
s metodami využívajícími mikrovlnné
záření**

Hradec Králové
květen 2009

Petr Gela

PROHLÁŠENÍ O SAMOSTATNÉM VYPRACOVÁNÍ PRÁCE

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.“

Petr Gela

V Hradci Králové 11. 5. 2009

**Za všestrannou pomoc a
veškerý čas, který mi při
vypracování této práce věnoval,
děkuji Mgr. Jaroslavu Rohovi**

1. Obsah

1. Obsah.....	4
2. Abstrakt.....	6
3. Abstract	8
4. Úvod a cíl práce	10
5. Teoretická část.....	13
5.1. 5-substituované tetrazoly.....	14
5.1.1. Přípravy využívající Lewisovy kyseliny.....	15
5.1.2. Přípravy probíhající v kyselém prostředí nebo kyselě katalyzované	16
5.1.3. Přípravy využívající sloučeniny křemíku nebo cínu jako donory azidového aniontu.....	19
5.2. Příprava biologicky aktivních látek.....	20
6. Experimentální část.....	24
6.1. Srovnání klasických metod a metod využívajících mikrovlnné záření.....	26
6.1.1. Syntéza 5-fenyl-1H-tetrazolu dle Finnegana.....	26
6.1.2. Syntéza 5-fenyl-1H-tetrazolu metodou vyvinutou naší pracovní skupinou	28
6.1.3. Syntéza 5-methyl-1H-tetrazolu.....	30
6.1.4. Syntéza 5-fenyl-1H-tetrazolu v n-butanolu	31
6.1.5. Syntéza 5-undecyl-1H-tetrazolu v anisolu.....	32
6.2. Příprava 5-substituovaných tetrazolů v anisolu	33
6.2.1. Syntéza 1,2-di(1H-tetrazol-5-yl)benzenu	33
6.2.2. Syntéza 5-(3-aminofenyl)-1H-tetrazolu.....	34
6.2.3. Syntéza 5-cyklohexyl-1H-tetrazolu.....	35
6.3. Příprava biologicky aktivních látek.....	36
6.3.1. Příprava 1- a 2- propylderivátu 5-[(1-fenyl-1H-tetrazol-5-yl)sulfanyl- methyl]-1H-tetrazolu.....	36
6.3.2. Příprava 1- a 2- benzylderivátu 5-[(1-fenyl-1H-tetrazol-5-yl)sulfanyl-methyl]-1H-tetrazolu.....	38
6.3.3. Příprava 1- a 2- methylderivátu 5-[(1-fenyl-1H-tetrazol-5-yl)sulfanyl- methyl]-1H-tetrazolu.....	40
6.3.4. Příprava 2,5-bis[(1-fenyl-1H-tetrazol-5-yl)sulfanylmethyl]-2H-tetrazolu	42
7. Výsledky a diskuse	43
7.1. Efektivita mikrovlnného ohřevu ve srovnání s konvenčním ohřevem.....	44
7.2. Příprava 5-substituovaných tetrazolů v anisolu	46
7.3. Příprava biologicky aktivních látek.....	46
8. Závěr.....	48
9. Použité zkratky a symboly.....	50
10. Použitá literatura.....	52

2. Abstrakt

Chemie 5-substituovaných tetrazolů zaznamenává v posledních deseti letech nebývalý rozmach. 5-substituované tetrazoly nacházejí uplatnění v mnoha odvětvích průmyslu, především pak ve farmacii.

5-substituovaný tetrazol představuje v mnoha případech optimální izosterní náhradu karboxylové skupiny, a to díky blízkým fyzikálně-chemickým vlastnostem. Výhodou pak je i jeho odolnost k metabolické degradaci. Asi nejznámějším příkladem užití 5-substituovaných tetrazolů je skupina antihypertenziv, antagonistů receptorů angiotenzinu II, tzv. „sartanů“.

Průlom v přístupu k syntéze 5-substituovaných tetrazolů nastal po uveřejnění práce W.G.Finnegana v roce 1958. V následujících letech bylo publikováno mnoho postupů, které vycházely právě z výše uvedené práce.

Nejnovějším trendem v chemii tetrazolů je užití mikrovlnné aktivace namísto konvenčního ohřevu.

V naší práci jsme se zabývali efektivitou mikrovlnné aktivace ve srovnání s konvenčním ohřevem u několika metod přípravy 5-substituovaných tetrazolů. Jako modelovou reakci jsme zvolili přípravu 5-fenyl-1*H*-tetrazolu ze snadno dostupného benzonitrilu.

Zjistili jsme, že u většiny z námi provedených syntéz překvapivě nedošlo k signifikantnímu zkrácení reakčního času ani zvýšení výtěžku při použití mikrovlnné aktivace.

Dále jsme se zabývali přípravou biologicky aktivních látek odvozených od 5-(tetrazol-5-ylmethylsulfanyl)tetrazolu. Všechny zkoušené látky vykazaly významnou antituberkulotickou aktivitu *in vitro*.

3. Abstract

Chemistry of 5-substituted tetrazoles has been the subject of intense investigation during last ten years. 5-substituted tetrazoles have found widespread use in many branches of industry, especially in pharmacy.

In many cases, 5-substituted tetrazole present an optimal isosteric analogue of carboxylic group due to similar physico-chemical properties. The advantage of 5-substituted tetrazoles is their low metabolic degradability. One of the most important uses of 5-substituted tetrazoles are antihypertensives, antagonists of angiotensin II receptors, so called „sartans“.

Advance in synthesis of 5-substituted tetrazoles has occurred since the publication of W. G. Finnegan in 1958. In the following years numerous new methods have been published, originating from this work.

The latest trend in chemistry of tetrazoles is microwave activation instead of conventional heating.

In our work we focused on efficiency of microwave activation compared to conventional heating in several methods of the preparation of 5-substituted tetrazoles. We selected a preparation of 5-phenyl-1*H*-tetrazole from an easily available benzonitrile as the model reaction.

Surprisingly, microwave irradiation did not result in a significant decrease in the reaction time or a higher yield.

Furthermore, we aimed at preparation of biologically active substances derived from 5-(tetrazol-5-ylmethylsulphanyl)tetrazole. All of the evaluated substances showed a significant antituberculotic activity.

4. Úvod a cíl práce

Již delší dobu je na Katedře anorganické a organické chemie Farmaceutické fakulty věnována pozornost sloučeninám obsahujícím tetrazolové jádro, a to jak metodám syntézy, tak biologické aktivitě těchto sloučenin.

Velkému zájmu se pak těší příprava sloučenin obsahujících tetrazolové jádro v mikrovlnném reaktoru.

Prvním cílem této práce bylo porovnat efektivitu přípravy tetrazolů různými metodami při konvenčním zahřívání a při zahřívání v mikrovlnném reaktoru.

Další důležitou oblastí výzkumu na katedře je příprava látek s antituberkulotickou aktivitou. Již dlouhou dobu jsou zde studovány deriváty 5-sulfanyltetrazolu, které vykazují signifikantní antituberkulotickou aktivitu. Zajímavou, již dříve na katedře připravenou výchozí látkou pro vytvoření nových derivátů je 5-[(1-fenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulfanylmethyl]-1*H*-tetrazol (obr. 1).

Obr. 1

Druhým cílem této práce byla příprava 1 resp. 2 derivátů výše zmíněné sloučeniny (obr. 2).

Obr. 2

Třetím cílem této práce bylo rozdělení směsi izomerů sloupcovou chromatografií a zjištění biologické aktivity připravených sloučenin.

5. Teoretická část

5.1. 5-substituované tetrazoly

Látky obsahující tetrazolové uskupení nachází uplatnění ve farmaceutické chemii, v koordinační chemii jako ligand a také jako součást explozivních látek.

V poslední době se objevuje řada léčiv, ať už zavedených do praxe či podrobujících se klinickému hodnocení, jejichž součástí je právě 5-substituovaný tetrazol. Jedná se o látky ze skupin nesteroidních antiflogistik, antidiabetik (III), antibiotik (I), antimykotik, antivirotik, látek interagujících s glutamátovými receptory (IV), inhibitorů NO-syntázy (V) a hlavně tzv. sartanů (II), tedy antihypertenziv ze skupiny antagonistů receptorů pro angiotenzin II (obr.3)¹.

Obr. 3 – Farmaceuticky významné sloučeniny obsahující ve své struktuře 5-substituovaný tetrazol

V případě sartanů vystupuje tetrazol jako izosterní náhrada karboxylové skupiny (obr. 4), a to díky blízkým fyzikálně-chemickým vlastnostem (např. srovnatelné hodnoty pK_a). V porovnání s karboxylem je tetrazol metabolicky stabilnější a také vykazuje asi 10x vyšší lipofilitu než odpovídající karboxyl².

Obr. 4

Pracovní skupina doc. Hrabálka se poslední dobou zabývá metodikou přípravy tetrazolů, a to především s využitím mikrovlnné aktivace. V literatuře je popsáno mnoho reakcí, u kterých je deklarováno několikanásobné zvýšení výtěžku, ovlivnění regioselektivity nebo snížení reakčního času v důsledku použití mikrovlnné aktivace. Hlavní úkol mé práce spočívá v porovnání efektivity přípravy tetrazolů při konvenčním ohřevu a při reakcích probíhajících v mikrovlnném reaktoru.

Přípravy 5-substituovaných tetrazolů lze v podstatě rozdělit do tří základních skupin:

- a) využívající Lewisovy kyseliny
- b) probíhající v kyselém prostředí nebo kysele katalyzované
- c) využívající sloučeniny křemíku nebo cínu jako donory azidového aniontu

5.1.1. Přípravy využívající Lewisovy kyseliny

Průlomovým typem v této skupině je reakce dle Sharplesse³ (schéma 1). Podstata spočívá v reakci nitrilu s azidem sodným a halogenidem zinečnatým ve vodě jako rozpouštědle. Výsledkem jsou odpovídající 5-substituované tetrazoly. Touto reakcí, prováděnou za mikrovlnné aktivace, se nechalo ve svých pracích inspirovat několik autorů (Koldobskii⁴, Zhao⁵), kteří deklarují zvýšenou efektivitu reakcí při mikrovlnné aktivaci.

Schéma 1

Způsobu této přípravy tetrazolu využil ve své práci také Shie⁶, který připravoval tetrazoly z alkoholů, po jejich konverzi na nitrily, pomocí bromidu zinečnatého (schéma 2). Ve své práci uvádí Shie mikrovlnnou aktivaci jako efektivnější než konvenční ohřev.

Schéma 2

Reakce provedené výše uvedenými autory jsou si velmi podobné. Přesto je při prostudování jejich prací patrné, že při zcela odlišných podmínkách (různé teploty a reakční časy) vykazují jimi provedené reakce velmi vysokých výtěžků, což je přinejmenším zajímavé.

5.1.2. Přípravy probíhající v kyselém prostředí nebo kysele katalyzované

- **Reakce dle Finnegana⁷**

První reakcí, kterou jsme studovali, je již starší reakce podle Finnegana⁷. Přestože od publikování této práce uplynulo již více než 50 let, je tato průkopnická metoda stále hojně využívána. Při této reakci vzniká z nitrilu příslušný 5-substituovaný tetrazol,

přičemž nitril reaguje s azidem sodným a chloridem amonným v prostředí N,N-dimethylformamidu (schéma 3).

Schéma 3

Obměnu této reakce můžeme naléznout v práci Altermana a Hallberga⁸. Rozdíl je v použití mikrovlnné aktivace, dále pak v použití 12-ti násobného množství azidu. Reakce byla navíc prováděna za vysokého tlaku. V reakci byl také přítomen palladiový katalyzátor, který sloužil k přípravě nitrilu z bromderivátu *in situ*. Reakce vykazovala vysoké výtěžky za použití nízkého výkonu mikrovlnného reaktoru a krátkého reakčního času.

- **Reakce vyvinutá naší pracovní skupinou⁹**

Práci, kterou jsme se nechali inspirovat pro další srovnávací studii, je reakce dle Kogura¹⁰. Ta spočívá v reakci nitrilu s azidem sodným a triethylammonium-chloridem v toluenu za vzniku příslušného tetrazolu (schéma 4).

Schéma 4

Výhodou této reakce je snadná izolace produktu (vytřepání do vody a následné okyselení, případně následné vytřepání do ethyl-acetátu u tetrazolů rozpustných ve vodě). Hlavní nevýhodou jsou dlouhé reakční časy v řádech desítek hodin až dnů. V naší pracovní skupině byla tato metoda modifikována⁹. Namísto toluenu (nevhodný pro mikrovlnnou aktivaci) jsme reakce prováděli v aromatických rozpouštědlech s vyššími hodnotami dipólového momentu (anisol, nitrobenzen, chlorbenzen – schéma 5). Na základě výtěžků jsme mohli rovněž porovnat vliv rozpouštědla na přípravu hůře syntetizovatelných 5-substituovaných tetrazolů.

Schéma 5

Další reakcí, kterou jsme se zabývali, byla reakce azidu sodného s benzonitrilem a kyselinou octovou v prostředí n-butanolu (schéma 6).

Schéma 6

Tímto způsobem přípravy se ve své práci zabýval také Schmidt¹¹. V této práci byly deriváty tetrazolů připravovány v iontových kapalinách (např. 1-butyl-3-methylimidazolium-halogenid) reakcí odpovídajícího nitrilu s azidem sodným a octovou kyselinou (schéma 7). Některé reakce byly provedeny jak za konvenčního ohřevu, tak za mikrovlnné aktivace, přičemž jako efektivnější byla vyhodnocena mikrovlnná aktivace.

Schéma 7

5.1.3. Přípravy využívající sloučeniny křemíku nebo cínu jako donory azidového aniontu

Tento způsob přípravy 5-substituovaných tetrazolů v podmínkách mikrovlnné aktivace popisuje ve své práci Schulz¹². Zabývá se přípravou aryltetrazol boronátů. Příprava spočívá v reakci příslušného nitrilu s trimethylsilyl-azidem a dibutylytin oxidem (schéma 8). Reakce byla provedena v podmínkách mikrovlnné aktivace i konvenčního ohřevu. Autoři uvádějí reakci za mikrovlnné aktivace jako efektivnější, neboť dochází k úplné konverzi za výrazně kratší čas než u konvenčního ohřevu.

Schéma 8

Jinou prací, ve které se využívá sloučenin křemíku jako donoru azidového aniontu je práce Bliznetse¹³. Ten připravil stericky bráněné 3-(tetrazol-5-yl)pyridiny, které by byly jinou metodou obtížně připravitelné. Princip reakce je podobný jako u práce Schulze-
-reaguje nitril s trimethylsilyl-azidem a dibutyltin oxidem (schéma 9). Jako prostředí byl zvolen 1,4-dioxan.

Schéma 9

V roce 2008 publikoval zásadní práci tým prof. Olivera Kappeho¹⁴ z University of Graz. V ní se autoři zaměřili na čtyři již dříve publikované práce, v nichž mikrovlny významně urychlovaly reakci, ovlivňovaly regioselektivitu či zvyšovaly výtěžek oproti provedení za konvenčního ohřevu. Autoři po detailní studii těchto reakcí vyvrátili jakýkoli „non-termální“ vliv mikrovln na tyto reakce. Výsledky reakcí po provedení v několika typech mikrovlnných reaktorů a za konvenčního ohřevu, při dodržení naprosto totožných termálních podmínek (monitoring několika termálními sondami na různých místech reakční nádoby), jsou shodné.

5.2. Příprava biologicky aktivních látek

Tuberkulóza je nejčastější bakteriální příčinou smrti na světě. Dle Světové zdravotnické organizace (WHO) je latentně infikována téměř třetina světové populace,

tedy 2 miliardy lidí. Každý desátý latentně infikovaný člověk onemocní za svůj život tuberkulózou. U většiny infikovaných lidí se tedy aktivní forma tuberkulózy nikdy neprojeví. Problém nastává u pacientů s oslabenou imunitou (např. HIV pozitivní). Dalším problémem jsou kmeny *Mycobacterium tuberculosis* rezistentní k nejčastěji používaným chemoterapeutikům – isoniazidu a rifampicinu. Rezistence je nejčastěji způsobena non-compliance pacientů, nedostatečnou léčbou, neadekvátní aplikací léků nebo použitím nespolehlivých léků v rozvojových zemích.

V roce 2006 zemřelo na světě dle WHO 1,7 milionu lidí na tuberkulózu, což představuje asi 4500 lidí denně. Většina těchto úmrtí je hlášena z rozvojových zemí a víc než polovina případů je z rozvojových zemí v Asii. V roce 2006 přibylo 9,2 milionů nových případů tuberkulózy, včetně 709 000 případů u HIV pozitivních¹⁵.

I když výzkum nových antituberkulotik probíhá intenzivně, nebylo zatím žádné nové zavedeno do klinické praxe. Je proto třeba neustále hledat nové struktury s novým mechanismem účinku, na které nebudou *Mycobacteria* rezistentní.

Na Farmaceutické fakultě UK probíhá již řadu let výzkum látek s antituberkulotickou aktivitou. Jak již bylo zmíněno, patří mezi ně i některé deriváty tetrazolů, jako např. bis(tetrazol-5-yl)disulfidy (obr. 5).

Obr. 5

Tyto látky, blížíci se svou účinností dnes používaným antituberkulotikům, byly syntetizovány a publikovány v roce 1985¹⁶.

Jejich vzdálené analogy, substituované 5-benzylsulfanyltetrazoly (obr. 6), vykazují také jistou antituberkulotickou aktivitu¹⁷.

Obr. 6

Zatím není spolehlivě objasněno, jaký je mechanismus antituberkulotické aktivity těchto látek.

Naše pracovní skupina se přípravou sloučenin s antituberkulotickou aktivitou zabývá již delší dobu. Připravili jsme několik sloučenin odvozených od výše zmíněných bis(tetrazol-5-yl)disulfidů a 5-benzylsulfanyltetrazolů. Velmi zajímavou sloučeninou, kterou jsme podrobili dalšímu výzkumu a z které jsme vycházeli při přípravě dalších sloučenin, je izoster disulfidů 5-[(1-fenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulfanylmethyl]-1*H*-tetrazol (dále jako výchozí látka – obr. 7)

Obr. 7

Příprava nových látek spočívala v alkylnaci výchozí látky v prostředí acetonitrilu (schéma 10). Vzniklé směsi izomerů byly rozděleny sloupcovou chromatografií.

Schéma 10

6. Experimentální část

Všechny použité chemikálie byly zakoupeny u firmy Sigma-Aldrich a nebyly dále čištěny.

Rozpouštědla, která byla použita v reakcích či jako součást mobilních fází, byla zakoupena u firmy Lach-Ner Neratovice.

Reakce byly prováděny v mikrovlnném reaktoru Milestone MicroSYNTH Ethos 1600 URM.

Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku při rychlosti zahřívání 4°C/min. a nejsou korigovány.

NMR spektra připravených látek byla měřena v CDCl_3 a v DMSO na přístroji Varian Mercury-Vx BB 300 pracujícím při 300 MHz pro ^1H a 75 MHz pro ^{13}C . Chemické posuny byly měřeny jako hodnoty δ v pars per milion (ppm) a byly nepřímo vztaženy k tetramethylsilanu jako standardu.

Tenkvrstvé chromatografie byly prováděny na deskách firmy Merck (silica gel 60 F₂₅₄, aluminium back).

Jako stacionární fáze při sloupcové chromatografii byl použit Kieselgel 60 (0,040-0,063 mm).

6.1. Srovnání klasických metod a metod využívajících mikrovlnné záření

Při provádění srovnávacích reakcí byl kladen důraz na dodržení totožných teplot reakčních směsí po celou dobu reakce. Teplota reakční směsi byla pomocí řídicí jednotky mikrovlnného reaktoru nastavena a prostřednictvím kontaktního teplotního čidla udržována na konstantní hodnotě. Maximální výkon byl pomocí přístroje nastaven a je uveden u jednotlivých reakcí. Aktuální výkon mikrovlnného reaktoru byl přístrojem automaticky korigován vzhledem k aktuální teplotě reakční směsi.

Reakční teplota byla při konvenčním ohřevu kontrolována pomocí teploměru zavedeného do reakční směsi.

6.1.1. Syntéza 5-fenyl-1*H*-tetrazolu dle Finnegana⁷

Schéma:

Postup:

1 g (9,7 mmol) benzonitrilu, 0,70 g (10,7 mmol) azidu sodného a 0,57 g (10,7 mmol) chloridu amonného jsme smísili v destilační baňce s 25 ml DMF a zahřivali jsme 1 hodinu pod zpětným chladičem za podmínek shrnutých níže. Poté jsme DMF odpařili na vakuové odparce. Odparek jsme rozpustili v 20 ml 5% roztoku NaHCO₃ a extrahovali jsme chloroformem (třikrát 25 ml). Vodnou fázi jsme okyselili konc. HCl a umístili do lednice ke krystalizaci, vzniklé krystaly jsme odfiltrovali a vysušili.

Teoretický výtěžek: 1,41 g

a) zahřívání v mikrovlnném reaktoru při 120 °C na max. 100 W

Praktický výtěžek: 0,50 g (35 %)

b) zahřívání na olejové lázni při 120 °C

Praktický výtěžek 0,53 g (38 %)

^1H NMR (300 MHz, CD_3SOCD_3) δ : 8.06-7.98 (m, 2H), 7.64-7.54 (m, 3H)

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3SOCD_3) δ : 155.4, 131.5, 129.6, 127.2, 124.3

6.1.2. Syntéza 5-fenyl-1*H*-tetrazolu metodou vyvinutou naší pracovní skupinou⁹

Schéma:

Postup:

1 g (9,7 mmol) benzonitrilu, 0,82 g (12,6 mmol) azidu sodného a 1,73 g (12,6 mmol) triethylammonium-chloridu jsme v destilační baňce smísili s 25 ml rozpouštědla a zahřívali pod zpětným chladičem za podmínek shrnutých níže. Reakční směs jsme poté extrahovali alkalickým vodným roztokem a vodou (dle rozpouštědla). Vodnou fází jsme následně extrahovali etherem (dvakrát 20 ml) k odstranění zbytků rozpouštědla, okyselili konc. HCl a umístili do lednice ke krystalizaci. Vzniklé krystaly jsme odfiltrovali a vysušili.

Teoretický výtěžek: 1,41 g

6.1.2.1. Rozpouštědlo: anisol

Extrakce reakční směsi: jedenkrát 20 ml 5% roztoku NaHCO₃ a poté dvakrát vodou 20 ml

a) zahřívání v mikrovlnném reaktoru při 120 °C na max. 300 W

Reakční čas:	30 min	Praktický výtěžek:	0,79 g (56 %)
	2 hod		1,27 g (90 %)

b) zahřívání na olejové lázni při 120 °C

Reakční čas:	30 min	Praktický výtěžek:	0,85 g (60 %)
	2 hod		1,17 g (83 %)

6.1.2.2. Rozpouštědlo: nitrobenzen

Extrakce reakční směsi: třikrát 15 ml 1% roztoku NaOH

a) zahřívání v mikrovlnném reaktoru při 120 °C na max. 100 W

Reakční čas:	30 min	Praktický výtěžek:	0,79 g (56 %)
--------------	--------	--------------------	---------------

b) zahřívání na olejové lázni při 120 °C

Reakční čas:	30 min	Praktický výtěžek:	0,56 g (40 %)
--------------	--------	--------------------	---------------

6.1.2.3. Rozpouštědlo: chlorbenzen

Extrakce reakční směsi: třikrát 15 ml 1% roztoku NaOH

a) zahřívání v mikrovlnném reaktoru při 120 °C na max. 100 W

Reakční čas:	30 min	Praktický výtěžek:	0,69 g (49 %)
--------------	--------	--------------------	---------------

b) zahřívání na olejové lázni při 120 °C

Reakční čas:	30 min	Praktický výtěžek:	0,75 g (53 %)
--------------	--------	--------------------	---------------

6.1.3. Syntéza 5-methyl-1*H*-tetrazolu

Schéma:

Postup:

K 3,36 g (0,024mol) triethylammonium-chloridu a 1,59 g (0,024mol) azidu sodného v destilační baňce jsme přilili 30 ml acetonitrilu a zahřívali při teplotě varu po dobu 4 hodin. Poté jsme vakuově oddestilovali acetonitril, odparek rozpustili v minimu vody a roztok jsme okyselili konc. HCl na pH 1. Dále jsme vodný roztok nasýtili chloridem sodným a extrahovali ethyl-acetátem (pětkrát 20 ml). Spojený ethyl-acetátový extrakt jsme vysušili pomocí Na₂SO₄ a odpařili na vakuové odparce. Vzniklé krystaly jsme vysušili na vakuu.

Teoretický výtěžek: 2,05 g

a) zahřívání v mikrovlnném reaktoru na max. 100 W

Praktický výtěžek: 0,51 g (25 %) o teplotě tání 147 °C

b) zahřívání na olejové lázni

Praktický výtěžek: 0,425 g (21 %) o teplotě tání 147 °C

Literatura¹⁸ uvádí 144-146 °C

¹
H NMR (300 MHz, CD₃SOCD₃) δ: 2.47 (s)

¹³
C NMR (75 MHz, CD₃SOCD₃) δ: 152.4, 8.6

6.1.4. Syntéza 5-fenyl-1*H*-tetrazolu v n-butanolu

Schéma:

Postup:

K 1 g (9,7 mmol) benzonitrilu, 0,82 g (12,61 mmol) azidu sodného a 30 ml n-butanolu jsme přikapávali 0,7 ml (12,61 mmol) koncentrované kyseliny octové a směs jsme zahřívali 1 hod pod zpětným chladičem za níže shrnutých podmínek. Poté jsme butanol vakuově odpařili a odparek rozpustili v 40 ml 1% roztoku NaOH a extrahovali jsme chloroformem (třikrát 30 ml). Nakonec jsme vodnou fází okyselili konc. HCl.

Teoretický výtěžek: 1,41 g

a) zahřívání v mikrovlnném reaktoru na 90 °C max. 100 W

Praktický výtěžek: 0 g (0 %)

b) zahřívání na olejové lázni na 90°C

Praktický výtěžek: 0 g (0 %)

6.1.5. Syntéza 5-undecyl-1*H*-tetrazolu v anisolu

Schéma:

Postup:

K 1,2 ml (5,5 mmol) lauronitrilu, 0,49 g (7,2 mmol) azidu sodného a 1 g (7,2mmol) triethylammonium-chloridu jsme přidali 30 ml anisolu a zahřívali pod zpětným chladičem po dobu 6 hodin. Poté jsme směs vytřepávali vodou resp. roztokem NaCl (třikrát 30 ml), neboť se vytvářela emulze. Vodné frakce jsme spojili a okyselili konc. HCl. Vzniklé krystalky jsme odfiltrovali a vysušili.

Teoretický výtěžek: 1,24 g

a) zahřívání v mikrovlnném reaktoru na 120 °C max. 300 W

Praktický výtěžek: 0,35 g (28 %) o teplotě tání 72-73 °C

b) zahřívání na olejové lázni na 120 °C

Praktický výtěžek: 0,44 g (35 %) o teplotě tání 72-73 °C

Literatura¹⁹ uvádí 68-72 °C

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 2.84 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 1.73-1.58 (m, 2H), 1.30-1.15 (m, 16H), 0.83 (t, J = 6.5 Hz, 3H)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 156.1, 31.5, 29.2, 29.1, 28.9, 28.8, 28.5, 27.2, 22.9, 22.3, 14.2

6.2. Příprava 5-substituovaných tetrazolů v anisolu

6.2.1. Syntéza 1,2-di(1*H*-tetrazol-5-yl)benzenu

Schéma:

Postup:

K 1 g (7,8 mmol) ftalonitrilu, 1,32 g (20,3 mmol) azidu sodného a 2,8 g (20,3 mmol) triethylammonium-chloridu jsme přidali 30 ml anisolu a zahřívali pod zpětným chladičem v mikrovlnném reaktoru při 100 °C (externí IR čidlo) max. 200 W po dobu 6 hodin. Poté jsme směs vytřepali 25 ml 3% roztoku NaHCO₃ a pak vodou (dvakrát 25 ml). Vodné fáze jsme spojili a vytřepali etherem (dvakrát 25 ml), okyselili konc. HCl a dali do lednice ke krystalizaci. Produkt byl rekrystalován z ethanolu.

Teoretický výtěžek: 1,67 g

Praktický výtěžek: 1,52 g (85 %) o teplotě tání 232-233 °C

Literatura³ uvádí 228-230 °C

¹H NMR (300 MHz, CD₃SOCD₃) δ: 7.95-7.86 (m, 2H), 7.85-7.76 (m, 2H)

¹³C NMR (75 MHz, CD₃SOCD₃) δ: 155.0, 131.6, 131.0, 124.7

6.2.2. Syntéza 5-(3-aminofenyl)-1*H*-tetrazolu

Schéma:

Postup:

K 1 g (8,5 mmol) 3-aminobenzonitrilu, 0,72 g (11 mmol) azidu sodného a 1,51 g (11 mmol) triethylammonium-chloridu jsme přidali 30 ml anisolu a zahřívali pod zpětným chladičem v mikrovlnném reaktoru na 100 °C (externí IR čidlo) max. 250 W po dobu 4 hodin. Poté jsme směs vytřepali vodou (třikrát 20 ml). Vodný extrakt jsme vytřepali etherem (jednou 20 ml), okyselili konc. HCl na pH~4 a směs jsme dali do lednice ke krystalizaci. Produkt byl rekrystalován z vody.

Teoretický výtěžek: 1,36 g

Praktický výtěžek: 1,05 g (70 %) o teplotě tání 199-201 °C

Literatura²⁰ uvádí 199-200 °C

¹H NMR (300 MHz, CD₃SOCD₃) δ: 7.28-7.08 (m, 3H), 6.74 (d, J = 8.0 Hz, 1H)

¹³C NMR (75 MHz, CD₃SOCD₃) δ: 155.8, 149.7, 130.1, 124.7, 116.8, 114.4, 112.0

6.2.3. Syntéza 5-cyklohexyl-1*H*-tetrazolu

Schéma:

Postup:

K 1,1 ml (10,1 mmol) cyklohexankarbonitrilu, 0,78 g (12,12mmol) azidu sodného a 1,65 g (12,12 mmol) triethylammonium-chloridu jsme přidali 30 ml anisolu a zahřívali pod zpětným chladičem na olejové lázni na 120 °C po dobu 7 hodin. Směs jsme poté vytřepali 2% roztokem NaHCO₃ (dvakrát 25 ml), pak jednou 25 ml vody a vodnou frakci jsme extrahovali etherem (dvakrát 25 ml). Vodnou frakci jsme okyselili konc. HCl a dali ke krystalizaci do lednice. Produkt byl rekrystalován z vody.

Teoretický výtěžek: 1,41 g

Praktický výtěžek: 0,39 g (28 %) o teplotě tání 131 °C

Literatura²¹ uvádí 130-132 °C

¹H NMR (300 MHz, CD₃SOCD₃) δ: 3.05-2.90 (m, 1H); 2.1-1.1 (m, 10H)

¹³C NMR (75 MHz, CD₃SOCD₃) δ: 159.8, 32.9, 30.9, 25.4, 25.2

6.3. Příprava biologicky aktivních látek

6.3.1. Příprava 1- a 2- propylderivátu 5-[(1-fenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulfanyl-methyl]-1*H*-tetrazolu

Schéma:

Postup:

Do destilační baňky jsme dali 0,5 g (1,92 mmol) výchozí látky, 0,27 ml (1,82 mmol) TEA a 5 ml acetonitrilu. Poté jsme přidali 0,17 ml (1,82 mmol) propylbromidu a směs jsme zahřívali k varu pod zpětným chladičem po dobu 3 hodin, kdy nedocházelo dle TLC k přibývání produktů (mobilní fáze hexan/ethyl-acetát 1:1). Pak jsme vakuově oddestilovali acetonitril a odparek jsme rozpustili v chloroformu, dvakrát vytřepali

vodou, jednou 30 ml 0,5% roztoku NaHCO₃ a poté znovu jednou 30 ml vody. Chloroformovou frakci jsme vysušili pomocí Na₂SO₄ a chloroform jsme vakuově oddestilovali. Vzniklou směs dvou izomerů jsme oddělili sloupcovou chromatografií (mobilní fáze hexan/ethyl-acetát 4:1).

Teoretický výtěžek: 0,581 g

Praktický výtěžek: 0,40 g (69 %) -z toho 2-izomeru 0,28 g (48 %) o teplotě tání 59-60 °C
-z toho 1-izomeru 0,12 g (21 %) získán ve formě oleje

Tyto látky nebyly dosud v literatuře popsány

2 izomer: 1-fenyl-5-[(2-propyl-2*H*-tetrazol-5-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazol

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.60-7.50 (m, 5H), 4.87 (s, 2H), 4.54 (t, J=7,1Hz, 2H), 2.09-1.94 (m, 2H), 0.94 (t, J=7,5Hz, 3H)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 161.6, 152.8, 133.4, 130.3, 129.8, 123.8, 54.9, 27.1, 22.7, 10.9

1 izomer: 1-fenyl-5-[(1-propyl-1*H*-tetrazol-5-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazol

-produkt se nepodařilo získat v čistém stavu

6.3.2. Příprava 1- a 2- benzylderivátu 5-[(1-fenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulfanyl-methyl]-1*H*-tetrazolu

Schéma:

Postup:

Do destilační baňky jsme dali 0,5 g (1,92 mmol) výchozí látky, 0,27 ml (1,82 mmol) TEA a 5 ml acetonitrilu. Poté jsme přidali 0,22 ml (1,82 mmol) benzylbromidu. Směs jsme zahřívali na 80 °C pod zpětným chladičem na olejové lázni po dobu 3 hodin, kdy nebyl na TLC patrný přírůstek produktů (mobilní fáze hexan/ethyl-acetát 4:1). Acetonitril jsme odpařili na rotační vakuové odparce, odparek jsme rozpustili v chloroformu, vytřepali 0,5% roztokem Na₂CO₃ (třikrát po 30 ml) a poté ještě 30 ml vody. Chloroformovou vrstvu jsme vysušili pomocí Na₂SO₄ a odpařili chloroform na

vakuové odparce. Vzniklou směs dvou izomerů jsme rozdělili sloupcovou chromatografií (mob. fáze hexan/ethyl-acetát 3:1).

Teoretický výtěžek: 0,67 g

Praktický výtěžek: 0,57 g (84 %) -z toho 2-izomeru 0,31 g (46 %) o teplotě tání 77-78 °C
-z toho 1-izomeru 0,26 g (38 %) získán ve formě oleje

Tyto látky nebyly dosud v literatuře popsány

2 izomer: 1-fenyl-5-[(2-benzyl-2*H*-tetrazol-5-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazol

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.56-7.51 (m, 5H), 7.39-7.32 (m, 5H), 5.72 (s, 2H), 4.85 (s, 2H)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 162.1, 152.8, 133.3, 132.8, 130.3, 129.8, 129.1, 129.0, 128.4, 123.8, 57.0, 27.1

1 izomer: 1-fenyl-5-[(1-benzyl-1*H*-tetrazol-5-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazol

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.60-7.44 (m, 5H), 7.40-7.31 (m, 3H), 7.30-7.22 (m, 2H), 5.90 (s, 2H), 4.65 (s, 2H)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 152.4, 151.4, 133.3, 133.0, 130.6, 130.0, 129.3, 129.0, 127.6, 123.5, 51.5, 24.2

6.3.3. Příprava 1- a 2- methylderivátu 5-[(1-fenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulfanyl-methyl]-1*H*-tetrazolu

Schéma:

Postup:

Do destilační baňky jsme dali 0,5 g (1,92 mmol) výchozí látky, 0,27 ml (1,82 mmol) TEA a 5 ml acetonitrilu. Po rozpuštění tetrazolu jsme přidali 0,17 ml (1,82 mmol) dimethylsulfátu a zahřívali jsme pod zpětným chladičem na olejové lázni při teplotě 80 °C 1 hodinu, kdy už nepřibývá dle TLC produkt (mobilní fáze hexan/ethyl-acetát 1:1). Vakuově jsme odpařili acetonitril, odparek jsme rozpustili ve 30 ml etheru a vytřepali 0,5% roztokem Na₂CO₃ (tříkrát po 30 ml) a poté ještě jednou 30 ml vody. Ether jsme odpařili a odparek rozpustili v chloroformu, ten jsme vysušili pomocí Na₂SO₄ a odpařili. Vzniklou směs dvou izomerů jsme rozdělili sloupcovou chromatografií (mobilní fáze hexan/ethyl-acetát 3:1).

Teoretický výtěžek: 0,527 g

Praktický výtěžek: 0,42 g (80 %) -z toho 2-izomer 0,24 g (46 %) získán ve formě oleje
-z toho 1-izomer 0,18 g (34 %) o teplotě tání 138 °C

Tyto látky nebyly dosud v literatuře popsány

2 izomer: 1-fenyl-5-[(2-methyl-2*H*-tetrazol-5-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazol

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.59-7.52 (m, 5H), 4.86 (s, 2H), 4.32 (s, 3H)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 161.9, 152.8, 133.3, 130.3, 129.9, 123.8, 39.6, 26.9

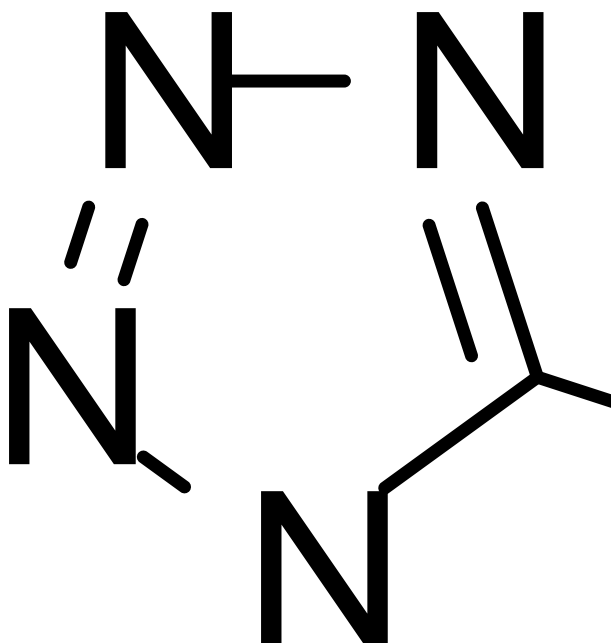
1 izomer: 1-fenyl-5-[(1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazol

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.60-7.50 (m, 5H), 4.79 (s, 2H), 4.28 (s, 3H)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 152.3, 151.5, 133.0, 130.6, 130.0, 123.5, 34.4, 24.1

6.3.4. Příprava 2,5-bis[(1-fenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulfanylmethyl]-2*H*- -tetrazolu

Schéma:



Postup:

Do destilační baňky jsme dali 0,2 g (0,77 mmol) výchozí látky, 0,17 g (0,76 mmol) 5-(chloromethylsulfanyl)-1-fenyl-1*H*-tetrazolu, 0,04 g (0,38 mmol) Na₂CO₃ a 5 ml DMF. Směs jsme zahřívali pod zpětným chladičem na olejové lázni na 110 °C po dobu 4,5 hodin, kdy dle TLC nepřibývá produkt (mobilní fáze hexan/ethylacetát 1:1). Poté jsme DMF vakuově odpařili. Odparek jsme rozpustili v chloroformu a vytřepali 0,5% roztokem Na₂CO₃ (třikrát po 30 ml) a pak ještě jednou 30 ml vody. Vytvořila se emulze, kterou jsme odstranili přidáním roztoku NaCl. Chloroform jsme vysušili pomocí Na₂SO₄ a odpařili. Ze vzniklé směsi látek jsme 2-izomer oddělili sloupcovou chromatografií (mobilní fáze hexan/ethyl-acetát 2:1).

Teoretický výtěžek: 0,346 g

Praktický výtěžek: 0,22 g (64 %) 2-izomeru ve formě oleje
produkt se nepodařilo získat v čistém stavu

7. Výsledky a diskuse

7.1. Efektivita mikrovlnného ohřevu ve srovnání s konvenčním ohřevem

První reakcí podrobenou našemu výzkumu byla reakce dle Finnegana⁷. V tomto případě jsme nezjistili žádný zásadní vliv způsobu zahřívání (konvenční, mikrovlnné) na efektivitu reakce. Vznikající 5-fenyl-1*H*-tetrazol byl izolován ve zhruba stejném množství při obou způsobech zahřívání. Nepotvrdil se tedy předpoklad prezentovaný v práci Altermana a Hallberga⁸ o zásadním vlivu mikrovlnné aktivace na zvýšení výtěžku a zkrácení reakční doby. Pravděpodobně zde sehrál hlavní roli zbytek katalyzátoru, vysoký nadbytek azidu sodného a práce za zvýšeného tlaku.

Další porovnávanou reakcí byla reakce dle Kogura¹⁰ upravená naší pracovní skupinou⁹. Porovnání jsme prováděli ve třech rozpouštědlech s vyšším dipólovým momentem, konkrétně s anisolem, nitrobenzenem a chlorbenzenem. Stejně jako u předcházející reakce jsme zjistili, že způsob ohřevu reakční směsi měl minimální vliv na výtěžek reakce. Pouze u reakce provedené v nitrobenzenu jsme pozorovali vyšší výtěžek u ohřevu v mikrovlnném reaktoru. To bylo pravděpodobně způsobeno mohutnou sublimací triethylammonium-azidu z reakční směsi při konvenčním ohřevu, která nebyla v mikrovlnném reaktoru pozorována.

Dále jsme srovnávali přípravu 5-methyl-1*H*-tetrazolu, 5-fenyl-1*H*-tetrazolu v *n*-butanolu a 5-undecyl-1*H*-tetrazolu v anisolu za mikrovlnného a konvenčního ohřevu. Ani tyto syntézy nám nepotvrdily žádný zásadní vliv způsobu ohřevu na efektivitu reakce. Překvapením byl nulový výtěžek u reakce v *n*-butanolu, neboť naše pracovní skupina touto metodou již dříve připravila některé 5-substituované tetrazoly.

Výsledky jsou shrnuty v tabulce 1.

Tabulka 1.

	Podmínky reakce			Rozpouštědlo	Výtěžek (%)
	teplota (°C)	reakční čas (h)	Výkon (W)		
Reakce dle Finnegana					
KO	120	1		DMF	38
MW			100		35
Upravená reakce dle Kogura					
KO	120	0,5		anisol	60
MW			300		56
KO		2			83
MW			300		90
KO		0,5		nitrobenzen	40
MW			100		56
KO		0,5		chlorbenzen	53
MW			100		49
Příprava 5-methyl-1 <i>H</i> -tetrazolu					
KO	82	4		acetonitril (zároveň i výchozí látka)	21
MW			100		25
Příprava 5-fenyl-1 <i>H</i> -tetrazolu v n-butanolu					
KO	90	1		1-butanol	0
MW			100		0
Příprava 5-undecyl-1 <i>H</i> -tetrazolu					
KO	120	6		anisol	35
MW			300		28

Výsledky naší práce částečně potvrzují výsledky průlomové práce prof. Olivera Kappeho¹⁴. V naší práci jsme neměli vybavení k dokonalé kontrole teplot v reakčních směsích, přesto jsme dospěli ke shodnému závěru, a to že při totožných teplotních podmínkách mikrovlny významně neovlivňují průběh reakce.

7.2. Příprava 5-substituovaných tetrazolů v anisolu

Přípravy 1,2-di(1*H*-tetrazol-5-yl)benzenu a 5-(3-aminofenyl)-1*H*-tetrazolu) byly provedeny z důvodu srovnání výtěžku reakce v závislosti na použitém rozpouštědle. Bylo dosaženo lepších výsledků při použití nitrobenzenu jako rozpouštědla, zřejmě z důvodu vyššího dipólového momentu, díky němuž je mikrovlnný ohřev více efektivní (ve větší míře dochází k lokálnímu přehřívání směsi, teplota byla monitorována externím IR čidlem). Reakce v nitrobenzenu byly již dříve v naší skupině provedeny.

7.3. Příprava biologicky aktivních látek

Jednotlivé látky byly připraveny dle schémat v experimentální části. Vzniklé izomery se zčásti podařilo izolovat díky sloupcové chromatografii a identifikovat pomocí NMR. Některé tyto látky jsme poslali na testování na antituberkulotickou aktivitu do Národní referenční laboratoře pro *Mycobacterium kansasii* v Ostravě. Testy provedla MUDr. Jarmila Kaustová.

Testovány koncentrace preparátů v rozsahu:

Vzorky 1-4 1 - 1 000 $\mu\text{mol/l}$

INH 0,5 - 250 $\mu\text{mol/l}$

Ředění preparátů bylo provedeno DMSO, INH sterilní destilovanou vodou

Testované kmeny:	<i>M.tuberculosis</i>	My 331/88
	<i>M.avium</i>	My 330/88
	<i>M.kansasii</i>	My 235/80
	<i>M.kansasii</i>	6509/96 kmen izolovaný od pacienta z okresu Karviná

Hodnocení testů: *M.kansasii* po 7, 14 a 21 dnech inkubace při 37° C

Hodnocení testů: *M.tuberculosis* a *M.avium* po 14 a 21 dnech inkubace při 37° C

Mikrometoda pro stanovení minimálních inhibičních koncentrací (MIK) léků v Šulově půdě v plastických P–destičkách (MIK v $\mu\text{mol/l}$)

Výsledky jsou shrnuty v tabulce 2.

Tabulka 2.

Látka	KMEN			
	M. tuberculosis My 331/88	M. avium My 330/88	M. kansasii My 235/80	M. kansasii 6509/96
	MIK 14 dní 21 dní	MIK 14 dní 21 dní	MIK 7 dní 14 dní 21 dní	MIK 7 dní 14 dní 21 dní
1	125 250	250 500	250 250 500	62,5 125 250
2	32 62,5	125 250	32 62,5 125	32 62,5 62,5
3	32 62,5	62,5 125	32 62,5 62,5 nárůst	32 62,5 62,5
4	62,5 125	125 nárůst 125 nárůst	62,5 125 125 nárůst	32 62,5 62,5
INH	0,5 1	>250 >250	>250 >250 >250	2 4 4

- 1) 1-fenyl-5-[(1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazol
- 2) 1-fenyl-5-[(2-propyl-2*H*-tetrazol-5-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazol
- 3) 1-fenyl-5-[(2-benzyl-2*H*-tetrazol-5-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazol
- 4) 1-fenyl-5-[(1-benzyl-1*H*-tetrazol-5-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazol

Jak je z tabulky patrné, naše látky testované na antituberkulotickou aktivitu určité působení na *Mycobacteria in vitro* mají. Z toho vyplývá, že by se stálo za pokus rozšířit tuto skupinu látek o další deriváty.

8. Závěr

Výsledky naší srovnávací studie částečně potvrzují jeden ze závěrů práce publikované týmem prof. Kappeho, který lze formulovat: „Při dodržení totožných teplotních podmínek nezvyšuje mikrovlnný ohřev ve srovnání s konvenčním ohřevem výtěžek reakce.“

Jednoduchou substitucí výchozího 5-[(1-fenyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulfanylmethyl]-1*H*-tetrazolu se nám podařilo připravit řadu látek, z nichž některé vykazaly významnou antituberkulotickou aktivitu *in vitro*. Díky těmto výsledkům by bylo vhodné pokračovat ve výzkumu a připravit větší sérii látek tohoto strukturálního základu. Zajímavá by mohla být rovněž modifikace výchozí látky záměnou heterocyklu či heteroatomu síry ve spojovacím řetězci, která by vedla k novým, dosud nepopsaným látkám.

9. Použité zkratky a symboly

DMF	N,N-dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
INH	isoniazid
IR	infračervené
KO	konvenční ohřev
max.	maximální výkon
MIK	minimální inhibiční koncentrace
MW	mikrovlnná aktivace
NMR	nukleární magnetická rezonance
TEA	triethylamin
TEA.HCl	triethylammonium-chlorid
TLC	tenkovrstvá chromatografie
TMSN ₃	trimethylsilyl-azid
WHO	Světová zdravotnická organizace

10. Použitá literatura

-
- ¹ Myznikov, L. V.; Hrabálek, A.; Koldobskii, G. I. *Chem. Heterocycl. Comp.* **2007**, *43*, 3
- ² Herr, R. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3379
- ³ Demko, Z.P.; Sharpless, K.B. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7945
- ⁴ Myznikov, L.V.; Roh, J.; Artamonova, T.V.; Hrabalek, A.; Koldobskii, G.I. *Russ. J. Org. Chem.* **2007**, *43* (5), 765
- ⁵ Zhao, Z.; Leister, W. H.; Robinson, R. G.; Barnett, S. F.; Defeo-Jones, D.; Jones, R. E.; Hartman, G. D.; Huff, J. R.; Huber, H. E.; Duggan, M. E.; Lindsley, C. W. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 905
- ⁶ Shie, J.-J.; Fang, J.-M. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 3141
- ⁷ Finnegan, W.G.; Henry, R.A.; Lofquist, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3908
- ⁸ Alterman, M.; Hallberg A. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7984
- ⁹ Roh, J.; Artamonova, T. V.; Vavrova, K.; Koldobskii G. I.; Hrabalek, A. *Synthesis* **2009**, in press
- ¹⁰ Koguro, K.; Oga, T.; Mitsumi, S.; Orita, R. *Synthesis* **1998**, 910
- ¹¹ Schmidt, B.; Meid, D.; Kieser, D. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 492
- ¹² Schulz, M. J.; Coats, S. J.; Hlasta, D. J. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3265
- ¹³ Bliznets, I. V.; Vasilev, A. A.; Shorshnev, S. V.; Stepanov, A. E.; Lukyanov, S. M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2571
- ¹⁴ Herrero, M.A.; Kremsner, J.M.; Kappe, C.O. *J. Org. Chem* **2008**, *73*, 36
- ¹⁵ <http://www.who.int/topics/tuberculosis/en/>
- ¹⁶ Vanžura, J.; Hrabálek, A; Odlerová, Ž.; Waisser, K.; Čeladník, M. *Českoslov. Farm.* **1985**, *34*, 271
- ¹⁷ Waisser, K.; Adamec, J.; Doležal, R.; Kaustová, J. *Folia Microbiologica* **2005**, *50*, 195
- ¹⁸ Norris, W. P. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3248
- ¹⁹ Fuermeier, S.; Metzger, J. O. *Europ. J. Org. Chem.* **2003**, *5*, 885
- ²⁰ McManus, J. M.; Herbst, R. M. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1044
- ²¹ Elpern, B.; Nachod, F. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 3379