

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA ANORGANICKÉ A ORGANICKÉ CHEMIE



DIPLOMOVÁ PRÁCE

PŘÍMÁ AKTIVACE VAZBY C-H V TETRAZOLECH

Hradec Králové, 2010

Richard Lubojacký

Za všestrannou pomoc, cenné rady a připomínky při vypracování této práce děkuji svému školiteli prof. RNDr. Milanu Pourovi, PhD, doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. za NMR analýzu a PharmDr. Marcelu Špulákovi, PhD. Za rady, spolupráci při syntézách a příjemné pracovní prostředí Mgr. Petru Šenelovi, PhD., Mgr. Lucii Tichotové, Jiřímu Mikuškovi, Jiřímu Kratochvílovi a Jaroslavě Šaškové.

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.

ABSTRAKT

V rámci této diplomové práce byla optimalizována přímá arylace a alkenylace 1-substituovaných tetrazolů do polohy 5, čímž byla umožněna jednoduchá a rychlá příprava řady 1,5-disubstituovaných tetrazolů. Pro tyto reakce byla použita katalýza palladiem za přítomnosti CuI a Cs₂CO₃. Na rozdíl od příbuzných reakcí imidazolů a purinů zde bylo nezbytné začlenění fosfinových ligandů nutných ke stabilizaci a k zabránění rozpadu Pd-komplexů na nežádoucí kyanamidy. Takto byla připravena serie 1,5-disubstituovaných tetrazolů s poměrně vysokými výtěžky.

ABSTRACT

Within the framework of this diploma thesis, direct arylation and alkenylation of 1-substituted tetrazoles at C5 was developed and optimized. An economical preparation of a range of 1,5-disubstituted tetrazoles was thus made possible. In these reactions, Pd-catalysis in the presence of CuI and Cs₂CO₃ was found as optimal. Contrary to similar reactions of imidazoles and purines, it was necessary to incorporate phosphine ligands in order to stabilize Pd – intermediates and prevent them from a premature decomposition into cyanamides. A library of 1,5-disubstituted tetrazoles with very promising yields has been prepared using this method.

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK | 6 |
| 1. ÚVOD..... | 7 |
| 1.1. Význam disubstituovaných tetrazolů..... | 7 |
| 1.2. Možnosti přípravy 1,5-disubstituovaných tetrazolů..... | 10 |
| 1.3. Couplingové reakce 1-substituovaných 5-halotetrazolů | 12 |
| 1.4. Přímá aktivace C-H vazby | 13 |
| 1.5. Příklady aktivace C-H vazby na strukturně příbuzných heterocyklech | 15 |
| 1.5.1. Přímá aktivace C-H vazby u imidazolů | 15 |
| 1.5.2. Přímá aktivace C-H vazby v poloze 2 u indolů | 16 |
| 1.5.3. Přímá aktivace C-H vazby v poloze 8 u purinů | 17 |
| 2. CÍL PRÁCE..... | 18 |
| 3. VÝSLEDKY S DISKUZÍ | 19 |
| 3.1. Příprava 1-substituovaných-1 <i>H</i> -tetrazolů | 19 |
| 3.2. Pokusy o přímou aktivaci v nepřítomnosti fosfinu | 20 |
| 3.3. Návrh mechanismu reakce..... | 25 |
| 3.4. Příprava knihovny 1,5-disubstituovaných tetrazolů | 26 |
| 3.5. Biologická aktivita připravených 1,5-disubstitovaných tetrazolů..... | 28 |
| 4. ZÁVĚR..... | 30 |
| 5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 31 |
| 5.1. Použité experimentální metody | 31 |
| 5.2. Použité experimentální postupy při biologickém hodnocení | 31 |
| 5.2.1. Hodnocení antifungální aktivity | 31 |
| 5.2.2. Hodnocení antibakteriální aktivity..... | 32 |
| 5.3. Příprava výchozích substrátů | 34 |
| 5.3.1. 1-Fenyl-1 <i>H</i> -tetrazol (1)..... | 34 |
| 5.3.2. 1-(3,4-Dichlorfenyl)-1 <i>H</i> -tetrazol (2) | 35 |
| 5.3.3. 1-Cyklohexyl-1 <i>H</i> -tetrazol (3) | 36 |
| 5.3.4. 1-(4-Chlorfenyl)-1 <i>H</i> -tetrazol (4)..... | 37 |
| 5.4. Syntéza knihovny 1,5-disubstituovaných tetrazolů | 38 |
| 5.4.1. 1-Fenyl-5-(4-methylfenyl)-1 <i>H</i> -tetrazol (1a) | 38 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 5.4.2. | 1-Fenyl-5-(thiofen-2-yl)-1 <i>H</i> -tetrazol (1b) | 39 |
| 5.4.3. | 1,5-Difenyl-1 <i>H</i> -tetrazol (1c)..... | 40 |
| 5.4.4. | 5-(4-Metoxifenyl)-1-fenyl-1 <i>H</i> -tetrazol (1d) | 41 |
| 5.4.5. | 5-(4-Chlorfenyl)-1-fenyl-1 <i>H</i> -tetrazol (1e)..... | 42 |
| 5.4.6. | (<i>Z</i>)-5-[1,4-Bis(tetrahydropyran-2-yloxy)but-2-en-2-yl]-1-fenyl-1 <i>H</i> -tetrazol (1f) | 43 |
| 5.4.7. | 1-(3,4-Dichlorfenyl)-5-(4-methylfenyl)-1 <i>H</i> -tetrazol (2a)..... | 44 |
| 5.4.8. | 1-(3,4-Dichlorfenyl)-5-(thiofen-2-yl)-1 <i>H</i> -tetrazol (2b) | 45 |
| 5.4.9. | 1-(3,4-Dichlorfenyl)-5-fenyl-1 <i>H</i> -tetrazol (2c)..... | 46 |
| 5.4.10. | 1-(3,4-Dichlorfenyl)-5-(4-metoxifenyl)-1 <i>H</i> -tetrazol (2d)..... | 47 |
| 5.4.11. | 5-(4-Chlorfenyl)-1-(3,4-dichlorfenyl)-1 <i>H</i> -tetrazol (2e)..... | 48 |
| 5.4.12. | (<i>Z</i>)-5-[1,4-Bis(tetrahydropyran-2-yloxy)but-2-en-2-yl]-1-(3,4-dichlorfenyl)-1 <i>H</i> - tetrazol (2f) | 49 |
| 5.4.13. | 1-Cyklohexyl-5-(4-methylfenyl)-1 <i>H</i> -tetrazol (3a) | 50 |
| 5.4.14. | 1-Cyklohexyl-5-(thiofen-2-yl)-1 <i>H</i> -tetrazol (3b)..... | 51 |
| 5.4.15. | 1-Cyklohexyl-5-fenyl-1 <i>H</i> -tetrazol (3c)..... | 52 |
| 5.4.16. | 1-Cyklohexyl-5-(4-metoxifenyl)-1 <i>H</i> -tetrazol (3d) | 53 |
| 5.4.17. | 5-(4-Chlorfenyl)-1-cyklohexyl-1 <i>H</i> -tetrazol (3e) | 54 |
| 5.4.18. | (<i>Z</i>)-5-[1,4-Bis(tetrahydropyran-2-yloxy)but-2-en-2-yl]-1-cyklohexyl-1 <i>H</i> -tetrazol (3f) | 55 |
| 6. | LITERATURA..... | 56 |

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

| | |
|------------|---|
| Boc | <i>tert</i> -butyloxykarbonyl |
| CGRP | calcitonine generelated proteins |
| CHN | elementární analýza |
| Cy | cyklopentyl |
| Db | dibenzylidenaceton |
| DMA | <i>N,N</i> -dimethylacetamid |
| DMF | <i>N,N</i> -dimethylformamid |
| DMSO | dimethylsulfoxid |
| Ekv. | molární ekvivalent |
| IR | infračervená spektroskopie |
| Ln | ligand |
| LRMS | hmotnostní spektrometrie s nízkým rozlišením |
| M | kov |
| MIC | minimální inhibiční koncentrace |
| MS | hmotnostní spektroskopie |
| NADH | nikotinamid adenin dinukleotid v redukované formě |
| NMR | nukleární magnetická rezonance |
| PE | petrolether |
| PEPPSI-iPr | [1,3-bis(2,6-diisopropyl(fenyl)imidazol-2-yliden)](3-chloropyridyl)palladium) |
| Rozp. | rozpouštědlo |
| Tf | triflát |
| TFP | tris(2-furyl)fosfin |
| THP | tetrahydropyranyl |
| TLC | tenkovrstvá chromatografie |
| TMS | trimethylsilyl |
| t.t. | teplota tání |
| X | halogenid |

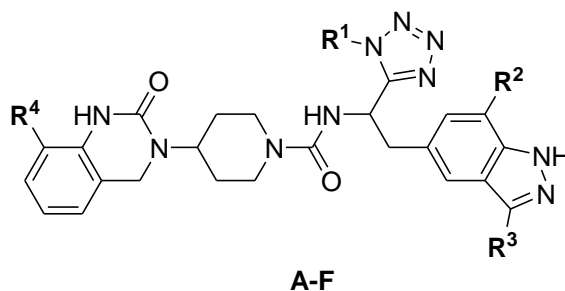
1. ÚVOD

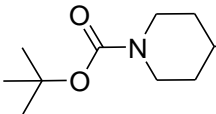
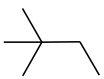
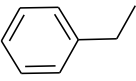
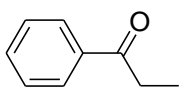
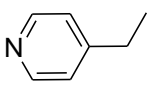
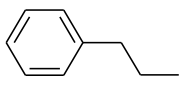
1.1. Význam disubstituovaných tetrazolů

Během posledních dekad došlo k velkým pokrokům v chemii tetrazolů a tím se rozšířila míra možností jejich uplatnění. Tyto sloučeniny je možno využít především jako inhibitory koroze¹, analytická činidla², vysoce energetické materiály³ a komponenty iontových kapalin⁴. Nezastupitelnou úlohu hrají i v mikrobiologických studiích.⁵

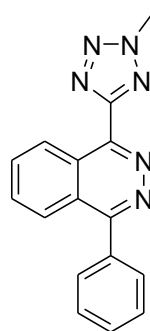
Tetrazoly se rovněž objevují jako strukturální podstata nově připravovaných biologicky aktivních látek, kde jejich 1,5-disubstituované deriváty zaujímají v této oblasti důležité místo.

Tetrazoly substituované v polohách 1,5 jsou také strukturální součástí antagonistů CGRP receptorů⁶ (A-F) a příslušné látky by bylo možno využít při terapii neurogenní vazodilatace, migrény a jiných bolestí hlavy. Své místo by mohly mít i v léčbě oběhového šoku, astmatu, chronické plicní obstrukční nemoci (CHOPN) a jiných obtíží, které mohou být řešeny antagonismem CGRP receptoru.



| | R¹ | R² | R³ | R⁴ |
|----------|---|-----------------------------------|----------------------|----------------------|
| A |  | -CH ₃ | -H | -F |
| B |  | -CH ₃ | -H | -H |
| C |  | -CH ₂ -CH ₃ | -CH ₃ | -H |
| D |  | -CH ₂ -CH ₃ | -CH ₃ | -H |
| E |  | -CH ₂ -CH ₃ | -CH ₃ | -H |
| F |  | -CH ₂ -CH ₃ | -CH ₃ | -H |

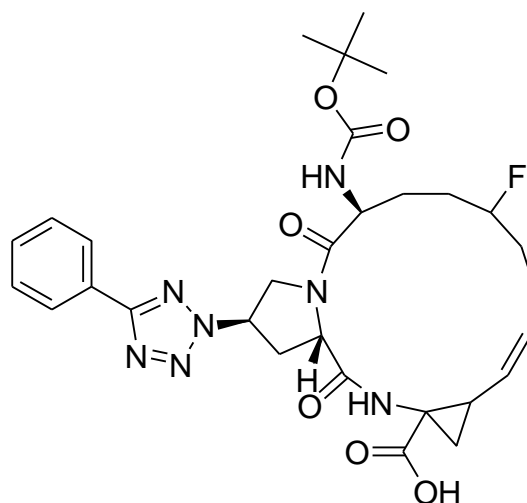
2,5-Disubstituované deriváty se v poslední době objevily jako součást chemické struktury inhibitorů NAD(P)H oxidázy. Tyto látky mají význam především při léčbě a prevenci kardiovaskulárních onemocnění (např. infarkt myokardu, angina pectoris, ateroskleróza). Strukturní podstatou těchto biologicky aktivních molekul je skelet ftalazinu, na který je v poloze 1 navázán většinou pětičlenný heteroaryl, jímž může být i tetrazol⁷(G).



G

Fragment tetrazolu můžeme rovněž najít u nově připravených aktivátorů glukokinázy, kde vystupuje jako jeden z možných heteroarylů, nacházejících se v poloze 2 benzimidazolového jádra⁸.

Za zmínku rovněž stojí jejich výskyt v molekulách inhibitorů serinové proteázy viru hepatitidy C⁹, kde je tetrazolový skelet navázán na makrocyklus (**H**).

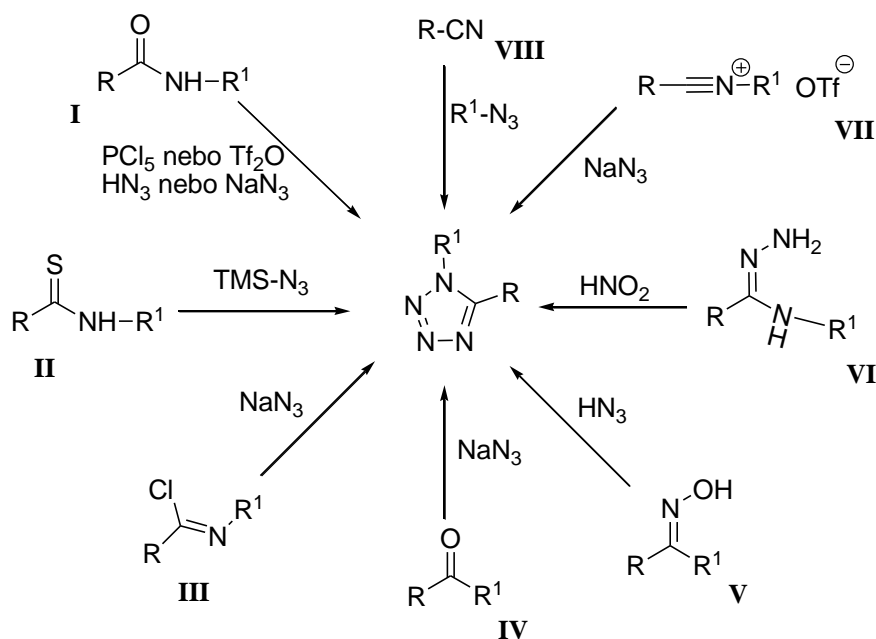


H

Samotné tetrazoly, případně tetrazolové kationty či anionty se využívají k syntéze energeticky bohatých solí, iontových kapalin nebo výbušnin¹⁰.

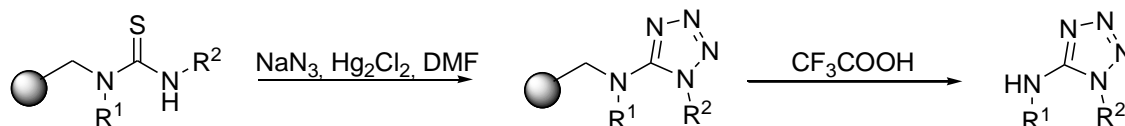
1.2. Možnosti přípravy 1,5-disubstituovaných tetrazolů

Klasická příprava 1,5-disubstituovaných tetrazolů vycházela z toho, že substituenty v polohách 1 a 5 byly už předem inkorporovány ve struktuře výchozí látky, do které byl zaveden tetrazolový kruh (Schema 1). Využívalo se reakcí amidů s chloridem fosforečným^{11,12} (I), thioamidů s trimethylsilyl azidem¹³ (II), imidoylchloridů¹⁴ (III), ketonů¹⁵ (IV) a nitrilium triflátů¹⁶ (VII) s azidem sodným, oximů(V) s hydrazidem¹⁷, hydrazoamidů(VI) s kyselinou dusitou¹⁸ a nitrilů(VIII) s azidy¹⁹, z kterých po reakci vznikl 1,5-disubstituovaný tetrazol.



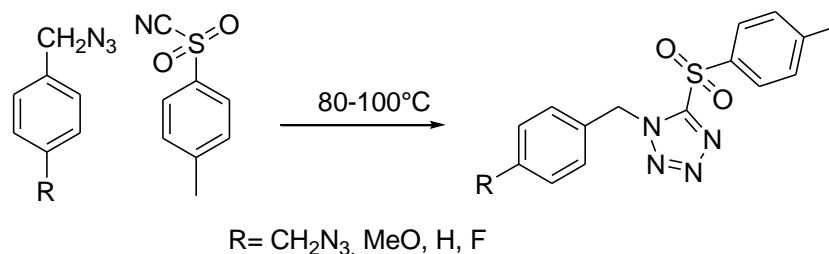
Schema 1

Zajímavým případem výstavby tetrazolového kruhu z thioamidů je reakce derivátu močoviny vázaného na pevnou fázi (Schema 2).



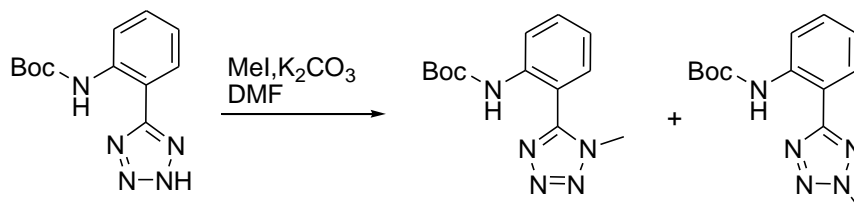
Schema 2

Za zmínku stojí i případy intermolekulární cykloadice *p*-toluensulfonylkyanidu s různými alkyl či arylazidy²⁰ za vzniku požadovaného 1,5-disubstituovaného tetrazolu (Schema 3).



Schema 3

Další možností je přímá alkylace 5-substituovaných tetrazolů. Tato metoda je atraktivní především díky své jednoduchosti a možnosti využít různá alkylační činidla. U tohoto typu reakce ale dochází ke vzniku regioisomerů²¹ (tzn. 1,5- a 2,5-disubstituovaných tetrazolů - Schema 4), které se velmi obtížně oddělují.

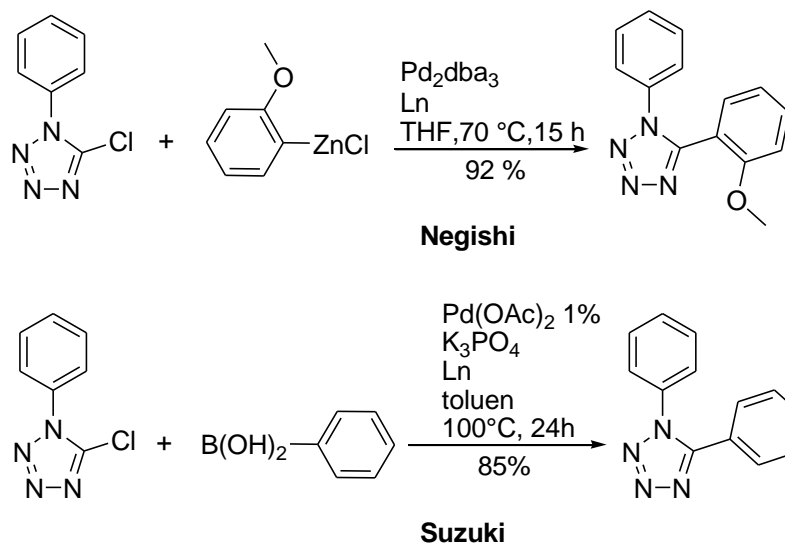


Schema 4

Obecně lze konstatovat, že při syntéze 1,5-disubstituovaných tetrazolů z acyklických prekurzorů se často setkáváme s problémy způsobenými prací s toxickými a výbušnými reagenty^{22, 23}, reakce probíhají až za vyšších teplot a s dlouhými reakčními časy. U tohoto typu reakcí se také často setkáváme s poměrně malými výtěžky. Proto jsme zaměřili pozornost na možnosti funkcionalizace C5 tetrazolu pomocí Pd-katalyzovaných reakcí, jejichž výhodou je možnost uskutečnění za velmi mírných podmínek a s poměrně vysokými výtěžky.

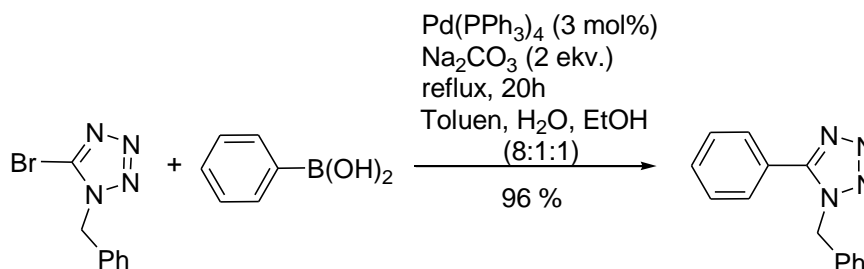
1.3. Couplingové reakce 1-substituovaných 5-halotetrazolů

Dva případy úspěšného Negishiho²⁴ a Suzukiho couplingu²⁵ popsal Buchwald (Schema 5). Do této reakce vstupuje jako výchozí látka 5-chlor-1-fenyl-1*H*-tetrazol, který reaguje za katalýzy Pd₂dba₃ a dicyklohexyl(2',6'-diisopropoxybifenyl-2-yl)fosfinu. Tento typ reakce byl aplikován i na jiné heterocykly s podobně vysokými výtěžky.



Schema 5

Jediná systematická studie publikovaná v literatuře popisuje Suzukiho coupling²⁶ 1-benzyl-5-bromtetrazolu s boronovými kyselinami v přítomnosti Pd(PPh₃)₄ jako katalyzátoru (Schema 6). Autoři dosáhli výtěžnosti až 96 %, přičemž výsledek velmi závisí na typu použité base. Stejně jako v předchozím případě i zde musel být nejdříve připraven výchozí halotetrazol.



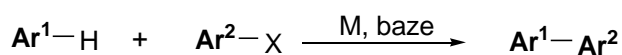
Schema 6

Naše pracovní skupina se v minulosti rovněž neúspěšně pokoušela o couplingovou reakci 1-fenyl-5-jod-1*H*-tetrazolu a 5-ethyl-3-tributylstannyl-2,5-dihydrofuran-2-onu pomocí Stilleho reakce²⁷.

Vzhledem k tomu, že couplingové reakce vyžadují přítomnost organokovu jako jednoho z reakčních partnerů, nejkratší cesta k 1,5-disubstituovaným tetrazolům by byla přímá aktivace vazby C5-H. Tyto reakce byly popsány pro celou řadu heterocyklů²⁸, ale pro tetrazol nebyl známý ani jeden případ.

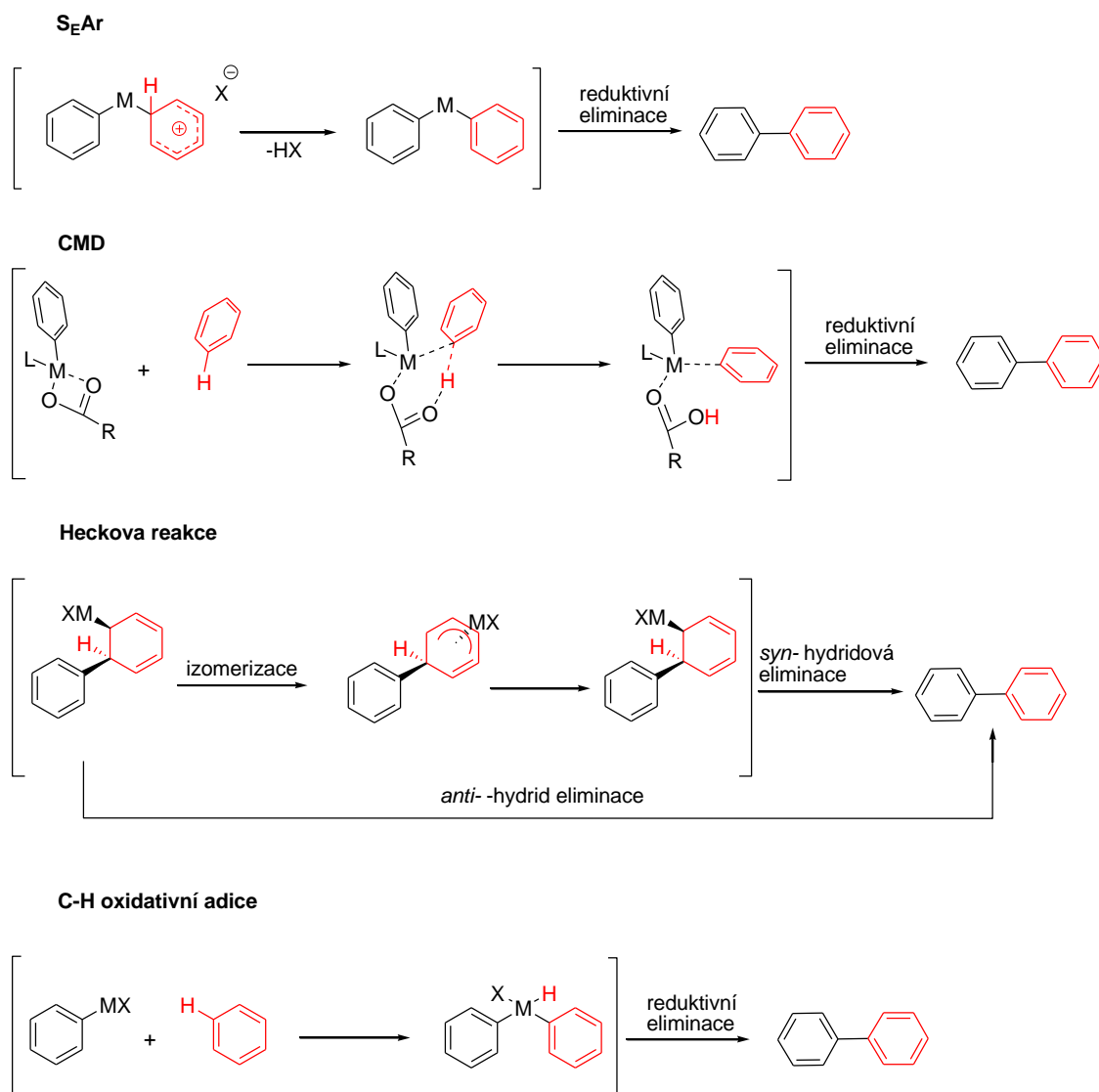
1.4. Přímá aktivace C-H vazby

Pro přímou aktivaci C-H vazby (Schema 7) byly navrženy čtyři mechanismy. Nejprve dochází k oxidativní adici arylhalogenidu, která je následována jednou ze čtyř možností vzniku C-H vazby (Schema 8). První možností je substituce elektrofilně aromatická²⁹ (S_EAr), kdy reaguje elektrofilní kovový katalyzátor s elektronově bohatým, nukleofilním arenem. Druhou možností je CMD mechanismus³⁰ (současná metalace-deprotonace), který vyžaduje přítomnost acetátového ligandu. Dále Heckova reakce³¹, jež probíhá buď *anti*- nebo *syn*- β -hydridovou eliminací a poslední možností je oxidativní adice C-H vazby. Přesný mechanismus ovšem velmi závisí na použitém substrátu, katalyzátoru, rozpouštědle a ostatních reagentech, které vstupují do reakce.



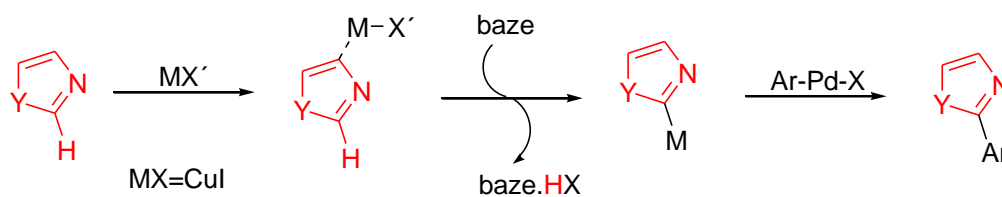
X = odstupující skupina

Schema 7



Schema 8

U heterocyklů jsme se začali setkávat s přímou aktivací C-H vazby až v nedávné době. Přímé arylace heteroarenů probíhají za podobných podmínek a podobnými mechanismy jako arylace arenů. Vzhledem k rozdílné povaze vazeb C-H v heteroarenech lze ale pozorovat vyšší regiosektivitu intermolekulárních arylací. Regiosektivita také závisí na rozpouštědle, katalyzátoru a různých aditivech (jako např. soli Cu^I), která mohou zvrátit průběh reakce. Podobně jako u arenů probíhají tyto reakce, po úvodní oxidativní adici arylhalogenidu na katalyzátor, mechanismy S_EAr, Heckovy reakce a současné metalace-deprotonace (CMD). V přítomnosti aditiv, nejčastěji³² solí Cu^I, byl popsán i tzv. karbaniontový cross-couplingový mechanismus (Schema 9).



Schema 9

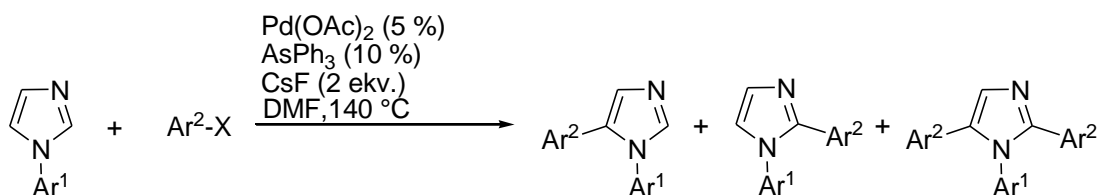
Při tomto průběhu reakce dochází ke koordinaci Cu^{I} k heterocyklickému dusíku a vzniklý komplex je deprotonován působením báze za vzniku měďné soli, která podléhá standardní cross-couplingové reakci.

Úspěšným couplingovým reakcím na těchto strukturních skeletech bude věnována pozornost v následující kapitole, se zaměřením na heterocykly podobné tetrazolu.

1.5. Příklady aktivace C-H vazby na strukturně příbuzných heterocyklech

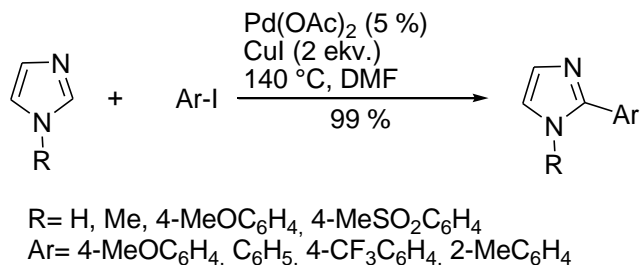
1.5.1. Přímá aktivace C-H vazby u imidazolů

Podobně jako C5 tetrazolu je C2 imidazolu uzavřen mezi dvěma atomy dusíku. Z toho důvodu zde bylo usilováno o přímou arylaci do polohy 2. První experimenty vycházely z reakce 1-aryl-1*H*-imidazolu s aryljodidem nebo bromidem v DMF, za přítomnosti fluoridu cesného jako báze a za katalýzy směsi $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ a AsPh_3 ³³. Produktem reakce ovšem byla směs regioisomerů (Schema 10) a produktu vícenásobné substituce.



Schema 10

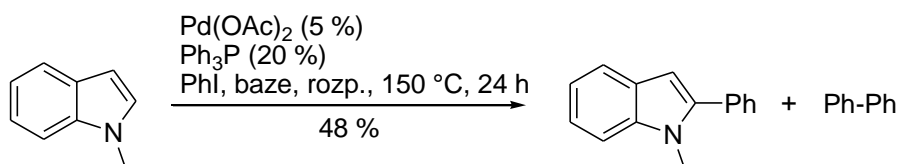
Další pokusy vedly ke zvýšení regioselektivity a výtěžnosti reakce, čehož bylo dosaženo vynecháním báze a fosfinu (Schema 11). Tímto způsobem bylo dosaženo substituce v poloze 2 s výtěžkem až 99 %³⁴.



Schema 11

1.5.2. Přímá aktivace C-H vazby v poloze 2 u indolů

Další heterocykly, které byly studovány z hlediska přímé aktivace C-H vazby a následné funkcionalizace, byly indoly³⁵. Autoři se nejprve soustředili na výběr vhodné báze, přičemž největší výtěžnosti nakonec dosáhli s CsOAc při použití Pd(OAc)_2 (0.05 ekv.) jako katalyzátoru a Ph_3P (0.2 ekv.) jako stabilizujícího ligandu (Schema 12).

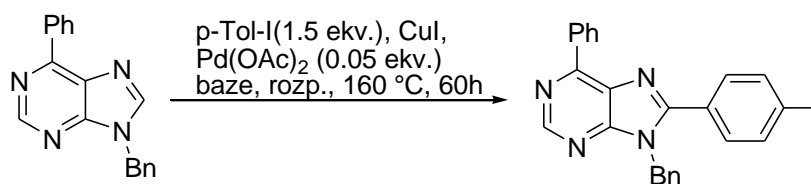


Schema 12

Při těchto pokusech se ukázala inverzní závislost mezi množstvím katalyzátoru a výtěžností reakce, ovšem za cenu dlouhého reakčního času. Autoři taktéž sledovali vliv substituce v poloze 1 indolu; nejlepšího výsledku dosáhli při $\text{N}^1\text{-R} = \text{methyl}$ a naopak nejhoršího, při $\text{N}^1\text{-R} = \text{acetyl, methylsulfonyl}$ nebo fenylsulfonyl . V těchto případech reakce neprobíhala.

1.5.3. Přímá aktivace C-H vazby v poloze 8 u purinů

Hocek a kol. zkoumali možnost kombinace regioselektivních cross-couplingů 2,6-dihalogenpurinů s přímou C-H arylací do pozice 8 s cílem vývoje selektivní syntézy 2,6,8-trisubstituovaných purinů s třemi různými C-substituenty³⁷. První couplinky katalyzované Rh a Co za použití různých bazí proběhly neúspěšně. Proto se soustředili na Pd-katalyzované couplinky za využití cesných solí jako bazí, v přítomnosti jodidu měďného a trifenylfosfinu (Schema 13), v analogii se systémem vyvinutým pro funkcionalizace C2 imidazolů³⁵. Jako nejvhodnějším rozpouštědlem se při jejich pokusech nakonec ukázal být *N,N*-dimethylformamid. Optimalizace podmínek je zřejmá z Tab. 1. Je pozoruhodné, že optimálního výtěžku bylo dosaženo v nepřítomnosti fosfinového ligandu.



Schema 13

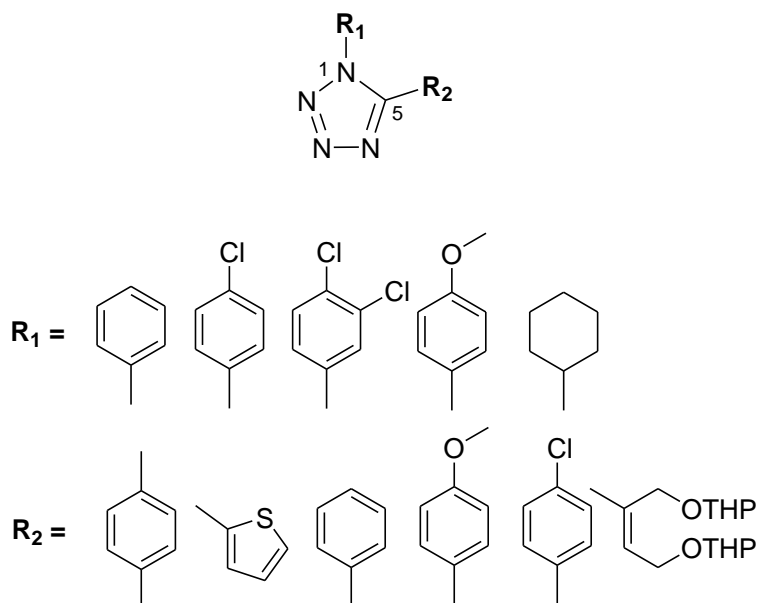
Tab. 1: Optimalizace podmínek u přímého couplingu purinů

| Reakce | Baze (ekv.) | CuI (ekv.) | Rozp. | Ligand (mol%) | Výtěžek (%) |
|--------|---------------------------------------|------------|-------------------|-----------------------|-----------------|
| 1 | Cs ₂ CO ₃ (1.5) | 0.2 | jiné ^a | PPh ₃ (20) | <5 |
| 2 | Cs ₂ CO ₃ (1.5) | 0.2 | DMF | PPh ₃ (20) | 39 |
| 3 | Cs ₂ CO ₃ (1.5) | 0.2 | DMF | žádný | 48 |
| 4 | CsF (1.5) | 0.2 | DMF | žádný | 12 |
| 5 | Cs ₂ CO ₃ (1.5) | 2 | DMF | žádný | 87 |
| 6 | Cs ₂ CO ₃ (1.5) | 3 | DMF | žádný | 95 ^b |
| 7 | žádná | 3 | DMF | žádný | 36 |

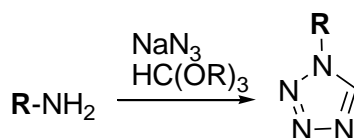
^a Dioxan, acetonitril, toluen ^b Použity 2 ekv. 4-jodtoluenu

2. CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo vyvinout a optimalizovat metodiku pro přímou arylaci a alkenylaci 1-substituovaných tetrazolů do polohy 5. Záměrem bylo vytvořit knihovnu látek, kde se v poloze 1 tetrazolu bude nacházet aryl, substituovaný aryl (funkční skupiny s $-M$ i $+M$ efektem) a cykloalkyl. Získané poznatky by měly napomoci ekonomické přípravě 1,5-disubstituovaných tetrazolů s potenciální biologickou aktivitou.



Lze konstatovat, že v kombinaci s jednoduchou jedнокrokovou přípravou 1-substituovaných tetrazolů z primárních aminů³⁸ (Schema 14) by se evidentně jednalo o nejkratší cestu přípravy 1,5-disubstituovaných derivátů tetrazolu.



Schema 14

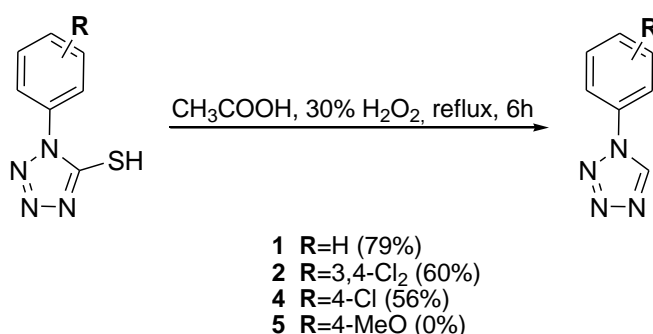
3. VÝSLEDKY S DISKUZÍ

Jak již bylo řečeno, C5 tetrazolu je podobný C2 imidazolu nebo C8 purinu. Z tohoto důvodu jsme se rozhodli vycházet z podmínek uvedených v příslušných publikacích^{33,34,36,37}.

3.1. Příprava 1-substituovaných-1*H*-tetrazolů

Nejprve jsme si připravili příslušné 1-substituované tetrazoly jako substráty. Rozhodli jsme se pro tetrazoly, které budou v poloze 1 obsahovat fenyl, fenyl s elektrondonorovými substituenty, fenyl s elektronakceptorovými substituenty a alkyl.

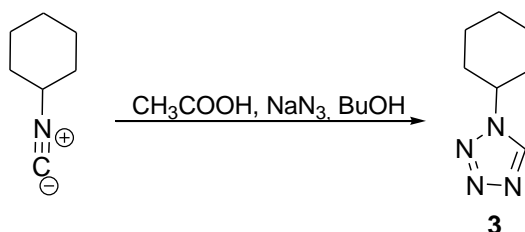
Při přípravě jsme využili již připravených 5-sulfanyl-1-substituovaných tetrazolů, které byly syntetizovány v minulých letech jako meziprodukty při vývoji nových antituberkulotik na KAOCH. Jednalo se o 1-fenyl-5-sulfanyl-1*H*-tetrazol, 1-(3,4-dichlorfenyl)-5-sulfanyl-1*H*-tetrazol, 1-(4-chlorfenyl)-5-sulfanyl-1*H*-tetrazol a 1-(4-methoxyfenyl)-5-sulfanyl-1*H*-tetrazol, které jsme pomocí oxidativní desulfurace³⁹ přeměnili na příslušné 1-substituované-1*H*-tetrazoly (Schema 15). Reakce jsme provedli za varu v prostředí nadbytku koncentrované kyseliny octové a 30 % peroxidu vodíku Po následném ochlazení produkt z reakční směsi vykrytalizoval.



Schema 15

V případě tetrazolu obsahujícího fenyl (**1**), 3,4-dichlorfenyl (**2**) a 4-chlorfenyl (**4**) reakce proběhla s uspokojivými výtěžky, zatímco u 4-methoxyfenylderivátu (**5**) jsme nedokázali produkt z reakční směsi izolovat (pokud vůbec vznikl).

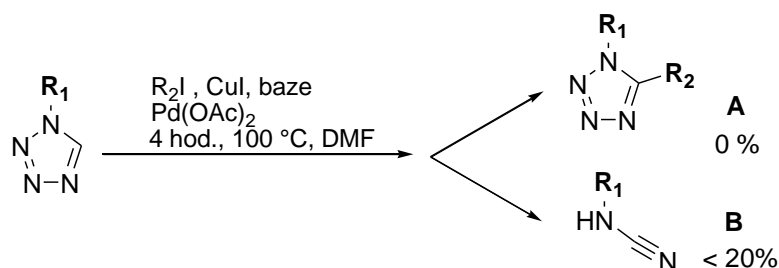
Při přípravě 1-cyklohexyl-1*H*-tetrazolu⁴⁰ jsme využili adice azidů na isonitrily. K cyklohexanisonitrilu jsme za přítomnosti kys. octové a peroxidu vodíku v butanolu přidali azid sodný, čímž vznikl výsledný 1-cyklohexyl-1*H*-tetrazol (**3**) v kvantitativním výtěžku (Schema 16).



Schema 16

3.2. Pokusy o přímou aktivaci v nepřítomnosti fosfinu

Jak bylo výše uvedeno, při prvním pokusu o přímou aktivaci jsme se inspirovali reakčními podmínkami uvedenými v publikaci Hocka a kol.³⁷ Jako reakčního partnera pro 1-substituovaný-1*H*-tetrazol jsme rovněž zvolili 4-jodtoluen z důvodu snazší analýzy reakčních směsí pomocí NMR spektroskopie. Dále jsme použili octan palladnatý (0.05 ekv.) jako katalyzátor, jodid měďný (3 ekv.) a uhličitan cesný (2.5 ekv.) jako aditiva. Reakce byla provedena v *N,N*-dimethylformamidu (Schema 17). Reakce probíhala při 100 °C a byla monitorována v třicetiminutových intervalech pomocí TLC. Po 4 hodinách již nebylo v reakční směsi možné detekovat výchozí tetrazol. Po separaci reakční směsi sloupcovou chromatografií jsme zjistili, že jediný izolovaný produkt je derivát kyanamidu **B**, který byl potvrzen pomocí NMR spektroskopie a jenž je zřejmým rozkladným produktem výchozího tetrazolu (Tab. 2, reakce 1).



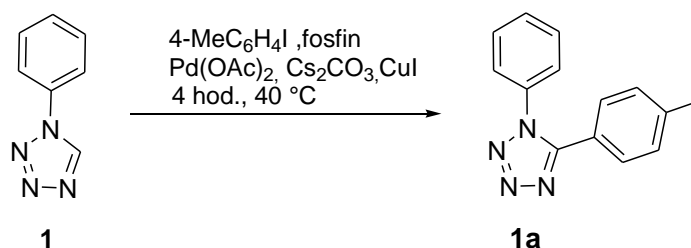
Schema 17

Zkusili jsme proto vynechat z reakčních komponent jodid měďný (Tab. 2, reakce 2), popř. bazi (Tab. 2, reakce 8), ale tyto změny způsobily, že reakce neprobíhala v žádném směru. Úspěch nepřinesla ani záměna uhličitanu cesného za uhličitan rubidný ani za octan zinečnatý, taktéž vliv substituentu v poloze 1 tetrazolu (fenyl, 4-chlorfenyl, 3,4-dichlorfenyl) se ukázal být nevýznamným (Tab.2, reakce 3-7 a 9). Pokaždé byl z reakční směsi izolován pouze rozkladný produkt **B** a to ve velmi malých výtěžcích.

Tab.2: Souhrn reakčních podmínek Pd-katalyzovaných reakcí bez přítomnosti fosfinu

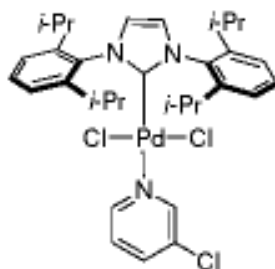
| Reakce | R ₁ (ekv.) | R ₂ (ekv.) | Pd(OAc) ₂ (ekv.) | CuI (ekv.) | Baze (ekv.) | Rozp. | Výtěžek (%) |
|--------|---------------------------------|---------------------------|--------------------------------|------------|---|-------|----------------|
| 1 | 3,4-Cl ₂ Ph (1) | <i>p</i> -tolyl (1.1) | 0.050 | 3 | Cs ₂ CO ₃ (2.5) | DMF | B 7 |
| 2 | 3,4-Cl ₂ Ph (0.5) | <i>p</i> -tolyl (0.55) | 0.025 | 0 | Cs ₂ CO ₃ (1.25) | DMF | 0 |
| 3 | 3,4-Cl ₂ Ph (0.5) | <i>p</i> -tolyl (0.55) | 0.025 | 1.5 | Rb ₂ CO ₃ (1.25) | DMF | B 5 |
| 4 | 4-ClPh (0.5) | <i>p</i> -tolyl (0.55) | 0.025 | 1.5 | Cs ₂ CO ₃ (1.25) | DMF | B 8 |
| 5 | 3,4-Cl ₂ Ph (0.5) | <i>p</i> -tolyl (0.55) | 0.025 | 1.5 | Zn(OAc) ₂ (1.5) | DMF | B 15 |
| 6 | 3,4-Cl ₂ Ph (0.5) | <i>p</i> -tolyl (0.55) | 0.025 | 1.5 | Zn(OAc) ₂ (1.5) | DMF | B 6 |
| 7 | Ph (1) | <i>p</i> -tolyl (1.1) | 0.050 | 2.5 | Zn(OAc) ₂ (2.0) | DMF | B 4 |
| 8 | Ph (1) | <i>p</i> -tolyl (1.1) | 0.050 | 2.5 | žádná | DMF | 0 |
| 9 | Ph (1) | <i>p</i> -tolyl (1.1) | 0.050 | 2.5 | Cs ₂ CO ₃ (2.5) | DMF | B 20 |

Z uvedených výsledků bylo patrné, že reakce provedené za uvedených podmínek neprobíhají směrem k žádanému produktu **A**, a že dochází k rychlejší konkurenční reakci vedoucí k rozpadu intermediátu a vzniku kyanamidového derivátu **B**. Jako poslední řešení jsme se rozhodli vyzkoušet přidání fosfinu do reakční směsi. Proto jsme zopakovali podmínky uvedené v Tab. 2, reakce 1, s přidáním 0.1 ekv. trifenyfosfinu jakožto základního fosfinu používaného při Pd-katalyzovaných reakcích (Schema 18; Tab. 3, reakce 10). Reakci jsme rovněž provedli při nižší teplotě (40 °C), abychom potlačili rychlost případného rozpadu na kyanamid a důsledně monitorovali její průběh pomocí TLC.



Schema 18

Přítomnost trifenylofosfinu se ukázala jako zcela zásadní pro žádaný průběh reakce. Po čtyřech hodinách došlo k vymizení výchozí látky z reakční směsi a po sloupcové chromatografii jsme získali 59 % izolovaného výtěžku 1-fenyl-5-(4-methylfenyl)-1*H*-tetrazolu (**1a**), což se dá považovat za poměrně solidní výsledek u těchto typů reakcí. Následně jsme zaměnili trifenylofosfin za elektronově bohatší tris(2-furyl)fosfin, s nímž se nám povedlo dosáhnout 60 % výtěžku (Tab. 3, reakce 11). V dalším experimentování jsme se snažili snížit navážku CuI a použité base, což se při purinovém couplingu³⁷ ukázalo jako nevýhodné. Reakci jsme provedli s 1.0 ekv. jodidu měďného a 1.1 ekv. uhličitanu cesného, přičemž došlo k zvýšení výtěžku až na 69 % (Tab. 3, reakce 12). Vzhledem k tomu, že jsme dodržovali reakční čas a teplotu (4 hod., 40 °C) určené po první úspěšné reakci, snažili jsme se také zaměnit dimethylformamid jiným rozpouštědlem, které by mělo nižší teplotu varu a zpracování výsledné reakční směsi by bylo jednodušší. Zvolili jsme acetonitril, jenž je úspěšně využíván u řady podobných reakcí⁴¹ (Tab. 3, reakce 13). Výtěžek při této reakci byl totožný jako při použití DMF. Acetonitril jsme posléze použili i pro reakci s trifenylofosfinem, ale již došlo ke snížení výtěžku (Tab. 3, reakce 14). Pokusili jsme se vyzkoušet i jiné, moderní ligandy, běžně používané při cross-couplingových reakcích. Nejprve jsme provedli reakci s PEPPSI-*iPr* (Obr.1), což je chlorid palladnatý s *N*-heterocyklickým karbenem jako ligandem. Použití tohoto komplexu ovšem vedlo k velice nízkému výtěžku (Tab. 3, reakce 15).



Obr.1: [1,3-bis(2,6-diisopropylfenyl)imidazol-2-yliden](3-chloropyridyl)palladium(II) dichlorid

Dalším použitým ligandem byl bicyklohexyl(2-bifenylo)fosfin, ale ani tato změna nevedla k vylepšení výtěžnosti reakce (Tab. 3, reakce 16). Posledním pokusem v této fázi jsme se chtěli pokusit ozřejmit roli jodidu měďného v průběhu reakce a ukázalo se, že bez jeho přítomnosti reakce vůbec neprobíhá (Tab. 3, reakce 17).

Tab.3: Vliv množství a zastoupení jednotlivých složek reakční směsi na konečný výtěžek reakce

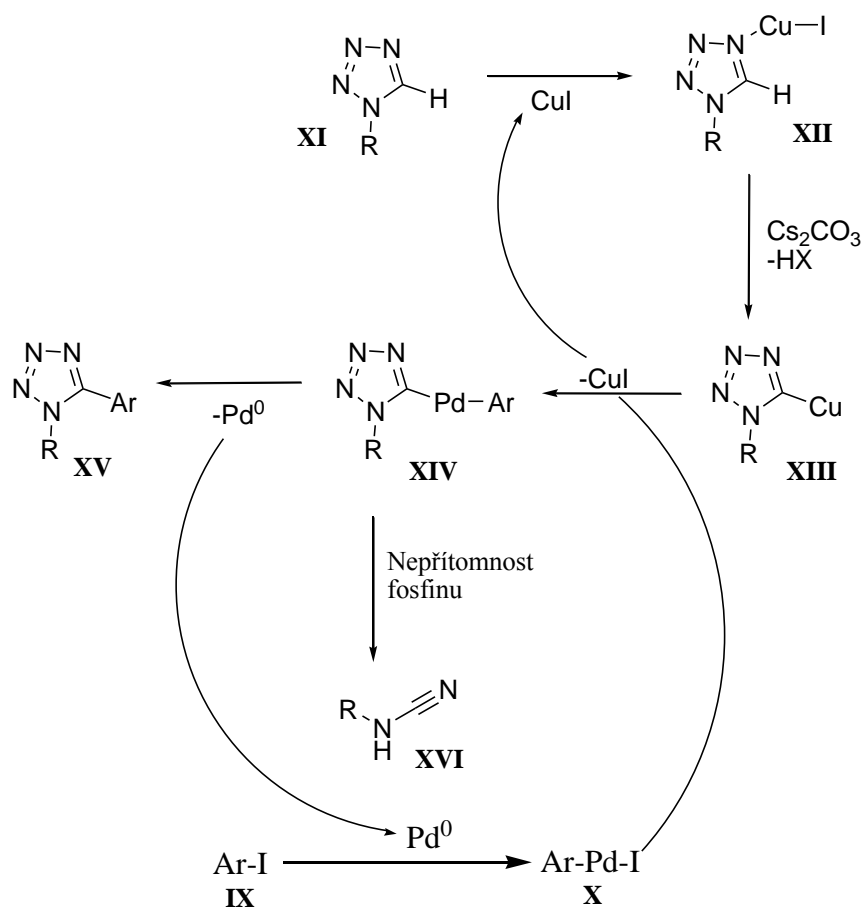
| Reakce | Pd(OAc) ₂ (ekv.) | CuI (ekv.) | Cs ₂ CO ₃ (ekv.) | Fosfin (0,1 ekv.) | Rozp. | Výtěžek (%) |
|--------|--------------------------------|---------------|---|-------------------------------------|-------------|----------------|
| 10 | 0.05 | 2.5 | 3 | Ph ₃ P | DMF | 59 |
| 11 | 0.05 | 2.5 | 3 | TFP | DMF | 60 |
| 12 | 0.05 | 1 | 1.1 | TFP | DMF | 69 |
| 13 | 0.05 | 1 | 1.1 | TFP | MeCN | 69 |
| 14 | 0.05 | 1 | 1.1 | Ph ₃ P | MeCN | 46 |
| 15 | - | 1 | 1.1 | PEPPSI- <i>i</i> Pr | DMF | 8.5 |
| 16 | 0.05 | 1 | 1.1 | (Cy) ₂ (2- bifenylo)P | DMF | 41 |
| 17 | 0.05 | 0 | 1.1 | TFP | DMF | stopy |

3.3. Návrh mechanismu reakce

Vzhledem k povaze tetrazolu a nemožnosti provést reakci v nepřítomnosti CuI je pravděpodobné, že reakce probíhá karbaniontovým cross-couplingovým mechanismem.

Nejprve pak dochází k oxidativní adici arylhalogenidu (**IX**) na Pd⁰ za vzniku komplexu Pd^{II} (**X**). Zároveň dochází ke koordinaci CuI k N4 tetrazolu (**XI**) a v dalším kroku je tento komplex (**XII**) deprotonován báží za vzniku měďného derivátu (**XIII**), který i v dalším kroku podlehně transmetalaci za vzniku Pd^{II} komplexu (**XIV**), ze kterého reductivní eliminací vzniká finální produkt (**XV**).

Úlohou fosfinu je stabilizace tohoto intermediátu (**XIV**), jenž v nepřítomnosti fosfinového ligandu preferuje fragmentaci na kyanamid (**XVI**).

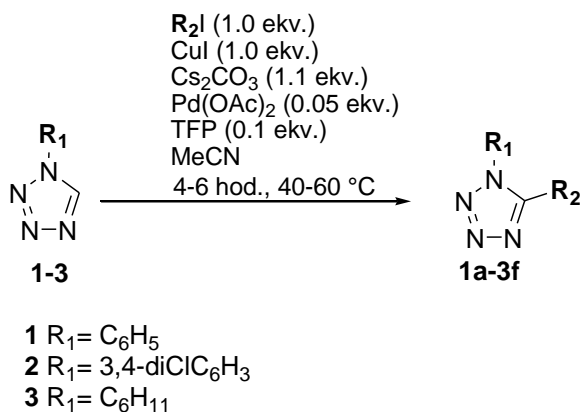


Schema 19

3.4. Příprava knihovny 1,5-disubstituovaných tetrazolů

Díky tomu, že se nám podařilo optimalizovat podmínky v předešlých pokusech, začali jsme aplikovat naše poznatky při syntéze menší knihovny 1,5-disubstituovaných tetrazolů, kde jako substráty sloužily 1-fenyl (**1**), 1-(3,4-dichlorfenyl) (**2**) a 1-cyklohexyl-1*H*-tetrazol (**3**). Jako couplingový partner (Tab. 4) byly vybrány různé aryl, heteroaryl a alkenyljodidy, konkrétně jodbenzen (**c**), 4-jodtoluen (**a**), 4-methoxyjodbenzen (**d**), 4-chlorjodbenzen (**e**), z heteroaromátů byl použit 2-jodthiofen (**b**) a jako příklad alkenyljodidu jsme zařadili (*E*)-2-jod-1,4-bis(tetrahydropyran-2-yloxy)but-2-en (**f**), který naše pracovní skupina využívá jako intermediát pro syntézu šestičlenných nenasycených laktonů⁴².




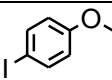
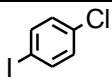
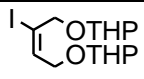



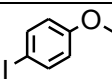
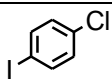
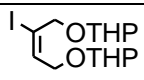



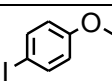
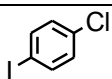
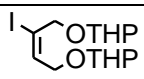
Reakce probíhaly za podmínek uvedených v Tab. 3, reakce 13 a jejich průběh byl důsledně monitorován pomocí TLC. Reakční doby a teploty se měnily v závislosti na reagentech (Schema 20).



Schema 20

Výsledky všech couplingových reakcí jsou spolu s příslušnými reakčními podmínkami uvedeny v Tab. 4.

Tab.4: Přehled syntetizovaných 1,5-disubstituovaných tetrazolů

| Reakce | Tetrazol | Iodid | Reakční čas (hod.) | T (°C) | Produkt | Výtěžek (%) |
|--------|----------|---|--------------------|--------|-----------|-------------|
| 18 | 1 |  | 4 | 40 | 1a | 69 |
| 19 | 1 |  | 6 | 40 | 1b | 49 |
| 20 | 1 |  | 5 | 40 | 1c | 85 |
| 21 | 1 |  | 4 | 40 | 1d | 76 |
| 22 | 1 |  | 4 | 40 | 1e | 87 |
| 23 | 1 |  | 4 | 40 | 1f | 56 |
| 24 | 2 |  | 4 | 40 | 2a | 73 |
| 25 | 2 |  | 5 | 40 | 2b | 57 |
| 26 | 2 |  | 4 | 40 | 2c | 66 |
| 27 | 2 |  | 4 | 40 | 2d | 79 |
| 28 | 2 |  | 4 | 40 | 2e | 53 |
| 29 | 2 |  | 4 | 40 | 2f | 59 |
| 30 | 3 |  | 5 | 40 | 3a | 69 |
| 31 | 3 |  | 6 | 60 | 3b | 26 |
| 32 | 3 |  | 6 | 60 | 3c | 66 |
| 33 | 3 |  | 5 | 60 | 3d | 54 |
| 34 | 3 |  | 5 | 60 | 3e | 35 |
| 35 | 3 |  | 4 | 60 | 3f | 63 |

Jak je patrné z Tab. 4, výtěžky reakcí se pohybovaly v rozmezí nižších (26 %, reakce 31) až velice solidních (87 %, reakce 22). Není snadné najít závislost mezi s výtěžkem reakce a strukturou použitých substrátů, ale lze říci, že v případě použitého alkenyljodidu vycházel výtěžek reakce u všech 3 substrátů poměrně konzistentně (56 %, 59 % a 63 %) u všech tří použitých substrátů, zatímco u použitých jodarylů a jodheteroarylů byly výtěžky nižší v případě 1-cyklohexyl-1*H*-tetrazolu.

Připravený 1-(4-chlorfenyl)-1*H*-tetrazol nebyl do této diplomové práce zahrnut z časových důvodů.

3.5. Biologická aktivita připravených 1,5-disubstituovaných tetrazolů

Vybrané 1,5-disubstituované tetrazoly (**1a**, **2a**) byly testovány na antifungální a antibakteriální aktivitu (Tab. 5). Jak je zřejmé z předložených výsledků, testované 1,5-disubstituované tetrazoly nevykázaly v těchto testech žádnou aktivitu.

Tab.5: Antifungální a antibakteriální aktivita 1,5-disubstituovaných tetrazolů

| | | 1a | 2a | | | | 1a | 2a |
|------------------------|------|-----------|-----------|--|-------------------------|-----|-----------|-----------|
| CA1^a | 24h | >500 | >500 | | SA^m | 24h | >500 | >500 |
| | 48h | >500 | >500 | | | 48h | >500 | >500 |
| CA2^b | 24h | >500 | >500 | | MRSAⁿ | 24h | >500 | >500 |
| | 48h | >500 | >500 | | | 48h | >500 | >500 |
| CP^c | 24h | >500 | >500 | | SE^o | 24h | >500 | >500 |
| | 48h | >500 | >500 | | | 48h | >500 | >500 |
| CK1^d | 24h | >500 | >500 | | EF^p | 24h | >500 | >500 |
| | 48h | >500 | >500 | | | 48h | >500 | >500 |
| CK2^e | 24h | >500 | >500 | | EC^q | 24h | >500 | >500 |
| | 48h | >500 | >500 | | | 48h | >500 | >500 |
| CT^f | 24h | >500 | >500 | | KP^r | 24h | >500 | >500 |
| | 48h | >500 | >500 | | | 48h | >500 | >500 |
| CG^g | 24h | >500 | >500 | | KP-E^s | 24h | >500 | >500 |
| | 48h | >500 | >500 | | | 48h | >500 | >500 |
| CL^h | 24h | >500 | >500 | | PA^t | 24h | >500 | >500 |
| | 48h | >500 | >500 | | | 48h | >500 | >500 |
| TBⁱ | 24h | >500 | >500 | | | | | |
| | 48h | >500 | >500 | | | | | |
| AF^j | 24h | >500 | >500 | | | | | |
| | 48h | >500 | >500 | | | | | |
| AC^k | 24h | >500 | >500 | | | | | |
| | 48h | >500 | >500 | | | | | |
| TM^l | 72h | >500 | >500 | | | | | |
| | 120h | >500 | >500 | | | | | |

^a*Candida albicans* ATCC44859, ^b*C. albicans* ATCC90028, ^c*C. parapsilosis* ATCC22019, ^d*C. krusei* ATCC 6258, ^e*C. krusei* E28, ^f*C. tropicalis* 156, ^g*C. glabrata* 20/I, ^h*C. lusitaniae* 2446/I, ⁱ*Trichosporon beigelii* 1188, ^j*Aspergillus fumigatus* 231, ^k*Absidia corymbifera* 272, ^l*Trichophyton mentagrophytes* 445 (hodnoty MIC pro TM odečítány po 72 a 120 hodinách), ^m*Staphylococcus aureus* CCM 4516/08, ⁿ*S. aureus* meticilin rezistentní H 5996/08, ^o*S. epidermidis* H 6966/08, ^p*Enterococcus* sp. J 14365/08, ^q*Escherichia coli* CCM4517, ^r*Klebsiella pneumoniae* D 11750/08, ^s*K. pneumoniae* ESBL pozitivní J 14368/08, ^t*Pseudomonas aeruginosa* CCM 1961

4. ZÁVĚR

Podařilo se nám optimalizovat podmínky pro přímou aktivaci C5-H vazby u 1-substituovaných tetrazolů. Díky tomu se nám podařilo připravit knihovnu osmnácti 1,5-disubstituovaných tetrazolů, při jejichž přípravě jsme využili přímou arylaci i alkenylaci.

Zjistili jsme, že na rozdíl od přímé aktivace C5-H vazby purinů³⁷ a C2-H vazby imidazolů³⁴, kde reakce neprobíhala v přítomnosti fosfinů, v případě tetrazolů je přítomnost fosfinů nutná, neboť zde plní úlohu ligandu stabilizujícího palladnatý intermediát a v jejich nepřítomnosti je dosahováno pouze stopových výtěžků. Jako nejvhodnější fosfin se nakonec ukázal TFP, ačkoliv levnější Ph₃P může být použit také, byť s menším výtěžkem.

Postup popsany v této práci zjednodušuje cestu k přípravě širokého spektra 1,5-disubstituovaných tetrazolů a podporuje jejich následné využití.

Výsledky této diplomové práce byly publikovány⁴³ v časopise Journal of Organic Chemistry (přiloženo na konci diplomové práce).

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1. Použité experimentální metody

Výchozí látky (s výjimkou tetrazol-5-thiolů) byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich a použity bez čištění. Všechny bezvodé reakce byly prováděny ve vyžíhaných Schlenkových baňkách pod inertní argonovou atmosférou.

NMR spektra všech látek byla měřena v roztocích CDCl_3 a $\text{DMSO-}d_6$ při laboratorní teplotě na přístroji VARIAN MERCURY – Vx BB 300 pracujícím při 300 MHz pro ^1H a při 75 MHz pro ^{13}C . Chemické posuny byly změřeny jako hodnoty δ v *parts per million* (ppm) a byly nepřímo vztaženy k tetramethylsilanu jako standardu pomocí zbytkového signálu rozpouštědla (CDCl_3 : 7.26 pro ^1H a 77.0 pro ^{13}C , $\text{DMSO-}d_6$: 2.49 pro ^1H a 39.7 pro ^{13}C). Data jsou prezentována v následujícím pořadí: chemický posun (δ), integrovaná intenzita (v protonových spektrech), multiplicita (s: singlet, d: dublet, dd: dublet dubletů, m: multiplet), interakční konstanty (Hz) a přiřazení. Měření IR spekter všech látek bylo provedeno na spektrometru NICOLET 6700FT-IR. Hmotnostní spektra všech látek byla měřena na hmotnostním spektrometru MAGNUM FINNIGAN LTQ XL s nízkou rozlišovací schopností. Elementární analýza byla prováděna pomocí přístroje CHNS-OCE FISOONS EA 1110. Body varu jednotlivých produktů byly zjištěny pomocí Koflerova přístroje a nebyly korigovány.

Průběh reakce a čistota výsledných produktů byla kontrolována pomocí tenkovrstvé chromatografie na aluminiových TLC deskách Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck) s detencí pod UV lampou. Silica gel 60 (síta 230-400) použitý pro sloupcovou chromatografii byl zakoupen od firmy E. Merck.

5.2. Použité experimentální postupy při biologickém hodnocení

5.2.1. Hodnocení antifungální aktivity

U připravených látek byla hodnocena *in vitro* antifungální aktivita vůči humánně patogenním houbám mikrodiluční bujónovou metodou⁴⁴. Testovací soubor kmenů zahrnoval zástupce běžných původců infekčních onemocnění a byl tvořen čtyřmi kmeny

kvasinek z American Type Culture Collection (*Candida albicans* ATCC 44859, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258) a osmi klinickými izoláty kvasinek (*Candida krusei* E28, *Candida tropicalis* 156, *Candida glabrata* 20/I, *Candida lusitaniae* 2446/I, *Trichosporon beigeli* 1188) a vláknitých hub (*Aspergillus fumigatus* 231, *Absidia corymbifera* 272, *Trichophyton mentagrophytes* 445) získaných z depozitu Katedry biologických a lékařských věd Farmaceutické Fakulty UK v Hradci Králové. 3 z uvedených ATCC kmenů (*Candida albicans* ATCC 90028, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258) sloužily také jako kontrola kvality. Všechny kultury byly před testováním kultivovány na Sabouraudově dextrózovém agaru. DMSO (100 %) byl použit pro rozpouštění všech testovaných látek; jeho výsledná koncentrace nepřekročila 2 %. Jako testovací medium sloužilo RPMI 1640 (Sevapharma, Praha) medium obohacené L-glutaminem pufované pomocí 0.165 M morfolinpropansulfonové kyseliny (Serva) a 10 N NaOH na pH 7.0. Jamky mikrodilučních testovacích destiček obsahovaly 100 μ l RPMI 1640 media s klesající koncentrací testovaných látek (od 500 do 0.48 μ mol.l⁻¹) a 100 μ l suspenze inokula. Výsledná koncentrace inokula v RPMI 1640 mediu byla $5 \times 10^3 \pm 0.2$ cfu.ml⁻¹. Destičky byly inkubovány při 35°C a MIC byly vizuálně odečteny po 24 a 48 hodinách. Hodnoty MIC pro *T. mentagrophytes* byly odečteny po 72 a 120 hodinách. Minimální inhibiční koncentrace byly definovány jako 80 % inhibice růstu kontroly a byly stanoveny dvakrát a duplicitně. Odchytky od tabelovaných hodnot MIC nebyly vyšší než jedno ředění použité při testování.

5.2.2. Hodnocení antibakteriální aktivity

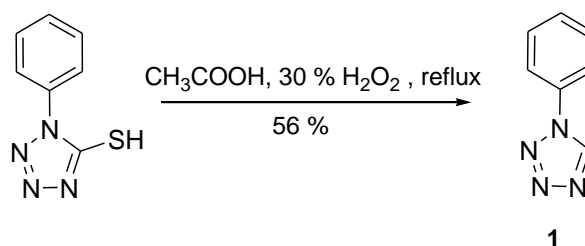
U vybraných látek byla hodnocena *in vitro* antibakteriální aktivita vůči humánně patogenním bakteriím mikrodiluční bujónovou metodou⁴⁵. Testovací soubor kmenů zahrnoval zástupce běžných původců infekčních onemocnění a byl tvořen třemi kmeny mikroorganismů z American Type Culture Collection (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) a pěti klinickými izoláty (*Staphylococcus aureus* MRSA HK5996/08, *Staphylococcus epidermidis* HK6966/08, *Enterococcus* sp. HK14365/08, *Klebsiella pneumoniae* HK11750/08, *Klebsiella pneumoniae* ESBL HK14368/08) získaných z depozitu Katedry biologických a lékařských věd Farmaceutické Fakulty UK v Hradci Králové.

Uvedené ATCC kmeny sloužily také jako kontrola kvality. Všechny kultury byly před testováním kultivovány na Mueller-Hintonově dextrózovém agaru. DMSO (100 %) byl použit pro rozpouštění všech testovaných látek; jeho výsledná koncentrace nepřekročila 2 %. Jako testovací medium sloužil Mueller-Hintonův bujón (MH, HiMedia, Čaderský-Envitek, Czech Republic) pufovaný na pH 7.4 (± 0.2). Jamky mikrodilučních testovacích destiček obsahovaly 200 μl Mueller-Hintonova media s klesající koncentrací testovaných látek (od 500 do 0.48 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) a 10 μl suspenze inokula. Výsledná koncentrace inokula ve sterilní vodě dosáhla hodnoty 0.5 McFarlandovy stupnice ($1.5 \times 10^8 \text{ cfu.ml}^{-1}$). Destičky byly inkubovány při 36°C a MIC byly vizuálně odečteny po 24 a 48 hodinách. Minimální inhibiční koncentrace byly definovány jako 80 % inhibice růstu kontroly a byly stanoveny dvakrát a duplicitně. Odchyly od tabelovaných hodnot MIC nebyly vyšší než jedno ředění použité při testování.

5.3. Příprava výchozích substrátů

5.3.1. 1-Fenyl-1*H*-tetrazol⁴⁶ (**1**)

Schéma přípravy:



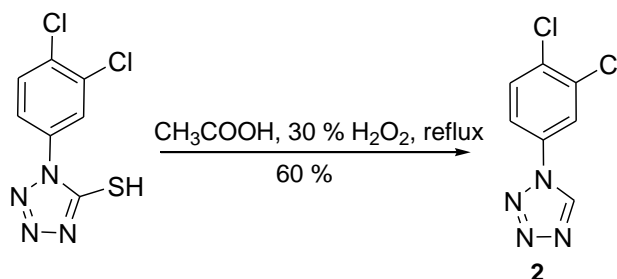
Postup přípravy:

Směs výchozího thiolu (1.000 g, 5.61 mmol), ledové kyseliny octové (5 ml) a 30 % H_2O_2 (15 ml). Reakční směs byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 6 hodin a průběžně monitorována pomocí TLC. Po ochlazení směsi došlo k vykrytalizování produktu. Pro odstranění zbytků kyseliny octové byly krystaly následně promyty vodou a vysušeny.

Výtěžek: 56 %. Bezbarvá krystalická látka, t.t. 66 °C; **¹H NMR:** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10.09 (1H, s, H5), 7.93-7.88 (2H, m, H3', H5'), 7.69-7.52 (3H, m, H2', H4', H6'); **¹³C NMR:** (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 142.4, 133.9, 130.2, 129.9, 121.3; **IR:** (ATR) ν_{max} 1092, 1163, 1192, 1206, 1392, 1464, 1499, 1508, 1596, 2914, 3119 cm^{-1} ; **LRMS:** m/z (relativní intenzita) 147.1 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (8), 130.9 (1), 119.1 (100), 106.9 (1), 104.1 (5), 92.2 (5), 83.1 (2), 77.0 (1), 55.7 (11).

5.3.2. 1-(3,4-Dichlorfenyl)-1*H*-tetrazol (2)

Schéma přípravy:



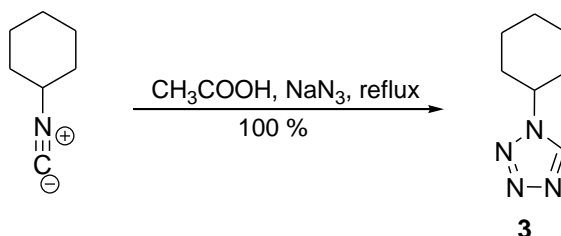
Postup přípravy:

K výchozímu thiolu (1.000g, 4.04 mmol) byla přidán ledová kyselina octová (5 ml) a 30 % H_2O_2 (15 ml). Reakční směs byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 6 hodin a průběžně monitorována pomocí TLC. Po ochlazení směsi došlo k vykrytalizování produktu. Pro odstranění zbytků kyseliny octové byly krystaly následně promyty vodou a vysušeny.

Výtěžek: 60 %. Bezbarvá krystalická látka, t.t. 148-149 °C; **$^1\text{H NMR}$** : (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10.12 (1H, s, H5), 8.30 (1H, dd, $J_1 = 1.9$ Hz, $J_2 = 0.8$ Hz, H2'), 7.92-7.95 (2H, m, H5', H6'); **$^{13}\text{C NMR}$** : (75 MHz, CDCl_3) δ 142.7, 133.5, 132.6, 132.3, 132.2, 123.3, 121.5; **IR**: (ATR) ν_{max} 1033, 1088, 1137, 1192, 1212, 1248, 1368, 1431, 1456, 1489, 1578, 2904, 3124 cm^{-1} ; **LRMS**: m/z (relativní intenzita) 215.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (5), 187.1 (100), 171.9 (1), 152.1 (15), 124.9 (1), 109.0 (1).

5.3.3. 1-Cyklohexyl-1*H*-tetrazol⁴⁷ (3)

Schéma přípravy:



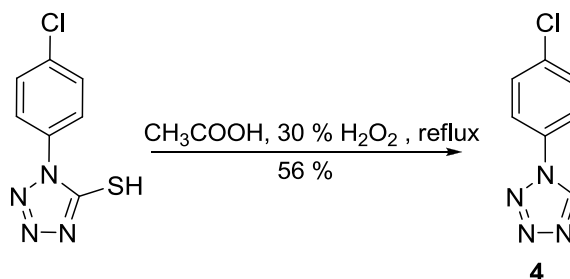
Postup přípravy:

Směs cyklohexylisocyanidu (2.00 ml, 16.09 mmol), azidu sodného (1.151g, 17.70 mmol) a ledové kyseliny octové (1.01 ml, 17.70 mmol) v butanolu (30 ml) byla míchána při 100 °C po dobu 3 hodin. Reakční směs byla ochlazena. Následně byl pomalu přilít 10 % NaOH (20 ml) a směs byla míchána 5 minut při laboratorní teplotě. Výsledná směs byla vytřepána do ethylacetátu (2x50 ml). Organická vrstva byla vysušena (bezvodý Na₂SO₄) a rozpouštědlo odpařeno.

Výtěžek: 100 %. Nažloutlá látka, t.t. 47 °C; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 8.59 (1H, s, H5), 4.58-4.43 (1H, m, H1'), 2.33-1.22 (10H, m, H2'-H6'); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 140.5, 58.8, 33.1, 24.8, 24.8; **IR:** (ATR) ν_{max} 1098, 1138, 1165, 1268, 1365, 1427, 1443, 1466, 1560, 2854, 2924, 3125 cm⁻¹; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 153.1 [M+H]⁺ (100), 140.1 (3), 102.7 (2), 82.9 (1), 71.1 (17), 55.0 (2).

5.3.4. 1-(4-Chlorfenyl)-1*H*-tetrazol⁴⁶ (**4**)

Schéma přípravy:



Postup přípravy:

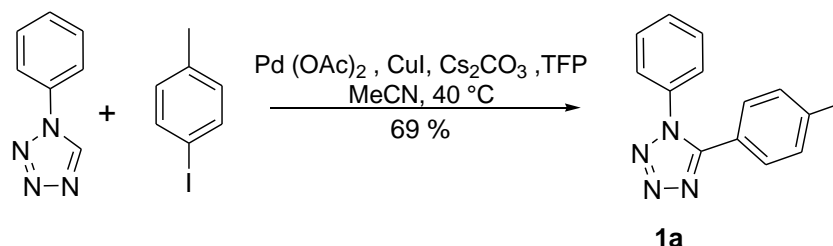
K výchozímu thiolu (1.000 g, 4.04 mmol) byla přidána ledová kyselina octová (5 ml) a 30 % H₂O₂ (15 ml). Reakční směs byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 6 hodin a průběžně monitorována pomocí TLC. Po ochlazení směsi došlo k vykrytalizování produktu. Pro odstranění zbytků kyseliny octové byly krystaly následně promyty vodou a vysušeny.

Výtěžek: 56 %. Bezbarvá krystalická látka, t.t. 158-160 °C; ¹H NMR: (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.11 (1H, s, H5), 7.98-7.93 (2H, m, H3', H5'), 7.71-7.77 (2H, m, H2', H6'); ¹³C NMR: (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 142.6, 134.2, 132.8, 130.3, 123.1; IR: (ATR) ν_{max} 787, 864, 1011, 1055, 1258, 1412, 2962 cm⁻¹; LRMS: *m/z* (relativní intenzita) 181.1 [M+H]⁺ (100), 173.2 (3), 162.3 (2), 153.2 (5), 129.3 (4), 118.0 (1), 72.1 (3).

5.4. Syntéza knihovny 1,5-disubstituovaných tetrazolů

5.4.1. 1-Fenyl-5-(4-methylfenyl)-1*H*-tetrazol⁴⁸ (**1a**)

Schéma přípravy:



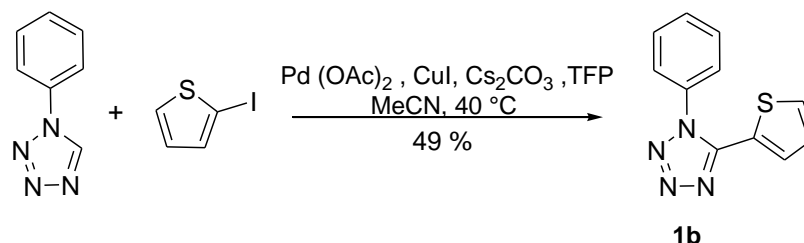
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (146.1 mg, 1.00 mmol), 4-jodtoluenu (218.0 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C. Reakce probíhala 3 hodiny. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 9:1).

Výtěžek: 69 %. Bezbarvá krystalická látka, t.t. 136-137 °C; ¹H NMR: (300 MHz, CDCl₃) δ 7.58-7.48 (3H, m, H2', H4', H6'), 7.48-7.36 (4H, m, H3', H5', H2'', H6''), 7.22-7.16 (2H, m, H3'', H5''), 2.36 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR: (75 MHz, CDCl₃) δ 154.1, 142.2, 135.1, 130.7, 130.2, 130.1, 129.2, 125.7, 121.1, 21.9; IR: (ATR) ν_{max} 1073, 1104, 1182, 1278, 1294, 1450, 1471, 1497, 1592, 1614, 2859, 2922, 2957, 3060 cm⁻¹; LRMS: *m/z* (relativní intenzita) 237.1 [M+H]⁺ (100), 209.3 (11), 194.2 (5), 182.2 (1), 175.1 (1), 153.2 (1); CHN: Vypočteno pro C₁₄H₁₂N₄: C, 71.17; H, 5.12; N, 23.71. Zjištěno: C, 71.18; H, 5.01; N, 23.64.

5.4.2. 1-Fenyl-5-(thiofen-2-yl)-1*H*-tetrazol (**1b**)

Schéma přípravy:



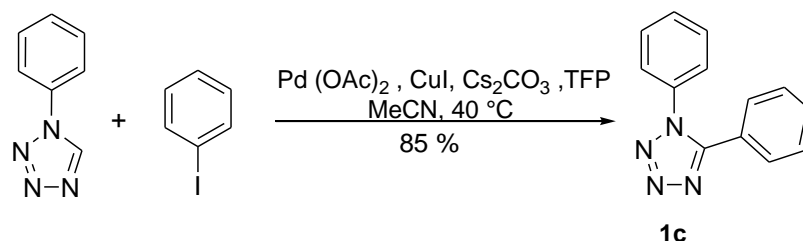
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (146.1 mg, 1.00 mmol), 2-jodthiofenu (0.11 ml, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C. Reakce probíhala 6 hodin. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 9:1).

Výtěžek: 49 %. Nažloutlá krystalická látka, t.t. 87-88 °C; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.67-7.56 (3H, m, H2', H4', H6'), 7.52-7.44 (3H, m, H3', H5', H3''), 7.26-7.22 (1H, m, H5''), 7.06-7.01 (1H, m, H4''); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 149.8, 134.0, 131.2, 130.6, 130.5, 130.0, 128.0, 126.4, 124.2; **IR:** (ATR) ν_{max} 1047, 1100, 1126, 1217, 1271, 1407, 1424, 1456, 1481, 1499, 1556, 2851, 2921, 2953, 3105 cm⁻¹; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 229.1 [M+H]⁺ (100), 201.2 (3), 186.2 (3), 174.3 (2), 149.1 (2); **CHN:** Vypočteno pro C₁₁H₈N₄S: C, 57.88; H, 3.53; N, 24.54; S, 14.05. Zjištěno: C, 57.89; H, 3.51; N, 24.62; S, 14.12.

5.4.3. 1,5-Difenyl-1*H*-tetrazol⁴⁹ (**1c**)

Schéma přípravy:



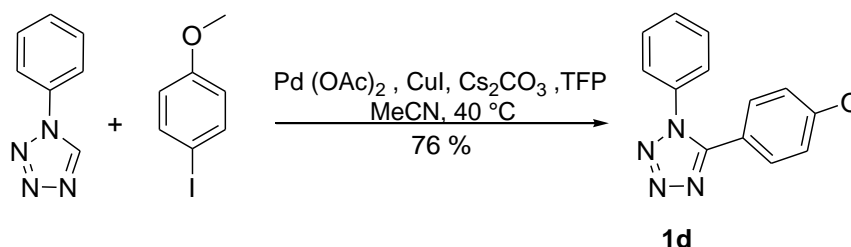
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (146.1 mg, 1.00 mmol), jodbenzenu (204.0 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C. Reakce probíhala 5 hodin. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 8:2).

Výtěžek: 85 %. Bezbarvá krystalická látka, t.t. 144-145 °C; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.51-7.39 (6H, m, H2', H4', H6', H2'', H4'', H6''), 7.36-7.29 (4H, m, H3', H5', H3'', H5''); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 153.4, 134.2, 131.1, 130.2, 129.7, 128.8, 128.6, 125.0, 123.3; **IR:** (ATR) ν_{max} 1000, 1071, 1143, 1268, 1278, 1411, 1449, 1468, 1497, 1594, 2852, 2922, 3067 cm⁻¹; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 223.2 [M+H]⁺ (100), 217.1 (5), 195.2 (22), 180.1 (4), 173.2 (2), 119.1 (2); **CHN:** Vypočteno pro C₁₃H₁₀N₄: C, 70.26; H, 4.54; N, 25.21. Zjištěno: C, 70.05; H, 4.43; N, 24.99.

5.4.4. 5-(4-Methoxyfenyl)-1-fenyl-1H-tetrazol⁵⁰ (**1d**)

Schéma přípravy:



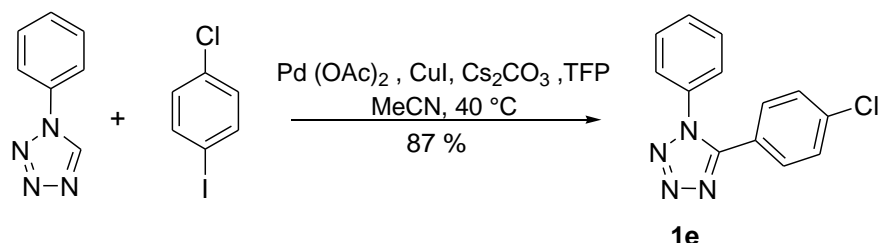
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (146.1 mg, 1.00 mmol), 4-methoxyjodbenzenu (234.0 mg, 1.0 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C. Reakce probíhala 4 hodiny. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 8:2).

Výtěžek: 76 %. Bílá krystalická látka, t.t. 106-108 °C; ¹H NMR: (300 MHz, CDCl₃) δ 7.53-7.40 (5H, m, H2', H4', H6', H2'', H6''), 7.39-7.36 (2H, m, H3', H5'), 6.88-6.84 (2H, m, H3'', H5''), 3.78 (3H, s, OCH₃); ¹³C NMR: (75 MHz, CDCl₃) δ 161.6, 153.2, 134.5, 130.3, 130.2, 129.7, 125.2, 115.3, 114.3, 55.2; IR: (ATR) ν_{max} 1018, 1075, 1102, 1184, 1257, 1307, 1400, 1440, 1453, 1468, 1474, 1578, 1610, 2841, 2923, 2968, 3027 cm⁻¹; LRMS: m/z (relativní intenzita) 253.1 [M+H]⁺ (100), 233.0 (4), 225.1 (18), 210.2 (9), 183.3 (3), 157.3 (2), 122.2 (2); CHN: Vypočteno pro C₁₄H₁₂N₄O: C, 66.65; H, 4.79; N, 22.21. Zjištěno: C, 66.89; H, 4.94; N, 22.02.

5.4.5. 5-(4-Chlorfenyl)-1-fenyl-1*H*-tetrazol⁵¹ (**1e**)

Schéma přípravy:



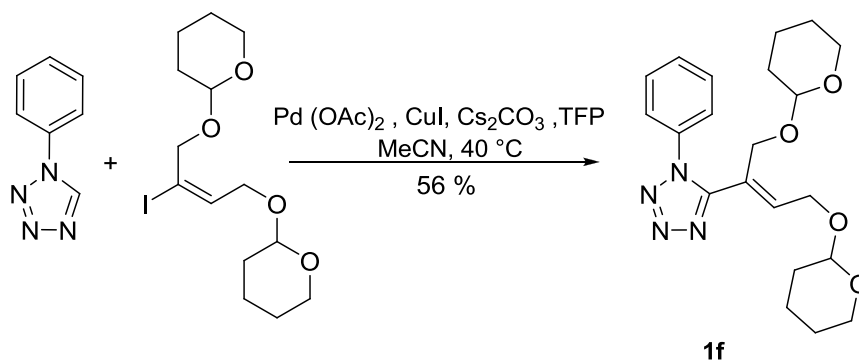
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (146.1 mg, 1.00 mmol), 1-chlor-4-jodbenzenu (238.5 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C a směs míchána pod refluxem. Reakce probíhala 5 hodin. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 7:3).

Výtěžek: 87 %. Bezbarvá krystalická látka, t.t. 157-158 °C; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.50-7.39 (5H, m, H2', H4', H6', H2'', H6''), 7.34-7.25 (4H, m, H3', H5', H3'', H5''); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 152.5, 137.4, 134.0, 130.4, 130.0, 129.8, 129.1, 125.1, 121.8; **IR:** (ATR) ν_{\max} 997, 1093, 1104, 1134, 1263, 1297, 1431, 1449, 1463, 1495, 1591, 1602, 2852, 2922, 2955, 3068 cm⁻¹; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 257.1 [M+H]⁺ (100), 249.0 (6), 229.4 (8), 216.1 (5), 195.3 (5), 161.2 (2), 119.1 (5); **CHN:** Vypočteno pro C₁₃H₉ClN₄: C, 60.83; H, 3.53; N, 21.83. Zjištěno: C, 60.98; H, 3.62; N, 22.00

5.4.6. (Z)-5-[1,4-Bis(tetrahydropyran-2-yloxy)but-2-en-2-yl]-1-fenyl-1H-tetrazol (**1f**)

Schéma přípravy:



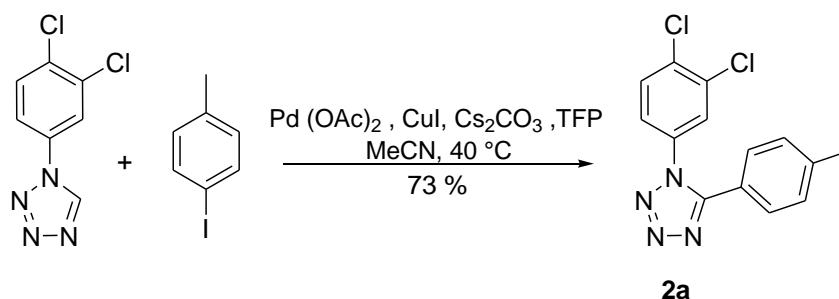
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (146.1 mg, 1.00 mmol), (*E*)-1,4-bis(tetrahydropyran-2-yloxy)-2-jodbut-2-enu (420.5 mg, 1.10 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C a směs míchána pod refluxem. Reakce probíhala 4 hodiny. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 9:1).

Výtěžek: 56 %. Žlutá olejovitá kapalina, směs diastereomerů; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.49-7.43 (5H, m, H₂'-H₆'), 6.14-6.05 (1H, m, =CH), 4.54-4.18 (6H, m, 2xOCH, 2xOCH₂C=), 3.72-3.62 (1H, m, OCH₂), 3.58-3.45 (1H, m, OCH₂), 3.40-3.26 (2H, m, OCH₂), 1.73-1.22 (12H, m, 6xCH₂); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 153.4, 138.7, 138.7, 134.3, 129.9, 129.4, 124.7, 124.0, 124.0, 98.1, 97.9, 97.8, 97.7, 62.8, 62.7, 62.4, 62.4, 61.9, 61.7, 30.1, 29.9, 25.0, 24.9, 18.9, 18.7, 18.7; **IR:** (ATR) ν_{max} 1021, 1059, 1075, 1117, 1200, 1261, 1352, 1388, 1419, 1440, 1453, 1492, 1596, 2851, 2866, 2939 cm⁻¹; **LRMS:** m/z (relativní intenzita) 423.3 [M+Na]⁺ (100), 395.2 (5), 317.3 (16), 292.0 (2), 269.9 (1), 233.2 (13), 190.2 (3), 159.1 (2).

5.4.7. 1-(3,4-Dichlorfenyl)-5-(4-methylfenyl)-1*H*-tetrazol (2a)

Schéma přípravy:



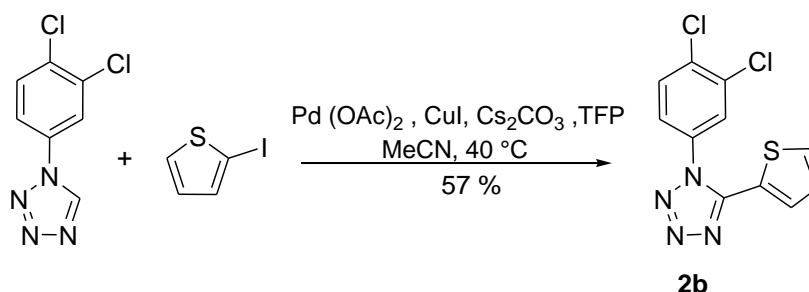
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (215.0 mg, 1.00 mmol), 4-jodtoluenu (218.0 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C. Reakce probíhala 2 hodiny. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 9:1).

Výtěžek: 73 %. Bílá krystalická látka, t.t. 146-148 °C; ¹H NMR: (300 MHz, CDCl₃) δ 7.60 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H2'), 7.58 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H5'), 7.46-7.40 (2H, m, H2'', H6''), 7.26-7.23 (2H, m, H3'', H5''), 7.22 (1H, dd, *J*₁ = 8.5 Hz, *J*₂ = 2.5 Hz, H6', overlapped), 2.40 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR: (75 MHz, CDCl₃) δ 153.7, 142.3, 134.9, 134.1, 133.6, 131.5, 129.9, 128.8, 127.1, 124.3, 120.0, 21.5; IR: (ATR) ν_{max} 1006, 1035, 1099, 1122, 1182, 1242, 1282, 1380, 1465, 1485, 1571, 1590, 1610, 3094 cm⁻¹; LRMS: *m/z* (relativní intenzita) 305.1 [M+H]⁺ (100), 277.2 (22), 262.1 (15), 242.1 (14), 233.3 (16), 177.8 (4), 157.0 (4); CHN: Vypočteno pro C₁₄H₁₀Cl₂N₄: C, 55.10; H, 3.30; N, 18.36. Zjištěno: C, 55.16; H, 3.21; N, 18.24.

5.4.8. 1-(3,4-Dichlorfenyl)-5-(thiofen-2-yl)-1*H*-tetrazol (**2b**)

Schéma přípravy:



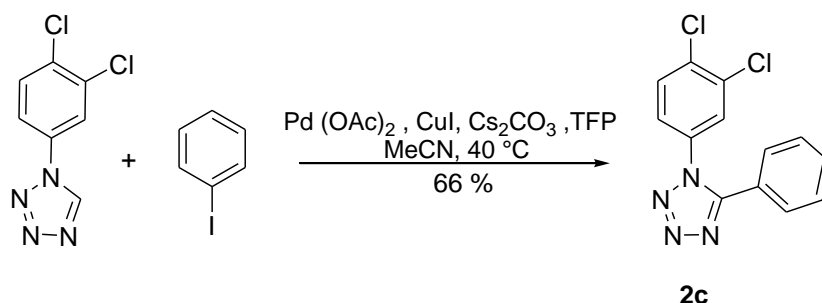
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (215.0 mg, 1.00 mmol), 2-jodthiofenu (0.11 ml, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C. Reakce probíhala 5 hodin. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 9:1).

Výtěžek: 57 %. Nahnědlá krystalická látka, t.t. 113-114 °C; ¹H NMR: (300 MHz, CDCl₃) δ 7.69 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H5'), 7.65 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H2'), 7.57 (1H, dd, *J*₁ = 5.2 Hz, *J*₂ = 1.1 Hz, H3''), 7.36 (1H, dd, *J*₁ = 8.8 Hz, *J*₂ = 2.5 Hz, H6'), 7.34 (1H, dd, *J*₁ = 3.4 Hz, *J*₂ = 1.1 Hz, H5''), 7.10 (1H, dd, *J*₁ = 5.2 Hz, *J*₂ = 3.4 Hz, H4''); ¹³C NMR: (75 MHz, CDCl₃) δ 149.7, 136.0, 134.3, 133.0, 131.7, 131.1, 130.9, 128.3, 128.2, 125.4, 123.5; IR: (ATR) ν_{max} 962, 1033, 1103, 1122, 1226, 1267, 1382, 1406, 1419, 1464, 1481, 1558, 1569, 1575, 2851, 2921, 3069, 3089, 3107 cm⁻¹; LRMS: *m/z* (relativní intenzita) 297.0 [M+H]⁺ (100), 269.5 (33), 254.3 (66), 234.3 (86), 205.2 (12), 169.3 (7), 150.1 (11); CHN: Vypočteno pro C₁₁H₆Cl₂N₄S: C, 44.46; H, 2.04; N, 18.85; S, 10.79. Zjištěno: C, 44.26; H, 2.00; N, 18.81; S, 10.62.

5.4.9. 1-(3,4-Dichlorfenyl)-5-fenyl-1*H*-tetrazol⁵² (**2c**)

Schéma přípravy:



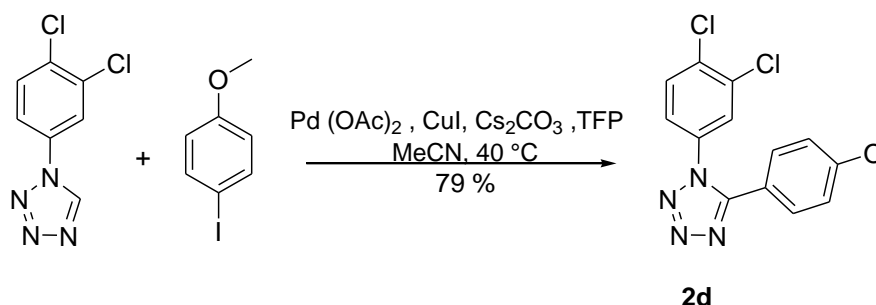
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (215.0 mg, 1.00 mmol), jodbenzenu (204.0 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris-2-furylfosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C. Reakce probíhala 4 hodiny. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 8:2).

Výtěžek: 66 %. Bezbarvá krystalická látka, t.t. 122-124 °C; ¹H NMR: (300 MHz, CDCl₃) δ 7.59-7.39 (7H, m, H2', H5', H2''-H6''), 7.21 (1H, dd, *J*₁ = 8.5 Hz, *J*₂ = 2.5 Hz, H6'); ¹³C NMR: (75 MHz, CDCl₃) δ 153.5, 134.9, 134.0, 133.4, 131.6, 131.4, 129.1, 128.8, 126.9, 124.2, 122.8; IR: (ATR) ν_{max} 1010, 1036, 1125, 1244, 1284, 1386, 1408, 1468, 1479, 2852, 2923, 3076, 3091 cm⁻¹; LRMS: *m/z* (relativní intenzita) 291.1 [M+H]⁺ (100), 263.1 (47), 250.2 (25), 228.3 (16), 214.2 (6), 160.1 (7); CHN: Vypočteno pro C₁₃H₈Cl₂N₄: C, 53.63; H, 2.77; N, 19.24. Zjištěno: C, 53.65; H, 2.92; N, 19.29.

5.4.10. 1-(3,4-Dichlorfenyl)-5-(4-methoxyfenyl)-1*H*-tetrazol (2d)

Schéma přípravy:



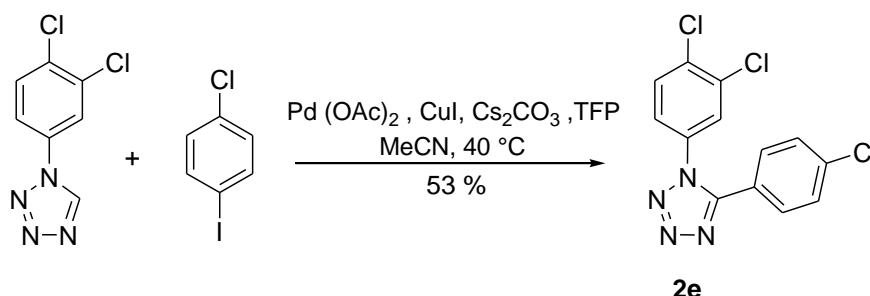
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (215.0 mg, 1.00 mmol), 4-methoxyjodbenzenu (234.0 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C. Reakce probíhala 4 hodiny. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 8:2).

Výtěžek: 79 %. Nažloutlá krystalická látka, t.t. 121-122 °C; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.60-7.55 (2H, m, H2', H5'), 7.49-7.44 (2H, m, H2'', H6''), 7.23 (1H, dd, *J*₁ = 8.5 Hz, *J*₂ = 2.5 Hz, H6'), 6.95-6.90 (2H, m, H3'', H5''), 3.74 (3H, s, OCH₃); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 162.4, 153.7, 135.2, 134.4, 134.0, 131.8, 130.8, 127.4, 124.6, 115.1, 115.0, 55.7; **IR:** (ATR) ν_{max} 1017, 1032, 1099, 1127, 1179, 1253, 1308, 1442, 1461, 1469, 1480, 1578, 1608, 2851, 2923, 2956, 3076, 3096 cm⁻¹; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 321.0 [M+H]⁺ (100), 293.2 (51), 278.3 (53), 258.3 (71), 232.7 (9), 190.3 (3), 164.9 (3), 147.3 (2), 132.1 (8); Vypočteno pro C₁₄H₁₀Cl₂N₄O: C, 52.36; H, 3.14; N, 17.45. Zjištěno: C, 52.09; H, 3.01; N, 17.24.

5.4.11. 5-(4-Chlorfenyl)-1-(3,4-dichlorfenyl)-1*H*-tetrazol (2e)

Schéma přípravy:



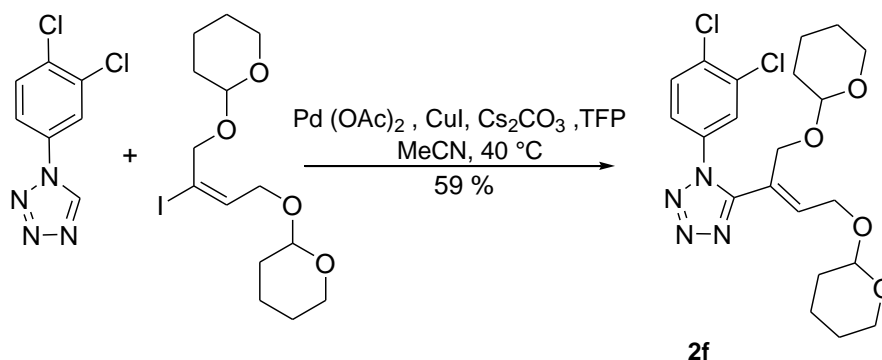
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (215.0 mg, 1.00 mmol), 1-chlor-4-jodbenzenu (238.5 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C. Reakce probíhala 4 hodiny. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 7:3).

Výtěžek: 53 %. Nažloutlá krystalická látka, t.t. 162-164 °C; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.63-7.58 (2H, m, H2', H5'), 7.53-7.48 (2H, m, H2'', H6''), 7.46-7.41 (2H, m, H3'', H5''), 7.21 (1H, dd, *J*₁ = 8.8 Hz, *J*₂ = 2.5 Hz, H6'); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 152.7, 138.2, 135.3, 134.4, 133.3, 131.7, 130.1, 129.7, 127.1, 124.2, 121.4; **IR:** (ATR) *v*_{max} 1007, 1035, 1095, 1125, 1145, 1244, 1264, 1393, 1433, 1458, 1474, 1481, 1572, 1601, 2852, 2922, 2954, 3097 cm⁻¹; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 325.0 [M+H]⁺ (100), 297.1 (57), 282.3 (67), 262.2 (66), 237.4 (31), 227.1 (25), 206.3 (13), 156.5 (12); **CHN:** Vypočteno pro C₁₃H₇Cl₃N₄: C, 47.96; H, 2.17; N, 17.21. Zjištěno: C, 47.75; H, 2.11; N, 17.02.

5.4.12. (Z)-5-[1,4-Bis(tetrahydropyran-2-yloxy)but-2-en-2-yl]-1-(3,4-dichlorfenyl)-1H-tetrazol (2f)

Schéma přípravy:



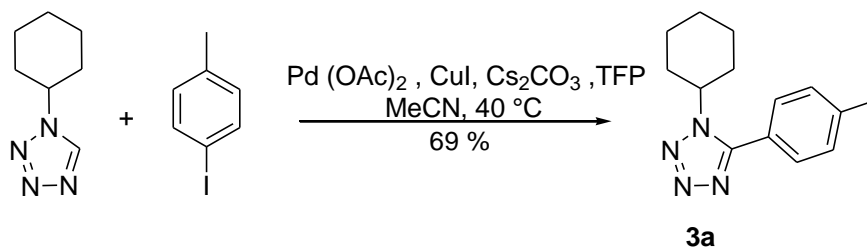
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (215.0 mg, 1.00 mmol), (*E*)-1,4-bis(tetrahydropyran-2-yloxy)-2-jodbut-2-enu (420.5 mg, 1.10 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při teplotě 40 °C. Reakce probíhala 4 hodiny. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 9:1).

Výtěžek: 59 %. Žlutá olejovitá kapalina, směs diastereomerů; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.78-7.71 (1H, m, H2'), 7.60 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H5'), 7.50-7.42 (1H, m, H6'), 6.12-6.02 (1H, m, =CH), 4.60-4.21 (6H, m, 2xOCH, 2xOCH₂C=), 3.75-3.65 (1H, m, OCH₂), 3.62-3.53 (1H, m, OCH₂), 3.48-3.37 (2H, m, OCH₂), 1.79-1.28 (12H, m, 6xCH₂); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 153.6, 139.2, 139.2, 134.6, 133.7, 133.4, 131.2, 126.8, 124.0, 123.9, 123.9, 98.7, 98.5, 98.2, 98.2, 63.3, 63.3, 62.6, 62.6, 62.1, 62.1, 30.3, 30.1, 25.2, 25.0, 19.0; **IR:** (ATR) ν_{\max} 960, 1022, 1059, 1076, 1118, 1201, 1262, 1352, 1387, 1440, 1474, 1575, 1595, 2851, 2940, 3067 cm⁻¹; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 491.2 [M+Na]⁺ (100), 423.1 (2), 403.7 (5), 384.8 (6), 301.0 (20), 283.1 (8), 254.9 (5), 229.1 (1).

5.4.13. 1-Cyklohexyl-5-(4-methylfenyl)-1*H*-tetrazol (**3a**)

Schéma přípravy:



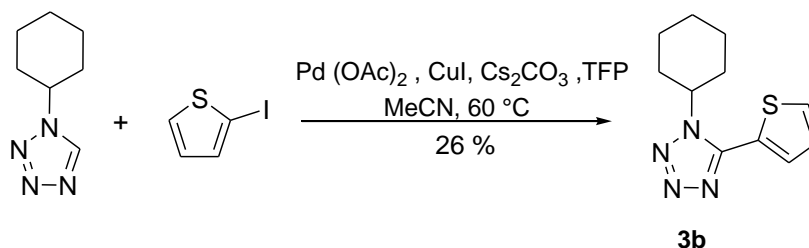
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (152.2 mg, 1.00 mmol), 4-jodtoluenu (218.0 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol) a jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol) a uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 40 °C. Reakce probíhala 4 hodiny. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 9:1).

Výtěžek: 69 %. Nahnědlá krystalická látka, t.t. 129-131 °C; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.51-7.42 (2H, m, H2'', H6''), 7.29-7.21 (2H, m, H3'', H5''), 4.38-4.25 (1H, m, NCH), 2.44 (3H, s, CH₃), 2.18-1.85 (6H, m, CH₂), 1.78-1.70 (1H, m, CH₂), 1.40-1.26 (3H, m, CH₂); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 153.7, 141.4, 129.9, 128.7, 121.4, 58.1, 33.2, 25.3, 24.8, 21.5; **IR:** (ATR) ν_{\max} 1004, 1028, 1095, 1159, 1180, 1260, 1332, 1391, 1409, 1442, 1455, 1477, 1616, 2858, 2923, 2945 cm⁻¹; **LRMS:** m/z (relativní intenzita) 243.1 [M+H]⁺ (100), 218.2 (2), 161.1 (18), 133.1 (1), 118.1 (2); **CHN:** Vypočteno pro C₁₄H₁₈N₄: C, 69.39; H, 7.49; N, 23.12. Zjištěno: C, 69.31; H, 7.41; N, 23.23.

5.4.14. 1-Cyklohexyl-5-(thiofen-2-yl)-1*H*-tetrazol (**3b**)

Schéma přípravy:



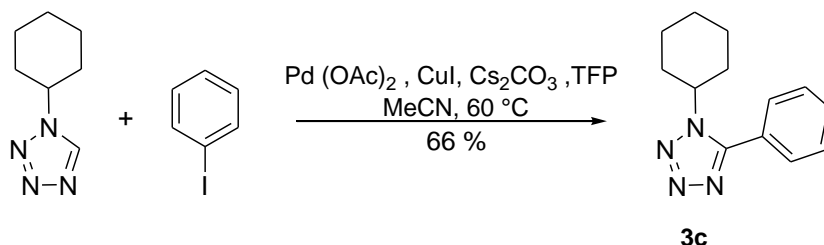
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (152.2 mg, 1.00 mmol), 2-jodthiofenu (0.11 ml, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 60 °C. Reakce probíhala 5 hodin. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 9:1).

Výtěžek: 26 %. žlutá pevná látka; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.64-7.58 (2H, m, H3'', H5''), 7.27-7.21 (1H, m, H4''), 4.57-4.46 (1H, m, NCH), 2.18-1.88 (6H, m, CH₂), 1.80-1.71 (1H, m, CH₂), 1.48-1.23 (3H, m, CH₂); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 148.8, 130.0, 129.9, 128.3, 124.4, 58.6, 32.9, 25.3, 24.8; **IR:** (ATR) ν_{\max} 1047, 1086, 1153, 1186, 1226, 1243, 1346, 1410, 1448, 1558, 2214, 2851, 2926, 3101 cm⁻¹; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 235.2 [M+H]⁺ (100), 225.3 (85), 196.1 (18), 180.4 (16), 167.5 (17), 153.1 (49), 143.1 (9), 127.1 (20).

5.4.15. 1-Cyklohexyl-5-fenyl-1*H*-tetrazol⁵³ (**3c**)

Schéma přípravy:



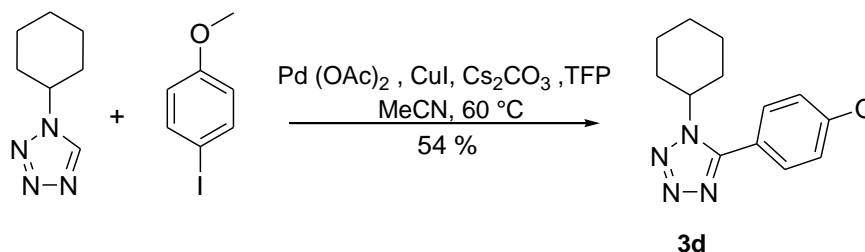
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (152.2 mg, 1.00 mmol), jodbenzenu (204.0 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 60 °C. Reakce probíhala 5 hodin. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 8:2).

Výtěžek: 66 %. Bílá krystalická látka, t.t. 131-133 °C; ¹H NMR: (300 MHz, CDCl₃) δ 7.62-7.54 (5H, m, H2''-H6''), 4.39-4.25 (1H, m, NCH), 2.20-1.90 (6H, m, CH₂), 1.77-1.72 (1H, m, CH₂), 1.41-1.29 (3H, m, CH₂); ¹³C NMR: (75 MHz, CDCl₃) δ 153.6, 131.1, 129.3, 128.9, 124.5, 58.2, 33.2, 25.3, 24.8; IR: (ATR) ν_{max} 1007, 1078, 1100, 1162, 1244, 1278, 1335, 1378, 1394, 1454, 1468, 1532, 2861, 2946 cm⁻¹; LRMS: *m/z* (relativní intenzita) 229.1 [M+H]⁺ (100), 218.9 (2), 195.1 (3), 165.3 (2), 147.1 (19); CHN: Vypočteno pro C₁₃H₁₆N₄: C, 68.39; H, 7.06; N, 24.54. Zjištěno: C, 68.58; H, 7.27; N, 24.42.

5.4.16. 1-Cyklohexyl-5-(4-methoxyfenyl)-1*H*-tetrazol (**3d**)

Schéma přípravy:



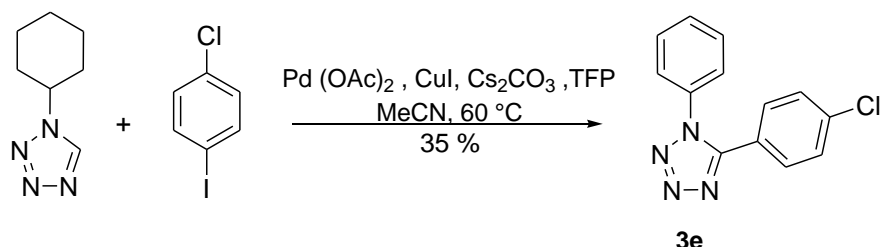
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (152.2 mg, 1.00 mmol), 4-methoxyjodbenzenu (234.0 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 60 °C. Reakce probíhala 5 hodin. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 8:2).

Výtěžek: 54 %. Nahnědlá krystalická látka, t.t. 109-111 °C; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.57-7.52 (2H, m, H^{2''}, H^{6''}), 7.08-7.03 (2H, m, H^{3''}, H^{5''}), 4.38-4.25 (1H, m, NCH), 3.88 (3H, s, OCH₃), 2.19-1.89 (6H, m, CH₂), 1.79-1.70 (1H, m, CH₂), 1.43-1.25 (3H, m, CH₂); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 161.7, 153.5, 130.3, 116.4, 114.7, 58.1, 55.5, 33.2, 25.3, 24.8; **IR:** (ATR) ν_{max} 1001, 1026, 1041, 1099, 1176, 1260, 1299, 1381, 1438, 1458, 1478, 1578, 1612, 2360, 2856, 2937, 3009 cm⁻¹; **LRMS:** m/z (relativní intenzita) 259.1 [M+H]⁺ (100), 248.3 (23), 225.3 (21), 209.4 (2), 177.1 (45), 167.1 (3), 147.2 (4), 134.2 (6); **CHN:** Vypočteno pro C₁₄H₁₈N₄O: C, 65.09; H, 7.02; N, 21.69. Zjištěno: C, 65.00; H, 6.81; N, 21.45.

5.4.17. 5-(4-Chlorfenyl)-1-cyklohexyl-1H-tetrazol (**3e**)

Schéma přípravy:



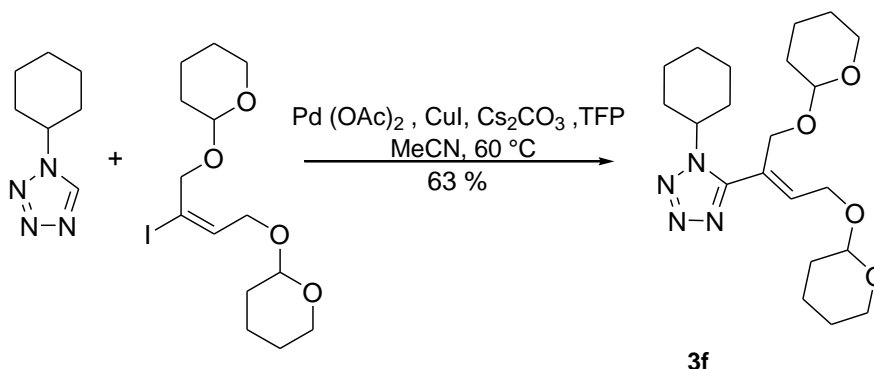
Postup přípravy:

Směs tetrazolu (152.2 mg, 1.00 mmol), 1-chlor-4-jodbenzenu (238.5 mg, 1.00 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol) a jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 60 °C. Reakce probíhala 5 hodin. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 9:1).

Výtěžek: 35 %. Nažloutlá krystalická látka, t.t. 145-147 °C; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.58-7.46 (4H, m, H2'', H3'', H5'', H6''), 4.33-4.20 (1H, m, NCH), 2.14-1.84 (6H, m, CH₂), 1.77-1.68 (1H, m, CH₂), 1.41-1.22 (3H, m, CH₂); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 152.7, 137.4, 130.1, 129.6, 122.7, 58.2, 33.1, 25.1, 24.6; **IR:** (ATR) ν_{max} 1004, 1089, 1095, 1118, 1160, 1243, 1275, 1328, 1348, 1374, 1421, 1446, 1462, 1603, 2859, 2933, 3082 cm⁻¹; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 263.1 [M+H]⁺ (100), 252.3 (84), 243.3 (7), 231.9 (5), 224.3 (8), 180.9 (34), 169.7 (9), 161.3 (7), 153.1 (4); **CHN:** Vypočteno pro C₁₃H₁₅ClN₄: C, 59.43; H, 5.75; N, 21.32. Zjištěno: C, 59.40; H, 5.71; N, 21.08.

5.4.18. (Z)-5-[1,4-Bis(tetrahydropyran-2-yloxy)but-2-en-2-yl]-1-cyklohexyl-1H-tetrazol (3f)

Schéma přípravy:



Postup přípravy:

Směs tetrazolu (152.2 mg, 1.00 mmol), 1,4-bis(tetrahydropyran-2-yloxy)-2-jodbut-2-enu (420.5 mg, 1.10 mmol), octanu palladnatého (11.0 mg, 0.05 mmol), jodidu měďného (190.4 mg, 1.00 mmol), uhličitanu cesného (325.8 mg, 1.10 mmol) a tris(2-furyl)fosfinu (23.0 mg, 0.10 mmol) v bezvodém acetonitrilu (3 ml) byla míchána v inertní atmosféře při laboratorní teplotě. Teplota byla po hodině zvýšena na 100 °C. Reakce probíhala 4 hodiny. Reakční směs byla přefiltrována přes celit a rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze PE/EtOAc 9:1).

Výtěžek: 63 %. Žlutá olejovitá kapalina, směs diastereomerů; **¹H NMR:** (300 MHz, CDCl₃) δ 6.06 (1H, t, *J* = 6.0 Hz, =CH), 4.65-4.26 (7H, m, NCH, 2xOCH, 2xOCH₂C=), 3.85-3.77 (1H, m, OCH₂), 3.72-3.63 (1H, m, OCH₂), 3.53-3.39 (2H, m, OCH₂), 2.02-1.25 (22H, m, 11xCH₂); **¹³C NMR:** (75 MHz, CDCl₃) δ 153.3, 137.6, 124.7, 98.5, 63.9, 63.0, 62.3, 62.2, 57.8, 33.0, 32.9, 30.4, 30.1, 25.2, 25.0, 24.7, 19.2, 19.1; **IR:** (ATR) ν_{\max} 1022, 1061, 1076, 1117, 1201, 1262, 1351, 1405, 1452, 1502, 2857, 2935 cm⁻¹; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 429.3 [M+Na]⁺ (100), 407.1 [M+H]⁺ (6), 384.3 (3), 323.2 (26), 269.2 (2), 239.2 (15), 139.0 (6).

6. LITERATURA

- 1 Dhaybaran, V.V.; Ludia, I.S.; Merlin, J.P.; Srirenganayaki, P. *Ionics*, **2004**, *10*, 123.
- 2 Moskvina, L.N.; Bulatov, A.V.; Grigorjev, G.L.; Koldobskij, G.I. *Journal of Flow Injection Anal.* **2003**, *20*, 53; *Chem. Abstr.* **2003**, *139*, 327791.
- 3 Klapötke, T.M.; Mayer, P.; Schultz, A.; Weigand, J.J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2032.
- 4 Ogihara, W.; Yashizawa, M.; Ohno, H. *Chem. Lett.* **2004**, *33*, 1022; *Chem. Abstr.* **2004**, *141*, 314260.
- 5 (a) Hatzinger, P.B.; Palmer, P.; Smith, R.U.; Penarrieta, C.T.; Yoshinari, T. *J. Microbiol. Meth.* **2003**, *52*, 47 (b) Gruden, C.L.; Fevig, S.; Abu-Dalo, M.; Hernandez, M. *J. Microbiol. Meth.* **2003**, *52*, 59.
- 6 Luo, G.; Chen, L.; Degnan, A.P.; Dubowchik, G.M.; Macor, J.E.; Tora, G.O.; Chaturvedula, P.V. PCT Int. Appl. WO 2004-US40721, **2005**; *Chem. Abstr.* **2005**, *143*, 78091.
- 7 Seki, M.; Tarao, Y.; Yamada, K.; Nakao, A.; Usui, Y.; Komatsu, Y. PCT Int. Appl. WO 2005-JP2974, **2005**; *Chem. Abstr.* **2005**, *143*, 266938.
- 8 Nonoshita, K.; Ogino, Y.; Ishikawa, M.; Sakai, F.; Nakashima, H.; Nagae, Y.; Tsukahara, D.; Arakawa, K.; Nishimura, T.; Eiki, J. PCT Int. Appl. WO 2004-JP19843, **2005**; *Chem. Abstr.* **2005**, *143*, 153371.
- 9 Miao, Z.; Sun, Y.; Nakajima, S.; Tang, D.; Wu, F.; Xu, G.; Or, Y. S.; Wang, Z. U.S. Pat. Appl. Publ. US 2005153877, **2005**; *Chem. Abstr.* **2005**, *143*, 153709.
- 10 Stierstorfer, J.; Tarantik, K.R.; Klapötke, T.M. *Chemistry-A European Journal* **2009**, *15*, 5775.
- 11 (a) Zabrocki, J.; Dunbar, J.B., Jr.; Marshall, K.W.; Toth, M.V.; Marshall, G.R. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 202. (b) LeTiran, A.; Stables, J.P.; Kohn, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2693.
- 12 (a) Xiao, J.; Zhang, X.; Wang, D.; Yuan, C. *J. Fluorine Chem.* **1999**, *99*, 83 (b) Hegarty, A.F.; Tynan, N.M.; Fergus, S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **2002**, *7*, 1328.
- 13 Lehnhoff, S.; Ugi, I. *Heterocycles* **1995**, *40*, 801.

- 14 Artamanova, T.V.; Zhivich, A.R.; Dubinskii, M.Y.; Koldobskii, G.I. *Synthesis* **1996**, 1428.
- 15 (a) Tokes, A.L.; Litkei, G. *Synth. Commun.* **1993**, 23, 895. (b) El-Ahl, A.-A.S.; Elmorsy, S.S.; Soliman, H.; Amer, F.A. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 7337.
- 16 Amer, M.I.K.; Booth, B.L. *J. Chem. Res.(S)* **1993**, 4.
- 17 Butler, R.N.; O'Donoghue, D.A. *J. Chem. Res.(S)* **1983**, 18.
- 18 (a) Duncia, J.V.; Pierce, M.E.; Santella III, J.B. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2395
(b) Deady, L.W.; Devine, S.M. *J. Heterocycl. Chem.* **2004**, 41, 549.
- 19 (a) Finnegan, W.G.; Lofquist, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 3908. (b) Demko, Z.P.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2110. (c) Couty, F.; Durrat, F.; Prim, D. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 3725.
- 20 Demko, Z.P.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 2113.
- 21 Young, M.B.; Barrow, J.C.; Glass, K.L.; Lundell, G.F.; Newton, C.L.; Pellicore, J.M.; Rittle, K.E.; Selnick, H.G.; Stauffer, K.J.; Vacca, J.P.; Williams, P.D.; Bohn, D.; Lewis, S.D.; Lucas, B.J.; McMasters, D.R.; Millerstein, C.; Pietrak, B.L.; Wallace, A.A.; White, R.B.; Wong, B.; Yan, Y.; Nantermet, P.G. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 2995.
- 22 Katritzky, A.R.; Cai, C.; Meher, N.K. *Synlett* **2007**, 1204.
- 23 Koldobskii, G.I. *Russ. J. Org. Chem.* **2006**, 42, 469.
- 24 Milne, J.E.; Buchwald, S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 13028.
- 25 Walker, S. D.; Barder, T. E.; Martinelli, J. R.; Buchwald, S. L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, 43, 1871.
- 26 Yi, K. I.; Yoo, S. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 1679.
- 27 Balšánek, V.; Tichotová, L.; Kuneš, J.; Špulák, M.; Pour, M.; Votruba, I.; Buchta, V. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2009**, 74, 1161.
- 28 Liégault, B.; Lapointe, D.; Caron, L.; Vlassova, A.; Fagnou, K. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 1826.
- 29 (a) Park, C.-H.; Ryabova, V.; Seregin, I. V.; Sromek, A. W.; Gevorgyan, V. *Org. Lett.* **2004**, 6, 1159. (b) Gómez-Lor, B.; Echavarren, A. M. *Org. Lett.* **2004**, 6, 2993. (c) Lane, B. S.; Brown, M. A.; Sames, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 8050.
- 30 (a) Lafrance, M.; Rowley, C. N.; Woo, T. K.; Fagnou, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 8754. (b) Garcia-Cuadrado, D.; Braga, A. A. C.; Maseras, F.; Echavarren, A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 1066. (c) Garcia-Cuadrado, D.;

- de Mendoza, P.; Braga, A. A. C.; Maseras, F.; Echavarren, A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6880.
- 31** Glover, B.; Harvey, K. A.; Liu, B.; Sharp, M. J.; Tymoschenko, M. F. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 301.
- 32** Bellina, F.; Cauteruccio, S.; Mannina, L.; Rossi, R.; Viel, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 693.
- 33** Bellina, F.; Cauteruccio, S.; Mannina, L.; Rossi, R.; Viel, S. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3997.
- 34** Bellina, F.; Cauteruccio, S.; Rossi, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1379.
- 35** Lane, B. S.; Sames, D. *Org. Lett.*, **2004**, *6(17)*, 2897.
- 36** (a) Pivsa-Art, S.; Satoh, T.; Kawamura, Y.; Miura, M.; Nomura, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1998**, *71*, 467. (b) Bellina, F.; Cauteruccio, S.; Mannina, L.; Rossi, R.; Viel, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 693.
- 37** Čerňa, I.; Pohl, R.; Klepetářová, B.; Hocek, M. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5389.
- 38** (a) Satoh, Y.; Marcopulos, N. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1759. (b) Gupta, A. K.; Song, C. H.; Oh, C. H. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4113. (c) Su, W.; Hong, Z.; Shan, W.; Zhang, X. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2723. (d) Potewar, T. M.; Siddiqui, S. A.; Lahoti, R. J.; Srinivasan, K. V. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 1721.
- 39** (a) Kauer, J. C.; Sheppard, W. A. *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 3580. (b) Saha, B.; Sharma, S.; Sawant, D.; Kundu, B. *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 8676.
- 40** Herbst, R.M.; Wilson, K.R. *J. Org. Chem.* **1957**, *22*, 1142.
- 41** Carruthers, W.; Coldham, I. *Modern Methods of Organic Syntheses*, 4th Ed. Cambridge University Press, 2004, Ch. 1.2, p. 75.
- 42** Pavlík, J.; Šnajdr, I.; Kuneš, J.; Špulák, M. and Pour, M. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 703.
- 43** Špulák M.; Lubojacký R.; Šenel P; Kuneš J.; Pour M. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 241.
- 44** National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved Standard, NCCLS document M27-A, 771 E. Lancaster Avenue, Villanova, PA, 19085, **1997**.
- 45** Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard –

Seventh Edition, CSLI document M07-A7, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA, 19087-1898, **2006**.

- 46** Dighe, S.N.; Jain, K.S.; Srimivasan, K.V. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 6139.
- 47** Kundu, D.; Majee, A.; Hajra, A.; *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 2668.
- 48** Behringer, H.; Fischer, H. J. *Chem. Ber.* **1961**, *94*, 1572.
- 49** Cho, S.-D.; Kim, H.-K.; Yim, H.-s.; Kim, M.R.; Lee, J.-K.; Kim, J.-J.; Yoon, Y.-J. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 1345.
- 50** Suzuki, H.; Hwang, Y. S.; Nakaya, C.; Matano, Y. *Synthesis*, **1993**, *12*, 1218.
- 51** Houghton, P. G.; Pipe, D. F.; Rees, C. W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1985**, *7*, 1471.
- 52** Goldfarb, D. S. U.S. Pat. Appl. Publ. US 2009163545, **2009**; *Chem. Abstr.* **2009**, *151*, 92836.
- 53** Harvill, E. K.; Herbst, R. M.; Schreiner, E. C.; Roberts, C. W. *J. Org. Chem.* **1950**, *15*, 662.