

**POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA**



**URZĄD
PATENTOWY
PRL**

OPIS PATENTOWY

67 163

Egz. SŁUŻBOWY

Patent dodatkowy
do patentu _____

Kl.12p,4/01

Zgłoszono: 31.VIII.1966 (P 116 295)

Pierwszeństwo: 09.XII.1965 dla zastrz.
1 — 15
Szwajcaria

MKP C07d 99/24

Opublikowano: 5.VII.1973

UKD

Twórca wynalazku

i
właściciel patentu: Robert Burns Woodward, Cambridge (Stany Zjedno-
czone Ameryki)

Sposób wytwarzania pochodnych kwasu 7-amino-3-dezacetyloksymetylo-3-formyloizocefalosporanowego

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania pochodnych kwasu 7-amino-3-dezacetyloksymetylo-3-formyloizocefalosporanowego o wzorze ogólnym 1, w którym R_0 oznacza atom wodoru lub resztę acylową, R oznacza atom wodoru lub resztę alkoholu, polegający na tym, że kondensuje się tiazolidynon-2, o wzorze 2 w którym Ac oznacza łatwo odszczepialną resztę acylową pólestru kwasu węglowego, R_1 i R_2 oznaczają niższe rodniki alkilowe zwłaszcza rodniki metylowe, z estrem kwasu dwuformylometylenometanokarboksylowego o wzorze 3, w którym R_a oznacza resztę alkoholu lub z jego odmianą tautomeryczną, po czym otrzymany związek o wzorze 4, w którym Ac, R_a , R_1 i R_2 mają wyżej podane znaczenie lub jego tautomer poddaje się działaniu kwaśnego czynnika, przy czym następuje rozszczepienie pierścienia pięciocłonowego i wytworzenie nowego członowego pierścienia heterocyklicznego zawierającego azot i siarkę, a następnie w otrzymanym związku o wzorze 1, ewentualnie acyluje się wolną grupę aminową w znany sposób i/lub mieszaninę izomerów ewentualnie rozdziela się na poszczególne izomery.

Związek według wynalazku stanowi cenny produkt wyjściowy do syntezy pochodnych kwasu 7-aminocefalosporanowego oznaczonego cyfrą XVI na schemacie 2, a zwłaszcza jego N-acylowych pochodnych, zawierających reszty acylowe występujące w wytworzonym drogą fermentacji aktywnym kwasie 7-aminocefalosporanowym, takie jak resz-

2

ta tlenyoacetylowa, np. 2-tienyoacetylowa, cyjanoacetylowa, chloroetylokarbamylowa lub fenyloacetylowa albo dające się łatwo odszczepiać reszty acylowe, takie jak reszta pólestru kwasu węglowego, np. reszta III-rzęd.-butyloksykarbonylowa.

Ogólną nową zasadę wytwarzania związku o wzorze 1, przedstawiają schematy 1, 2 i 3, przy czym schemat 1 ilustruje sposób wytwarzania związku oznaczonego cyfrą IX, stanowiącego produkt wyjściowy do wytworzenia związku oznaczonego wzorem ogólnym 2 drogą kondensacji związku IX ze związkiem X, otrzymanym według schematu 3, przedstawionej na schemacie 2 z tym, że schemat 2 ilustruje również dalsze reakcje prowadzące do uzyskania pochodnych związku o wzorze 1.

Jako estry kwasu dwuformylometylenometanokarboksylowego stosuje się np. estry z alkoholami dowolnego rodzaju, korzystnie z alkoholami alifatycznymi; zwłaszcza chlorowcowane niższe alkanole, jak 2,2,2-trójkloroetanol.

Sposobem według wynalazku reakcję przyłączenia prowadzi się w warunkach zapobiegających rozkładowi olefin, to jest w temperaturze pokojowej lub przy ogrzewaniu mieszaniny reakcyjnej do temperatury około 189°C, korzystnie do temperatury 50—120°, ewentualnie w obecności odpowiedniego rozcieńczalnika i/lub środka kondensującego, ewentualnie w atmosferze obojętnego gazu i/lub w zamkniętym naczyniu.

Jako kwasowe środki do rozszczepiania pięcioczłonowego pierścienia i tworzenia nowego, sześcioczłonowego pierścienia siarkowo-azotowego stosuje się kwasy nieorganiczne lub mocne organiczne kwasy tlenowe oraz aprotyczne kwasy Lewisa typu trójfluorku borowego i ich kompleksy. Z nieorganicznych kwasów tlenowych należy wymienić np. kwas siarkowy, kwas fosforowy lub kwas nadchlorowy, a jako mocne organiczne kwasy tlenowe odpowiednie są mocne kwasy karboksylowe, takie jak podstawione niższe kwasy karboksylowe np. niższe kwasy chlorowcoalkanokarboksylowe, takie jak kwas chlorooctowy, kwas trójchlorooctowy, a zwłaszcza kwas trójfluorooctowy, względnie mocne, organiczne kwasy sulfonowe, takie jak kwas p-toluenosulfonowy lub kwas p-bromobenzenosulfonowy.

Z aprotycznych kwasów Lewisa typu trójfluorku borowego stosuje się np. trójfluorek borowy oraz jego związki kompleksowe np. z eterem, np. takie jak eterotrójfluorek borowy lub z kwasem fluorowodorowym, stanowiącym kwas fluorowodorowy jak i czterochlorek cyny. Można również stosować odpowiednie mieszaniny kwasów.

Reakcję rozszczepiania i zamknięcia pierścienia prowadzi się ewentualnie przy użyciu odpowiednich rozpuszczalników, przy czym jako rozpuszczalniki mogą być stosowane odpowiednio dobrane środki kwasowe, rozszczepiające pierścień np. takie jak kwas octowy lub kwas trójfluorooctowy. Reakcję można prowadzić przy chłodzeniu, jak i w temperaturze pokojowej lub ewentualnie w podwyższonej temperaturze w atmosferze azotu i/lub w zamkniętym naczyniu, przy czym dająca się odszczepiać w kawaśnym środowisku grupa acylowa taka jak grupa acylowa półestru kwasu węglowego, np. reszta III-rzęd. butylooksykarbonylowa lub inna grupa estrowa odszczepialna w tych warunkach, np. grupa karbodwufenylometoksylova, może zostać zarówno odszczepiona względnie przeprowadzana w wolną grupę karboksylową.

W otrzymanych związkach grupę karboksylową zestryfikowaną np. 2,2,2-trójchlorowcoetanolem zwłaszcza 2,2,2-trójchloroetanolem można przeprowadzić w wolną grupę karboksylową za pomocą środków redukujących takich jak redukującymi solami metali, takimi jak związki chromu dwuwartościowego, np. dwuchloru chromu lub dwuoctan chromu, korzystnie w środowisku wodnym zawierającym organiczne rozpuszczalniki mieszające się z wodą, takie jak niższe alkanole, niższe kwasy alkanokarbonowe lub etery, np. metanol, etanol, kwas octowy, czterowodorofuran, dioksan, eter dwumetylowy glikolu etylenowego lub eter dwumetylowy glikolu dwuetylenowego. W ten sposób wspomniane estry mogą być przeprowadzane w wolne kwasy.

Wolną grupę aminową można w otrzymanych związkach acylować w znany sposób za pomocą kwasów karboksylowych lub sulfonowych lub ich pochodnych takich jak halogenki, np. chlorki lub bezwodniki, ewentualnie w obecności środków kondensujących, jak karbodwuimid, np. dwucykloheksylokarbodwuimid.

Otrzymane mieszaniny izomerów można rozdzielać na poszczególne izomery np. za pomocą frak-

cjonowanej krystalizacji, chromatografii adsorpcyjnej, np. kolumnowej lub cienkowarstwowej lub innymi znanymi metodami. Racematy można rozdzielać na antypody zwykłymi sposobami np. przez wytwarzanie mieszaniny stereoizomerycznych soli ze znanymi optycznie czynnymi związkami, rozdzielanie mieszaniny na stereoizomeryczne sole i przeprowadzanie tych soli w wolne związki lub przez frakcjonowaną krystalizację z optycznie czynnych rozpuszczalników.

W wytworzonych sposobem według wynalazku estrach kwasów 4,4-dwupodstawionych 3-acylo- α -dwuformylometylo-2-keto-1-acetyldyno (3,2-d)-tiazolidynometanokarboksylowych oraz kwasów 7-amino-3-dezacytlooksymetylo-3-formyloizocetalo-sporanowego grupy karboksylowe są zestryfikowane alkoholami takimi jak wyżej podane, zwłaszcza korzystnie wytwarza się związki przejściowe o ogólnym wzorze 4, w którym R_a oznacza resztę chlorowcowanego niższego alkoholu jak 2,2,2-trójchloroetylową lub niższego alkoholu podstawionego rodnikiem fenylowym, R_1 i R_2 mają wyżej podane znaczenie, a symbol Ac oznacza atom wodoru lub resztę acylową.

Jako reszty acylowe oznaczone symbolami Ac lub Ro stosuje się zwłaszcza reszty występujące w farmakologicznie czynnych pochodnych acylowych kwasu 7-aminocefalospiranowego, takie jak reszta tienyloacetylowa, np. 2-tienyloacetylowa, względnie reszty acylowe dające się łatwo odszczepiać, jak reszta półestru kwasu węglowego, np. reszta III-rzęd. butylooksykarbonylowa, przy czym reszta Ro może również oznaczać resztę 5-amino-5-karboksywalerylową, ewentualnie zawierającą chro-nione grupy aminowe i/lub karboksylowe lub może być inną odpowiednią resztą, np. benzoilową lub podstawioną benzoilową.

Związek o wzorze 5 stanowiący ester 2,2,2-trójchloroetylowy kwasu 3-III-rzęd. -butylooksykarbonylo- α -dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetyldyno-3,2-d/-tiazolidynooctowego o wzorze 5 lub jego izomer, otrzymuje się drogą kondensacji estru 2,2,2-trójchlorometylowego kwasu 3,3-dwufurmyloakrylowego z 3-III-rzęd.-butyloksykarbonylo-4,4-dwumetyloacetyldyno -[3,2-d]-tiazolidynonem-2, w bezwodnym środowisku organicznych rozpuszczalników jak n-oktanu z 1,2-dwumetoksyetanem lub ksylenu, prowadzonej w temperaturze 80 — 110°C. Z otrzymanej mieszaniny izomerów za pomocą metody chromatograficznej wyodrębnia się następnie izomer A i B związku o wzorze 5 i ich tautomery.

W przypadku otrzymywania związku o wzorze 1, w którym R_o oznacza atom wodoru, resztę 2-tienyloacetylową lub resztę 5-amino-5-karboksywalerylową, zawierającą ewentualnie osłoniętą grupę aminową i/lub karboksylową, a R_a oznacza chlorowcowaną niższą resztę alkilową, ester 2,2,2-trójchloroetylowy kwasu 3-III-rzęd.-butylooksykarbonylo- α -dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetyldyno-[3,2-d]-tiazolidynooctowego poddaje się reakcji z kwasem trójfluorooctowym w celu rozszczepienia pierścienia pięcioczłonowego i wytworzenia pierścienia sześcioczłonowego, przy czym równocześnie zmydla się grupę acylową. Otrzymuje się

związek oznaczony cyfrą XII na schemacie 2, odpowiadający związkowi o wzorze 1, w którym Ro oznacza atom wodoru a Ra ma wyżej podane znaczenie, lub tautomer tego związku. Otrzymany związek można acylować chlorkiem kwasu 2-tienylooctowego w środowisku suchego benzenu w obecności pirydyny i uzyskać związek o wzorze 6 w postaci izomerów Ci D, albo wolną grupę aminową w związku oznaczonym cyfrą XII można acylować dwuchlorkiem kwasu N-2,2,2-tróchloroetoksykarbonilo-D- α -aminoadypinowego w środowisku bezwodnego czterowodorofuranu w obecności pirydyn lub dwucykloheksylokarbodiimidu i uzyskuje związek o wzorze 1, w którym Ro i Ra mają wyżej podane znaczenie, w postaci mieszaniny izomerów o wzorze 7 i 8 i związku o wzorze 9 lub związku o wzorze 10.

Jak przedstawiono na schemacie, związki wytwarzane sposobem według wynalazku mogą być przekształcone w kwas 7-aminocefalosporanowy i jego pochodne według niżej opisanych sposobów.

Wynalazek wyjaśniają przykłady, a podane stosunki oznaczają stosunki objętościowe.

Przykład I. W dwóch równolegle prowadzonych próbach do każdego z naczyń zawierającego 400 ml lekko wrzącego n-oktanu dodaje się w ciągu 60 minut mieszając w atmosferze azotu 6 g estru 2,2,2-tróchloroetylowego kwasu 3,3-dwuformylomlekowego w 100 ml 1,2-dwumetoksyetanu, oddestylowując równocześnie przez nasadkę destylacyjną 240 ml mieszaniny rozpuszczalników. Mieszaninę reakcyjną po ochłodzeniu przesącza się bez dostępu wilgoci i przesącza, zawierający ester 2,2,2-tróchloroetylowy kwasu 3,3-dwuformyloakrylowego, traktuje 1 g 3-III-rzęd. butylooksykarbonilo-4, 4-dwumetyloacetydino [3,2-d]-tiazolidynonu-2. Mieszaninę reakcyjną utrzymuje się w ciągu 9 godzin w temperaturze 110°C i odparowuje pod ciśnieniem obniżonym za pomocą pompki wodnej. Pozostałość ekstrahuje się 60 ml benzenu.

Wyciągi benzenowe z obu naczyń łączy się i ekstrahuje pięciokrotnie 75 ml nasyconego roztworu kwaśnego węgla sodowego. Wodne roztwory wstrząsa się z benzenem a następnie łączy organiczne roztwory. Zawierają one głównie polimeryczny materiał wyjściowy. Wyciągi uzyskane za pomocą kwaśnego węgla sodowego, po dodaniu chlorku metylenu zakwasza się kwasem cytrynowym do wartości pH około 5 i z organicznej fazy otrzymuje się surowy ester 2,2,2-tróchloroetylowy kwasu 3-III-rzęd. butylooksykarbonilo- α -dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetydino (3,2-d) tiazolidynooctowego o wzorze 5.

1,158 g otrzymanego surowego produktu stanowiącego mieszaninę izomerów A i B, złożoną głównie z izomeru A chromatografuje się na 45 g żelu krzemionkowego wymytego kwasem, przy czym przez frakcjonowane eluowanie benzenem zawierającym 10% objętościowych octanu etylu otrzymuje się początkowo bezpostaciowy izomer B o pasmach absorpcyjnych w podczerwieni w chlorku metylenu przy 5,7 μ , 5,8 μ (szerokie), 5,85 μ , 6,0 μ , 6,12 μ , i 11,75 μ (szerokie), a przez dalsze eluowanie za pomocą mieszaniny benzenu i octanu etylu użytych w stosunku 85 : 15 uzyskuje się prawie czy-

sty izomer A, a następnie przez eluowanie mieszaniną benzenu i octanu etylu w stosunku 75 : 25 uzyskuje się czysty izomer A o współczynniku (α)_D = 122° = 2° (C = 0,460 w chloroformie) i pasmach absorpcyjnych w podczerwieni w chlorku metylenu przy 5,7 μ , 5,8 μ (szerokie), 5,9 μ , 6,05 μ i 12,15 μ (szerokie).

Przykład II. Mieszaninę 0,09 g 3-III-rzęd. butylooksykarbonilo-4, 4-dwumetyloacetydino (3,2-d) tiazolidynonu-2 i 0,27 g surowego estru 2,2,2-tróchloroetylowego kwasu 3,3-dwuformyloakrylowego w 10 ml ksylenu utrzymuje się w temperaturze 110°C w ciągu 10 godzin i następnie odparowuje. Pozostałość rozpuszcza się w benzenie, organiczny wyciąg ekstrahuje trzykrotnie nasyconym roztworem kwaśnego węgla sodowego, łączy wodne roztwory zakwasza kwasem cytrynowym i trzykrotnie ekstrahuje chlorkiem metylenu. Po wysuszeniu bezwodnym siarczanem sodowym organiczne wyciągi odparowuje się i pozostałość chromatografuje na wymytm kwasem żelu krzemionkowego. Czysty ester 2,2,2-tróchloroetylowy kwasu 3-III-rzęd. butylooksykarbonilo- α -dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetydino (3,2-d) tiazolidynooctowego eluuje się mieszaninami benzenu i octanu etylu, jako mieszaninę czystych izomerów A i B w sposób opisany w przykładzie I.

Przykład III. Do 400 ml lekko wrzącego n-oktanu o temperaturze wrzenia 125 — 129°C, mieszając i przepuszczając słaby strumień azotu, wkrapla się w ciągu 45 minut roztwór 6 g estru 2,2,2-tróchloroetylowego kwasu 3,3-dwuformylomlekowego w 100 ml 1,2-dwumetoksyetanu. Temperaturę łaźni reguluje się tak, aby równocześnie można było oddestylować 170 ml rozpuszczalnika. Po zakończeniu wkraplania oddestylowuje się jeszcze 20 ml rozpuszczalnika i mieszaninę chłodzi lodem, a następnie przesącza. Do klarownego ciemnożółtego przesącza, zawierającego ester 2,2,2-tróchloroetylowy kwasu 3,3-dwuformyloakrylowego, dodaje się 1,2 g 3-III-rzęd. butylooksykarbonilo-4, 4-dwumetyloacetydino (3,2-d) tiazolidynonu-2 i mieszaninę ogrzewa w temperaturze 80°C w ciągu 21 godzin. Po ochłodzeniu mieszaninę wstrząsa się z 75 ml nasyconego roztworu kwaśnego węgla sodowego. Po rozdzieleniu faz powstałą żółtą żywicę rozpuszcza się w chlorku metylenu i oba organiczne roztwory ekstrahuje sześciokrotnie 75 ml nasyconego roztworu kwaśnego węgla sodowego. Alkaliczne wyciągi wodne przepłukuje się 100 ml eteru, zakwasza krystalicznym kwasem cytrynowym do wartości pH = 3 — 4 i dwukrotnie ekstrahuje chlorkiem metylenu. Otrzymuje się żądany ester 2,2,2-tróchloroetylowy kwasu 3-III-rzęd. butylooksykarbonilo- α -dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetydino (3,2-d) tiazolidynooctowego. Surowy produkt rozdziela się w 6 stopniach między 100 ml benzenu i 100 ml buforowego fosforanu o wartości pH = 8,0 przy czym roztwór buforowy stanowi fazę ruchomą, a roztwór benzenowy fazę nieruchomą. Produkty uzyskuje się z fazy wodnych przez zakwaszenie krystalicznym kwasem cytrynowym i następne ekstrahowanie chlorkiem metylenu. W pierwszych trzech frakcjach gromadzą się produkty uboczne, zaś frakcje

uzyskane z trzech pozostałych frakcji rozdziela się w stopniach ponownie między benzen (zawsze po 100 ml), bufor fosforanowy o wartości pH około 5 — 6, zawsze po 50 ml. Dolna faza stanowi fazę ruchomą. W pierwszych dwóch frakcjach otrzymuje się czysty produkt (mieszanina izomerów A i B), zaś trzecia frakcja daje produkt nieczysty, a czwarta i piąta produkty uboczne.

Przykład IV. Mieszaninę 0,675 g estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-III-rzęd. butylooksykarbonylo- α -dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetyldyno (3,2-d) tiazolidynooctowego (mieszanina izomerów A i B) i 42 ml świeżo przdestylowanego kwasu trójfluorooctowego miesza się w temperaturze pokojowej w ciągu 2,5 godzin po czym odparowuje rozpuszczalnik w temperaturze pokojowej pod obniżonym ciśnieniem. Pozostałość miesza się w ciągu 1 minuty z 2 ml wody, a następnie z 10 ml chlorku metylenu, po czym organiczną mieszaninę traktuje nasyconym roztworem wodnym kwaśnego węglanu sodowego i 50 ml chlorku metylenu. Fazę organiczną płucze się 10 ml nasyconego roztworu wodnego kwaśnego węglanu sodowego i następnie nasyconym roztworem wodnym chlorku sodowego, suszy bezwodnym siarczanem sodowym i odparowuje pod obniżonym ciśnieniem bez ogrzewania. Otrzymuje się ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 7-amino-3-dezacyloksymetylo-3-formyloizocetofalosporanowego o wzorze 1, w którym R oznacza resztę o wzorze $-\text{CH}_2\text{CCl}_3$, a Ro oznacza atom wodoru w postaci mieszaniny izomerów o pasmach absorbujących w podczerwieni w chlorku metylenu przy 5,6 μ , 6,0 μ i 6,35 μ a w pozafioletcie w etanolu λ_{maks} 292 m μ ($\Sigma = 13600$). Mieszaninę tę acyluje się bez dalszego oczyszczania.

Wychodząc z czystych izomerów A lub B otrzymuje się tę samą mieszaninę pochodnych kwasu izocetofalosporanowego.

Przykład V. 0,063 g surowego estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 7-amino-3-dezacyloksymetylo-3-formyloizocetofalosporanowego, otrzymanego przez zamknięcie pierścienia czystego izomeru A estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-III-rzęd. butylooksykarbonylo- α -dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetyldyno (3,2-d) tiazolidynooctowego, w roztworze w 12 ml bezwodnego benzenu traktuje się 4 ml roztworu zawierającego 0,00626 g/ml pirydyny w benzenie, a następnie 1,65 ml roztworu chlorku kwasu 2-tienylooctowego w benzenie, zawierającego 0,02173 g chlorku na 1 ml roztworu i miesza w ciągu 16 godzin. Następnie odparowuje się możliwie całkowicie rozpuszczalnik, pozostałość miesza z nasyconym roztworem wodnym kwaśnego węglanu sodowego i wstrząsa z chlorkiem metylenu. Organiczny wyciąg o objętości około 25 ml płucze się nasyconym roztworem wodnym chlorku sodowego, suszy i odparowuje, a otrzymaną pozostałość chromatografuje się na 4 g przemycanego kwaśnym roztworem żelu krzemiankowego. Za pomocą eluowania mieszaniną benzenu i octanu etylu użytych w stosunku objętościowym 9:1, otrzymuje się produkt C, odpowiadający estrowi 2,2,2-trójkloroetylowemu kwasu 3-dezacylo-oksymetylo-3-formylo-7- (2-tienyloacetyloamino)

-izocetofalosporanowego o wzorze 6. Związek ten krystalizuje samorzutnie w postaci płytek z mieszaniny eteru i chlorku metylenu i charakteryzuje się temperaturą topnienia 155 — 157°C (α)_D = $\div 342^\circ \pm 11^\circ$ ($c = 0,091$ w chloroformie), pasmami absorpcyjnymi w podczerwieni w chlorku metylenu przy 2,95 μ , 5,675 μ (szerokie), 6,025 μ , 6,35 μ i 6,7 μ , a w pozafioletcie w etanolu 238 m μ oraz 290,5 m μ .

Za pomocą dalszych 40 ml wspomnianej mieszaniny benzenu i octanu etylu eluuje się następnie pewną ilość mieszaniny prawie czystego produktu C i izomeru strukturalnego D, podczas gdy za pomocą 25 ml mieszaniny benzenu i octanu etylu w stosunku 4:1, otrzymuje się prawie czysty izomer D estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-dezacyloksymetylo-3-formylo-7- (2-tienyloacetylo-amino)-izocetofalosporanowego. Izomer D wykazuje w podczerwieni w chlorku metylenu pasma absorpcyjne przy 5,65 μ (słabsze niż produkt C), 6 μ , 6,2 μ (nie występujące w przypadku produktu C) i przy 6,35 μ , a w etanolu w świetle pozafioletowym λ_{maks} 239 m μ i 300 m μ .

Przykład VI. Roztwór 0,343 g estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 7-amino-3-dezacyloksymetylo-3-formyloizocetofalosporanowego, otrzymanego przez zamknięcie sześciocłonowego pierścienia w estrze 2,2,2-trójklorooctowego kwasu 3-III-rzęd. butylooksykarbonylo- α -dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetyldyno (3,2-d) tiazolidynooctowego użytego w postaci mieszaniny izomerów A i B, w 70 ml bezwodnego benzenu miesza się i traktuje 0,16 ml bezwodnej pirydyny, a następnie 7,7 ml roztworu, zawierającego 0,0238 g chlorku kwasu 2-tienylooctowego na 1 ml benzenu. Mieszaninę reakcyjną miesza się w ciągu 16 godzin i odsąca stały produkt stanowiący głównie chlorowodorek pirydyny. Przesącz odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, pozostałość miesza, z nasyconym wodnym roztworem kwaśnego węglanu sodowego i wstrząsa ze 150 ml benzenu. Fazę organiczną płucze się dwukrotnie nasyconym roztworem wodnym kwaśnego węglanu sodowego i raz nasyconym roztworem wodnym chlorku sodowego, suszy i odparowuje. Pozostałość chromatografuje się na 24 kg żelu krzemionkowego przemycanego kwasu, przy czym za pomocą 450 ml mieszaniny benzenu i octanu etylu użytych w stosunku objętościowym 9:1 eluuje się ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 3-dezacyloksymetylo-3-formylo-7-(2-tienyloacetyloamino) -izocetofalosporanowego otrzymany w postaci niekrystalicznej. Przy użyciu 150 ml tej samej mieszaniny uzyskuje się mieszaninę produktu C i izomeru strukturalnego D, a za pomocą 100 ml mieszaniny — głównie izomer D, podczas gdy przy użyciu 150 ml mieszaniny tych rozpuszczalników użytych w stosunku objętościowym 4:1 otrzymuje się prawie czysty izomer strukturalny D.

Przykład VII. Do 0,5 g estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-dezacylo-3-formylo-7-(2-tienyloacetyloamino) -izocetofalosporanowego w mieszaninie 10 ml kwasu octowego i 3 ml wody dodaje się świeżo przygotowany, wilgotny octan chromawy i miesza w ciągu 3 godzin w temperaturze pokojowej w atmosferze dwutlenku węgla. Po rozcieńczeniu

100 ml eteru i 80 ml wody przesącza się oddziela fazę wodną i ekstrahuje ją eterem. Połączone organiczne roztwory płucze się trzykrotnie 60 ml wody. Po osuszeniu i odparowaniu eteru otrzymuje się odpowiedni kwas w postaci surowego produktu.

Przykład VIII. Do przygotowanego w niżej opisany sposób roztworu dwuchloru kwasu N-2, 2,2-trójkloroetoksykarbonylo- D- α -aminoadypinowego w chlorku metylenu, mieszając i chłodząc dodaje się w ciągu 20 minut 0,065 g estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 7-amino-3-dezacyloksymetylo-3-formyloizocetalo-sporanowego w 2 ml chlorku metylenu i 0,015 ml pirydyny, po czym miesza w temperaturze pokojowej w ciągu 30 minut i następnie traktuje mieszaninę 2 ml chlorku metylenu, 0,014 ml pirydyny i 0,025 ml 2,2,2-trójkloroetanolu. Mieszaninę poreakcyjną pozostawia się na okres 16 godzin, rozcieńcza chlorkiem metylenu i organiczny roztwór przemywa nasyconym roztworem kwaśnego węgla sodowego i wodą, suszy i odparowuje do sucha.

Otrzymany surowy produkt chromatografuje się na 6 g oczyszczonego żelu krzemionkowego. Za pomocą mieszaniny benzenu i octanu etylu użytych w stosunku objętościowym 85:15 i 80:20 eluuje się oddzielnie ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 3-dezacyloksymetylo-3-formylo-7- (D-5) karbo-2, 2,2-trójkloroetoksy (-5-) 2,2,2-trójkloroetoksykarbonyloamino (-waleryloamino) -izocetalo-sporanowego o wzorze 7 i jego izomer stanowiący ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 3-dezacyloksymetylo-3-formylo-7- (D-5) karbo-2,2,2-trójkloroetoksy (-2-) 2,2,2-trójkloroetoksykarbonyloamino (-waleryloamino) -izocetalo-sporanowego o wzorze 8. Oba produkty mają postać prawie bezbarwnych olejów i w chlorku metylenu wykazują w podczerwieni pasma absorpcyjne przy 2,95 μ , 5,62 μ , 5,80 μ , 6,00 μ , 6,37 μ i 6,70 μ . Za pomocą mieszaniny benzenu i octanu etylu użytych w stosunku objętościowym 60:40 można eluować małą ilość polarnego związku o wzorze 9.

Użyty w tym przykładzie produkt wyjściowy otrzymuje się w sposób następujący. Do 270 g ciekłego fosgeny w temperaturze -30°C dodaje się 194 ml 2,2,2-trójkloroetanolu w taki sposób, aby nie rozpoczęła się reakcja, w tej samej temperaturze po czym mieszaninę 500 ml bezwodnego czterowodorofuranu, a następnie w temperaturze -40°C wkrapla 162 ml pirydyny, co powoduje natychmiastowe wytrącanie się chlorowodoru pirydyny. Krótco przed zakończeniem dodawania pirydyny mieszaninę reakcyjną ogrzewa się w ciągu 30 sekund od temperatury -30 do +35°C.

Reakcję zatrzymuje się przez zanurzenie naczynia reakcyjnego w mieszaninie acetonu z suchym lodem i miesza dalej w atmosferze azotu w ciągu 1 godziny chłodząc w mieszaninie oziębiającej, a następnie w ciągu 18 godzin w temperaturze pokojowej. Po odsączeniu bezbarwne kryształy płucze się 1500 ml bezwodnego eteru i mętny roztwór organiczny przesącza przez warstwę siarczanu magnezowego o grubości 2—3 cm, zateża pod obniżonym ciśnieniem i destyluje. Otrzymuje się ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu chlorowęglowego o temperaturze wrzenia 52 — 52°C przy 9 — 10 mm Hg.

Do roztworu 1,51 g kwasu D- α -aminoadypinowego w 20 ml 2 N wodorotlenku sodowego, starannie mieszając, dodaje się najpierw 4 g chlorku 2,2,2-trójkloroetoksykarbonylowego, a po upływie 40 minut dalsze 2 g tego związku. Po upływie 20 minut wartość pH roztworu wynosi około 8, po czym dodaje się 5 ml 2 N wodorotlenku sodowego i po 20 minutach mieszaninę ekstrahuje dwukrotnie 50 ml eteru. Wodny roztwór zakwasza się 6 N roztworem kwasu solnego i zateża do objętości około 50 ml pod ciśnieniem obniżonym za pomocą pompy wodnej, przy czym częściowo wytrąca się produkt reakcji. Produkt ten ekstrahuje się octanem etylu, suszy, odparowuje organiczny rozpuszczalnik i pozostałość miesza z chlorkiem metylenu odsysając ciekłą fazę. Otrzymuje się kwas N-2,2,2-trójkloroetoksykarbonylo-D- α -aminoadypinowy o temperaturze topnienia 137,5°C, o współczynniku (α)_D²⁰ = 8° (c = 1,03 w 1 N roztworze wodnym wodorotlenku sodowego).

Zawieszając 0,156 g pięciochloru fosforu w 1 ml bezwodnego eteru traktuje się 0,0845 g kwasu N-2,2,2-trójkloroetoksykarbonylo-D- α -aminoadypinowego, po czym pozostawia w temperaturze pokojowej na okres 15 minut i oparowuje do sucha. Uzyskuje się surowy dwuchlorek kwasu N-2,2,2-trójkloroetoksykarbonylo-D- α -aminoadypinowego, który suszy się pod ciśnieniem 0,01 mm Hg i rozpuszcza w 2 ml chlorku metylenu.

Przykład IX. Mieszaninę 0,0477 g estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 7-amino-3-dezacyloksymetylo-3-formyloizocetalo-sporanowego otrzymanego według przykładu IV i 0,034 g kwasu N-2,2,2-trójkloroetoksykarbonylo- D- α -aminoadypinowego, otrzymanego według przykładu VIII, w 1 ml czterowodorofuranu traktuje się 0,021 g dwucykloheksylokarbodwuimidu. Po upływie 75 minut odsącza się N, N'-dwucykloheksylo-mocznik, przemywa go eterem i chlorkiem metylenu. Przesącza odparowuje się uzyskując produkt zawierający ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 3-dezacyloksymetylo-3-formylo-7- (d-5-karboksy-5-) 2,2,2-trójkloroetoksykarbonyloamino (waleryloamino) -izocetalo-sporanowego o wzorze 10, wykazujący w chlorku metylenu w podczerwieni pasma przy 2,95 μ , 3,0 μ , 5,65 μ , 5,8 μ , 6,0 μ , 6,20 μ , 6,37 μ , 6,68 μ , 7,35 μ , 8,3 μ i 8,7 μ . Produkt ten rozpuszcza się w chlorku metylenu i traktuje 0,038 g 2,2,2-trójkloroetanolu, 0,007 g pirydyny i 0,0223 g dwucykloheksylokarbodwuimidu. Po odstaniu w ciągu 18 godzin odparowuje się chlorek metylenu pod obniżonym ciśnieniem i pozostałość rozpuszcza w 2 ml benzenu. Odsącza się nie rozpuszczony N, N'-dwucykloheksylo-mocznik i przemywa benzenem. Przesącza się ponownie i łączy z popłuczynami a następnie odparowuje pod obniżonym ciśnieniem do objętości 10 ml, płucze 10 ml nasyconego roztworu wodnego kwaśnego węgla sodowego, suszy siarczanem sodowym i odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem.

Szklisty, żółtawy produkt chromatografuje się na kolumnie przygotowanej z 8 g żelu krzemionkowego zawieszonego w benzenie. Eluaty zbiera się w frakcjach po 10 ml. Frakcje, wyeluowane za-

10 pomocą 10 ml benzenu oraz 40 ml mieszaniny benzenu i octanu etylu użytych w stosunku 9 : 1 i 10 ml mieszaniny tych samych rozcieńczalników użytych w stosunku 3 : 1, odrzuca się. Frakcje uzyskane za pomocą dalszych 30 ml mieszaniny benzenu i octanu etylu użytych w stosunku 3 : 1 zawierają 5 ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 3-dezacyloksymetylo-3-formylo-7- (d-5-) karboksy- 2,2,2-trójkloroetoksy (-2-) 2,2,2-trójkloroetoksykarbonyloamino (-waleryloamino) -izocefalospiranowego, a dalsza frakcja, wyeluowana za pomocą 10 ml takiej samej mieszaniny rozpuszczalników, zawiera 15 mieszaninę obu izomerów strukturalnych. Następne frakcje, uzyskane za pomocą 40 ml wspomnianej mieszaniny, łączy się, dodaje do nich benzen i po odsączeniu niewielkiej ilości N,N'-dwucykloheksylomocznika odparowuje. Uzyskuje się ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 3-dezacyloksy-3-formylo-7- (d-5-) karbo-2,2,2-trójkloroetoksy (-5-) 2,2,2-trójkloroetoksy-karbonyloamino (-waleryloamino) -izocefalospiranowego. Produkt ten przerabia się 20 dalej bez oczyszczania.

Przykład X. 0,054 g estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-dezacyloksymetylo-3-formylo-7-2-tienyloacetyloamino) -izocefalospiranowego otrzymanego w postaci niekrystalicznej według przykładu VI, chromatografuje się ponownie po upływie 1 miesiąca w sposób jak opisano w przykładzie VI, ale z tą różnicą, że stosuje się kolumnę wypełnioną 3 g żelu krzemionkowego i eluuje mieszaniną benzenu i octanu etylu użytych w stosunku 9 : 1. W ten sposób uzyskuje się w postaci krystalicznej izomer C₁ estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-dezacyloksymetylo-3-formylo-7- (2-tienyloacetyloamino) -izocefalospiranowego. Z mieszaniny eteru i chlorku metylenu produkt ten krystalizuje w postaci igieł o temperaturze topnienia 133,5 — 135,5°C, (α)_D²⁰ = + 440° (c = 0,1648 w chloroformie). Widmo absorpcyjne w podczerwieni roztworu tego związku w chlorku metylenu i chromatogram cienkowarstwowy (układ rozwijający benzen z octanem etylu w proporcji 1 : 1) są identyczne z odpowiednimi danymi produktu C (przykład IV).

Przykład XI. Do 800 ml oktanu utrzymywanego w stanie łagodnego wrzenia, przy przepuszczaniu powolnego strumienia suchego azotu dodaje się powoli w ciągu 30 minut roztwór 12 g estru 2,2,2-trójklorometylewego kwasu 3,3-dwuformylomlekowego w 200 ml 1,2-dwumetoksyetanu, przy równoczesnym oddestylowaniu rozcieńczalników. W czasie dodawania estru oddestylowuje się 200 ml rozcieńczalnika, a dalsze 100 ml po zakończeniu 45 dodawania. Następnie roztwór chłodzi się, przesącza i przesącz zawierający ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 3,3-dwuformyloakrylowego traktuje 2 g 3-III-rzęd. butyloksykarbonylo-4,4-dwumetyloacetyldyno (3,2-d) tiazolidynonu-2 i miesza w ciągu 67,5 godzin. Mieszaninę reakcyjną odparowuje się do objętości 300 ml w temperaturze 50°C pod ciśnieniem obniżonym za pomocą pompki wodnej i rozcieńcza 200 ml eteru. Roztwór dekantuje się i płucze pięciokrotnie 100 ml nasyconego roztworu wodnego kwaśnego węgla sodowego.

Każdą partię ekstraktu płucze się 150 ml pentenu, przy czym ten sam roztwór organiczny sto-

suje się do wszystkich ekstraktów. Każdą fazę wodną miesza się natychmiast z 250 ml ochłodzonego lodem chlorku metylenu i zawiesinę zakwasza nie- 5 zwłocznie stałym kwasem cytrynowym. Organiczny roztwór oddziela się, kwaśną fazę ekstrahuje dwukrotnie 200 ml chlorku metylenu, połączone roztwory organiczne suszy i odparowuje. Otrzymuje się w ten sposób kwaśny produkt.

Roztwór eterowo-oktanowy łączy się z roztworem 10 pentanowym, suszy i odparowuje, otrzymując produkt „obojętny”.

Produkt o konsystencji gumy, otrzymany po dekantacji roztworu eterowo-oktanowego, rozpuszcza się w 250 ml chlorku metylenu i ekstrahuje 15 pięciokrotnie 100 ml nasyconego roztworu kwaśnego węgla sodowego. Każdy z pięciu wodnych wyciągów zakwasza się kwasem cytrynowym i przerabia na „kwaśny” produkt, jak opisano wyżej. Roztwór w chlorku metylenu suszy się, otrzymując dalszą ilość „obojętnego” produktu. Połączony „kwaśny” produkt chromatografuje się na 110 g przemycanego kwasem żelu krzemionkowego uzyskując następujące wyniki:

Frakcja	Rozpuszczalnik	Objętość w ml	Eluat w g
1 — 3	Benzen i octan etylu 97 : 3	900	0,055
1 — 9	Benzen i octan etylu 9 : 1	1800	0,110
10 — 16	„ „ „	2100	0,554
17 — 19	„ „ „	900	0,105
20 — 30	„ „ „	3300	0,283
31 — 37	Benzen i octan etylu		0,152

Frakcja 10 — 16 (nieczysty addukt B) za pomocą 35 rozdzielania przeciwwprądowego przy użyciu buforowego fosforanu o wartości pH=6,8 oczyszcza się w 13 stopniach, stosując każdorazowo 40 ml mieszaniny benzenu i eteru użytych w proporcji objętościowej 1 : 1, jako fazę nieruchomą i 40 ml roztworu buforowego na każdym stopniu. Wodną fazę 40 zakwasza się na każdym stopniu kwasem cytrynowym, ekstrahuje chlorkiem metylenu i wyciąg w chlorku metylenu łączy z roztworem w mieszaninie eteru z benzenem, suszy i odparowuje. W stopniach 6 — 12 uzyskuje się czysty izomer B estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-III-rzęd. butyloksykarbonylo- α -dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetyldyno (3,2-d) tiazolidynooctowego, wykazujący w chlorku metylenu w widmie absorpcyjnym w podczerwieni pasma przy 3,2 μ (szerokie) 3,5 μ (szerokie), 5,65 μ (ramię), 5,7 μ , 5,88 μ , 6,02 μ i 6,15 μ oraz mający (α)_D = - 188° ÷ 1° (c = 0,72 w chloroformie).

Izomer A estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-III-rzęd. butyloksykarbonylo- α -tiazolidynooctowego otrzymuje się jako czysty produkt z frakcji 20—37. Wykazuje on w podczerwieni pasma absorpcyjne (w chlorku metylenu) przy 3,2 μ (szerokie), 3,5 μ (szerokie), 5,65 μ (ramię), 5,7 μ , 5,9 μ , 6,06 μ i 6,25 μ , zaś (α)_D = - 122° ÷ 2° (c = 0,46 w chloroformie).

Przykład XII. Mieszaninę 0,208 g izomeru B estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-III-rzęd. butyloksykarbonylo- α -dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetyldyno (3,2-d) tiazolidynooctowego w 12,5 ml kwasu trójfluorooctowego miesza

się w ciągu 2 godzin i zatęża bez ogrzewania. Pozostałość miesza się w ciągu 10 sekund z 4 ml wody, dodaje 5 ml chlorku metylenu, a następnie 8 ml nasyconego roztworu wodnego kwaśnego węglanu sodowego i 40 ml chlorku metylenu. Fazę wodną płucze się 40 ml chlorku metylenu, łączy organiczne roztwory i płucze kolejno 15 ml, a później 20 ml nasyconego roztworu wodnego i 10 ml nasyconego roztworu wodnego chlorku sodowego, suszy bezwodnym siarczanem sodowym i zatęża bez ogrzewania. Pozostałość zalewa się 3 ml heksanu i suszy. Uzyskuje się w ten sposób izomer B₁ estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 7-amino-3-dezacytyloksymetylo-3-formyloizocefalospiranowego. Produkt ten wykazujący w 95% etanolu w nadfioletcie widmo absorpcyjne λ_{maks} 294 m μ , przerabia się niezwłocznie dalej. Roztwór 0,104 g tego produktu w 30 ml bezwodnego benzenu mieszając traktuje się 1,4 ml roztworu pirydyny w benzenie, zawierającego 0,03126 g zasady/ml, a następnie 2,54 ml roztworu, zawierającego 0,02168 g chlorku kwasu 2-tienylooctowego w benzenie i miesza w ciągu 16 godzin, przesącza, przesącza odparowuje do objętości 2 ml bez ogrzewania, a otrzymaną pozostałość traktuje 10 ml nasyconego roztworu wodnego kwaśnego węglanu sodowego i 30 ml benzenu. Organiczny roztwór przemywa się nasyconym roztworem kwaśnego węglanu sodowego i nasyconym roztworem wodnym chlorku sodowego, suszy siarczanem sodowym i odparowuje. Pozostałość przekrystalizowana z mieszaniny chlorku metylenu i eteru daje izomer C₁ estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-dezacytyloksymetylo-3-formylo-7-(2-tienyloacetyloamino) -izocefalospiranowego o temperaturze topnienia 131 — 135°C.

Ług pokrystalizacyjny odparowuje się i pozostałość chromatografuje na 1 g przemycanego kwasem żelu krzemionkowego, uzyskując następujące wyniki:

Fracja Rozpuszczalnik Objętość w ml Eluat w g			
1 — 3	Benzen — octan etylu		
	95 : 5 i 9 : 1	20	0,002
4 — 7	Benzen — octan etylu		
	9 : 1	40	0,017

Fracje 4 — 7 przekrystalizowuje się z mieszaniny chlorku metylenu i eteru, uzyskując dalszą ilość izomeru C₁ o temperaturze topnienia 133 — 135°. Produkt ten po krystalizacji z mieszaniny chlorku metylenu i eteru charakteryzuje się temperaturą topnienia 135 — 135,5°C, $(\alpha)_D = \div 485^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,137$ w chloroformie), widmem absorpcyjnym w podczerwieni w chlorku metylenu o pasmach przy 2,95 μ , 5,6 μ , 5,65 μ (ramię) 6 μ i 6,35 μ .

Przykład XIII. Mieszaninę izomeru A estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-III-rzęd. butyloksykarbonylo- α -dwuformylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acetyldyno (3,2-d) tiazolidynoocetowego (przykład XI) i 10 ml kwasu trójfluoroocetowego przerabia się w sposób opisany w przykładzie XII. Surowy izomer A₁ estru 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 7-amino-3-dezacytyloksymetylo-3-formyloizocefalospiranowego wykazuje w 95 %-owym

etanolu widmo absorpcyjne w pozafioletcie λ_{maks} 294 m μ . Produkt ten rozpuszcza się w 15 ml benzenu i traktuje 0,04 ml pirydyny, a następnie 2 ml roztworu chlorku kwasu 2-tienoocetowego w benzenie, zawierającego 0,01555 g chlorku kwasowego /ml. Mieszaninę przerabia się w sposób opisany w przykładzie XII i otrzymany produkt chromatografuje na 3,5 g przemycanego kwasem żelu krzemionkowego uzyskując następujące wyniki:

Fracja Rozpuszczalnik Objętość w ml Eluat w g			
1	benzen	20	—
2 — 5	benzen-octan etylu		
	95 : 5	60	—
6 — 7	benzen-octan etylu		
	90 : 10	20	0,001
8 — 11	" " "	40	0,026

Z frakcji 8 — 11, po krystalizacji z mieszaniny chlorku metylenu i eteru otrzymuje się izomer C estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-dezacytyloksymetylo-3-formylo-7-(2-tienyloacetyloamino) -izocefalospiranowego o temperaturze topnienia 155 — 157°C, $(\alpha)_D = \div 317^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,5965$ w chloroformie) i widmie absorpcyjnym w chlorku metylenu w podczerwieni o pasmach przy 2,88 μ , 5,6 μ , 5,65 μ (ramię), 5,98 μ i 6,35 μ . Produkt ten jest identyczny z opisany w przykładzie V.

Użyte w powyższych przykładach materiały wyjściowe otrzymuje się według sposobu oddanego w opisie patentowym... (P. 116 296) lub w sposób następujący: Mieszaninę 33,5 g kwasu d-winowego, 200 ml świeżo przedestylowanego 2,2,2-trójkloroetanolu, 100 ml bezwodnego toluenu i 1,92 g wodoru kwasu p-toluenosulfonowego utrzymuje się we wrzeniu pod chłodnicą zwrotną w ciągu 12 godzin usuwając powstającą w czasie reakcji wodę (8 ml) za pomocą nasadki azeotropowej. Mieszaninę reakcyjną płucze się trzykrotnie 50 ml mieszaniny nasyconego roztworu kwaśnego węglanu sodowego i wody lodowej użytych w proporcji objętościowej 1 : 1, a następnie dwukrotnie 60 ml wody lodowej. Wodne wyciągi ekstrahuje się benzenem i połączone organiczne roztwory suszy siarczanem sodowym i odparowuje. Nadmiar 2,2,2-trójkloroetanolu oddestylowuje się i pozostałość rozpuszcza w 200 ml gorącego benzenu. Roztwór rozcieńcza się 100 ml heksanu, chłodzi i pobudza do krystalizacji. Krystaliczny ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu d-winowego odsącza się, przemywa heksanem i suszy w temperaturze pokojowej. Otrzymany produkt po krystalizacji z benzenu wykazuje temperaturę topnienia 101,5 — 103,5°C, $(\alpha)_D = \div 9^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,04$ w chloroformie) i pasma absorpcyjne w podczerwieni w chlorku metylenu przy 2,75 μ , 5,7 μ , 7,35 μ , 7,8 μ , (8,3 μ), 8,5 μ , 8,9 μ , 9,15 μ , 9,95 μ i 12,35 μ . Dalszą ilość żądanego produktu można otrzymać z ługu pokrystalicznego.

Do roztworu 123,4 g estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu d-winowego w 200 ml metanolu dodaje się 800 ml wody, chłodzi do temperatury 10°C i w ciągu 45 minut w temperaturze 10 — 12°C wkrapla roztwór 70,59 g nadjodanu sodowego w 600 ml wody o temperaturze 30 — 40°C. Po ogrzaniu się mieszaniny do temperatury pokojowej miesza się

dalej w ciągu 19 godzin w temperaturze 23°C, dodaje 600 g chlorku sodowego i 2000 ml octanu etylu, miesza w ciągu 2 godzin i oddziela fazę organiczną. Pozostałą mieszaninę miesza się silnie w ciągu 20 minut w 1000 ml octanu etylu i po oddzieleniu organicznego roztworu ponownie ekstrahuje 1000 ml i 500 ml octanu etylu. Pierwsze dwa wyciągi łączy się, suszy siarczanem sodowym i odparowuje. Do otrzymanej pozostałości dodaje się ksylenu i odparowuje ponownie do sucha. Oba pozostałe organiczne wyciągi traktuje się jednakowo, łączy z uprzednio otrzymaną pozostałością i ekstrahuje raz 500 ml, a następnie dwukrotnie 250 ml gorącego acetonu. Rozpuszczalnik odparowuje, mieszaninę pozostałości odparowuje się do sucha w 500 ml benzenu i surowy produkt rozpuszcza w 1600 ml wrzącego benzenu i przesącza. Do przesącza dodaje się 2 — 3 ml wody i miesza w temperaturze 5°C. Wykryształizowany produkt przemycywa się benzenem i pentanem, suszy na powietrzu i uzyskuje wodzian estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu glioksyłowego w postaci bezbarwnych płytek o temperaturze topnienia 94,5 — 95,5°C. Z ługu macierzystego można otrzymywać jeszcze pewną ilośćżądanego produktu.

Do roztworu 22,5 g surowej soli sodowej dwuwodzianu dwualdehydu malonowego w 500 ml wody dodaje się taką ilość 1 N kwasu siarkowego, aby uzyskać roztwór o wartości pH=9, po czym dodaje się 33,5 g krystalicznego wodzianu estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu glioksyłowego. Po intensywnym wymieszaniu otrzymuje się klarowny, żółty roztwór, który po upływie 1,5—2,5 godzin ewentualnie po przesączeniu doprowadza się do odczynu o wartości pH około 3, za pomocą 150 ml 1 N kwasu siarkowego. Po zainicjowaniu krystalizacji przez zaszczipienie miesza się w ciągu 2—3 godzin w temperaturze 0°C i odsącza. Osad suszy się, uzyskując ester, 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 3,3-dwuformylomlekowego w postaci tautomerycznej o wzorze 11, o temperaturze topnienia 114 — 116°C i pasmach absorpcyjnych w podczerwieni w bromku potasowym przy 5,7 μ , i 6,2 μ oraz widmie absorpcyjnym w pozafiolecie w zakwaszonym etanolu o λ_{maks} 269 m (Σ = 27600).

Roztwór 0,277 g estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3,3-dwuformylomlekowego w 5 ml 1,2-dwumetoksyetanu, mieszając, wkrapla się w atmosferze azotu w ciągu 50 minut do 15 ml słabo wrzącego n-oktanu. Temperaturę kąpeli reguluje się tak, aby równocześnie oddestylowało 10 ml mieszaniny rozpuszczalników. Otrzymuje się ciemno-żółty roztwór, przy czym podczas odszczepiania wody i przy chłodzeniu zaczyna się wydzielać spolimerizowany produkt w postaci kłaczek i żółtobrazowej żywicy. Roztwór dekantuje się i odparowuje pod ciśnieniem 0,2 mm Hg w temperaturze łaźni 30°C. Otrzymuje się ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 3,3-dwuformylomlekowego o wzorze 12, w postaci żółtego oleju, który przy powolnej destylacji pod ciśnieniem 0,001 mm Hg rozkłada się. Jeżeli naczynie z tym produktem pod ciśnieniem 0,001 mm Hg zanurzy się do łaźni olejowej o temperaturze 140°C, to produkt ten sublimuje w ciągu 15 — 30 sekund jako żółty olej, który przy ochłodzeniu

staje się ciągliwy. W widmie MRN w czterochlorowku węgla daje on sygnały przy 4,82 ppm (2H), 7,07 ppm (1H), 9,92 i 10,44 ppm (po 1H), pasma widma absorpcyjnego w podczerwieni w czterochlorowku węgla przy 3,70 μ , 5,75 μ , 5,98 μ , 6,15 μ , 7,35 μ , 8,50 μ , 9,80 μ , i 10,70 μ , a w pozafiolecie w cykloheksanie λ_{maks} 234 m.

Związki wytwarzane sposobem według wynalazku mogą być przerabiane dalej jak niżej opisano.

Przykład XIV. Roztwór 0,07 g estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 3-dezacytyloksymetylo-3-formylo-7- (2-tienyloacetyloamino) — izocefalosporanowego w 5 ml czterowodorofuranu traktuje się 1,35 ml 0,18-molowego roztworu dwuboranu w czterowodorofuranie, otrzymanego metodą Freeguard i in. Chem. und i Ind. 1965, 471. Po odstaniu w ciągu 10 minut w temperaturze pokojowej dodaje się 0,5 ml wody i roztwór odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem. Jako stałą pozostałość otrzymuje się mieszaninę kwasu borowego i szklatego produktu, zawierającą surowy ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 7-(2-tienyloacetyloamino) — dezacytyloizocefalosporanowego oznaczony cyfrą XVII na schemacie 2. Frakcja rozpuszczalna w chlorku metylenu wykazuje w podczerwieni pasma przy 2,65 μ , 2,95 μ , 5,65 μ , około 5,7 μ , i 6,0 μ .

Otrzymaną mieszaninę rozpuszcza się w 2 ml bezwodnika kwasu octowego i 1 ml pirydyny, roztwór pozostawia na okres 5 godzin w temperaturze pokojowej i następnie odparowuje rozpuszczalnik w temperaturze 60°C pod obniżonym ciśnieniem. Pozostałość miesza się z toluenem, odparowuje ponownie rozpuszczalnik, aby całkowicie usunąć składniki lotne. Pozostałość ekstrahuje się 10 ml chlorku metylenu i przesącza wraz z popłuczynami odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymany szklisty produkt w chromatogramie cienkowarstwowym na żel krzemionkowy, układ rozwijający: mieszanina benzenu i octanu etylu użytych w proporcji objętościowej 1:1 oprócz pewnych polarnych zanieczyszczeń, wykazuje praktycznie tylko jedną plamę. R_f = 0,6. Produkt chromatografuje się na przemitym kwasem żelu krzemionkowym w ilości 5 g (roztwór w benzenie wielkość kolumny 100 × 12 cm), pobierając frakcje po 10 ml. Frakcje uzyskane za pomocą 10 ml benzenu i 10 ml mieszaniny 3:1 benzenu i octanu etylu odzruca się. Następne trzy frakcje po 10 ml mieszaniny 3:1 benzenu i octanu etylu eluują czysty ester 2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 7- (2-tienyloacetyloamino) — izocefalosporanowego o wzorze (3) przy czym produkt z frakcji 4 i 5 po przekryształizowaniu z bezwodnego etanolu topnieje w temperaturze 102°C. (α_D = +320° (c = 1,01 w chloroformie), pasma widma absorpcyjnego w podczerwieni w chlorku metylenu przy 2,95 μ , 5,65 μ , 5,7 μ , 5,75 μ , 5,97 μ , 6,2 μ , (ramię), 6,7 μ , 7,3 μ , 7,65 μ , 8,25 μ (mocne), 8,75 μ i 9,75 μ .

Roztwór 0,0466 estru 2,2,2-trójkloroetylowego kwasu 7-(tienyloacetyloamino) — izocefalosporanowego w 7 ml pirydyny pozostawia się na przeciąg 3 dni (stały skręt optyczny (α_D = 249° ÷ 1°) i odparowuje pod obniżonym ciśnieniem, dodając za każdym razem nieco toluenu. Badania za pomocą chromatografii cienkowarstwowej i widma rezonan-

sowego wykazują, że produkt ten jest mieszaniną estru 2,2,2-tróchloroetylowego kwasu 7-(w-tienyloacetyloamino) -cefalosporanowego o wzorze 14 i estru 2,2,2-tróchloroetylowego kwasu 7- (2-tienyloacetyloamino) -izocefalosporanowego zawierającą tę składniki w proporcji wagowej 24 : 76. Mieszaninę rozdziela się drogą chromatografii na 3,5 g oczyszczonego żelu krzemionkowego, przy czym za pomocą 70 ml mieszaniny benzenu i octanu etylu użytych w proporcji objętościowej 9 : 1 i 20 ml mieszaniny benzenu i octanu etylu w proporcji 3 : 1 eluuje się frakcje po 5 ml. Żądany ester 2,2,2-tróchloroetylowy kwasu 7- (2-tienyloacetyloamino) -cefalosporanowego, otrzymany z frakcji 5 — 9, po dwukrotnym przekrystalizowaniu z niewielkiej ilości benzenu wykazuje temperaturę topnienia 120 — 123°C, $(\alpha)_D^{20} = \div 14^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,95$ w chloroformie) oraz pasma widma absorpcyjnego w podczerwieni w chlorku metylenu przy 2,95 μ , 5,60 μ , 5,77 μ , 5,93 μ i 6,70 μ .

Do roztworu 0,1 g estru 2,2,2-tróchloroetylowego kwasu 7- (2-tienyloacetyloamino) -cefalonowego w 1,8 ml 90%-owego roztworu wodnego kwasu octowego dodaje się w ciągu 30 minut porcjami 0,4 g pyłu cynkowego i miesza w ciągu 2 godzin w temperaturze pokojowej, a następnie odwirowuje. Klarowny roztwór odparowuje się kilkakrotnie dodając za każdym razem niewielką ilość toluenu, pozostałość wstrząsa z 5 ml wody, 25 ml toluenu i fazę wodną doprowadza do wartości pH około 2 za pomocą 2 N kwasu solnego. Roztwór organiczny po trzykrotnym przemyciu nasyconym roztworem chlorku sodowego i wysuszeniu odparowuje się a otrzymaną pozostałość krystalizuje z mieszaniny benzenu i octanu etylu. Otrzymuje się kwas 7- (2-tienyloacetyloamino) -cefalosporanowego o wzorze 15. Produkt ten charakteryzuje się temperaturą topnienia 160 — 160,5°C, $(\alpha)_D^{20} = \div 150^\circ$ ($c = 1,03$ w acetonie), widmem absorpcyjnym w podczerwieni w bromku potasowym o pasmach przy 3,10 μ , 5,65 μ , 5,75 μ , 6,05 μ i 6,55 μ i pasmami absorpcyjnymi w pozafioletcie w etanolu λ_{maks} 239 m μ ($\Sigma = 13600$) i 262 m μ ($\Sigma = 7750$).

Przykład XV. Roztwór 0,017 estru 2,2,2-tróchloroetylowego kwasu 3-dezacytyloksymetylo-3-formylo-7 (d-5) karbo-2,2,2-tróchloroetoksy (-5-) 2,2,2-tróchloroetoksykarbonyloamino (-waleryloamino) -izocefalosporanowego w 0,2 ml czterowodorofuranu traktuje się 0,1 ml 0,18 M roztworu dwuboranu w czterowodorofuranie. Po odstaniu w ciągu 10 minut dodaje się kroplami wodę i mieszaninę odparowuje do sucha pod obniżonym ciśnieniem. Ponieważ reakcja nie przebiega całkowicie, przeto reakcję tę prowadzi się dwukrotnie, stosując za każdym razem 0,17 ml roztwór dwuboranu. Po odparowaniu pod obniżonym ciśnieniem otrzymuje się surowy produkt, zawierający ester 2,2,2-tróchloroetylowy kwasu 7- (d-5-) -karbo-2,2,2-tróchloroetoksy (-5-) 2,2,2-tróchloroetoksykarbonyloamino (-waleryloamino) -dezacetyloizocefalosporanowego o wzorze 16. Produkt ten rozpuszcza się w 10 kroplach bezwodnika kwasu octowego i 5 kroplach pirydyny, pozostawia na przeciąg 4 godzin, odparowuje pod obniżonym ciśnieniem i pozosta-

łość chromatografuje na 1 g żelu krzemionkowego, przy czym początkowo eluuje się frakcje za pomocą 10 ml benzenu, a następnie za pomocą 5 ml mieszaniny benzenu i octanu etylu użytych w proporcji objętościowej 4 : 1. Frakcje 4 i 5 traktuje się kilkoma kroplami benzenu i zawiesinę przesącza przez watę i odparowuje w atmosferze azotu. Z frakcji 5 otrzymuje się syropowaty produkt, który krystalizuje z małej ilości 70% etanolu po zainicjowaniu krystalizacji i pocieraniu. Otrzymuje się ester 2,2,2-tróchloroetylowy kwasu 7 (d-5-) karbo-2,2,2-tróchloroetoksy (-5-) 2,2,2-tróchloroetoksykarbonyloamino (waleryloamino) -izocefalosporanowego o wzorze 17, związek ten po krystalizacji z etanolu wykazuje temperaturę topnienia 111 — 114°C, $(\alpha)_D^{20} = \div 220^\circ$ ($c = 1,01$ w chloroformie), pasma absorpcyjne w podczerwieni w chlorku metylenu przy 2,95 μ , 5,65 μ , 5,72 μ , 5,80 μ , 5,97 μ , 6,25 μ i 6,7 μ oraz pasma absorpcyjne w pozafioletcie w etanolu λ_{maks} 250 m μ ($\Sigma = 8900$).

Świeżo przygotowany roztwór 0,2 g tego produktu w 3 ml pirydyny pozostawia się na okres 4 dni w temperaturze 20°C. Po trzykrotnym odparowaniu roztworu pod obniżonym ciśnieniem i każdorazowo z dodatkiem 3 ml toluenu, pozostałość chromatografuje się na 60 g oczyszczonego żelu krzemionkowego, przy czym eluuje się za pomocą 600 ml mieszaniny benzenu z octanem etylu użytych w proporcji 4 : 1 i 100 ml mieszaniny benzenu z octanem etylu w proporcji 3 : 1 i zbiera frakcje po 30 ml. Z frakcji 12 — 14 uzyskuje się czysty ester 2,2,2-tróchloroetylowy kwasu 7- (d-5-) karbo-2,2,2-tróchloroetoksy (-5-) 2,2,2-tróchloroetoksykarbonyloamino (-waleryloamino) -cefalosporanowego, o wzorze 18. Produkt ten po przekrystalizowaniu z czterochlorku węgla, wykazuje temperaturę topnienia 157 — 159°C $(\alpha)_D^{20} = \div 40^\circ$ w chloroformie, pasma absorpcyjne w podczerwieni w chlorku metylenu przy 2,95 μ , 5,63 μ , 5,76 μ , 5,95 μ , 6,1 μ , i 6,7 μ oraz pasma absorpcyjne w pozafioletcie w etanolu λ_{maks} 266 m μ ($\Sigma = 8600$).

Roztwór 0,3 g tego związku w 7,2 ml 90% kwasu octowego traktuje się porcjami 1,8 g pyłu cynkowego i miesza w ciągu 2 godzin w temperaturze pokojowej. Po odwirowaniu odparowuje się klarowny roztwór z osadem, a pozostałość rozpuszcza w 0,5 ml wody i sączy przez warstwę 2 g wymienniczą jonowego (Amberlit I B 45 w postaci octanu). Amberlit przemycia się 20 ml wody i przesącz kieruje przez 5 g innego preparatu wymienniczą jonowego (Dowex 50 X12), a następnie odparowuje pod obniżonym ciśnieniem. Z surowego produktu uzyskuje się cefalosporynę C, o wzorze 19, która po krystalizacji z wody i acetonu topnieje w temperaturze 173 — 175°C z rozkładem a w podczerwieni w oleju parafinowym wykazuje pasma absorpcyjne przy 2,94 μ , 3,06 μ , 5,77 μ , 6,08 μ , 6,29 μ , 6,57 μ , 7,17 μ , 7,36 μ i 7,61 μ . Związek ten przeprowadza się w sól barową w znany sposób, po czym wyodrębnia i oczyszcza. Produkt ten jest identyczny z cefalosporyną C otrzymaną metodą fermentacyjną, co potwierdzają wyniki badań za pomocą chromatografii bibułowej w układach rozpuszczalników; n-butanol — kwas octowy — woda (5 : 1 : 4), n-pro-

panol — octan etylu — woda (7:1:2) i n-propa-
nol : woda (7:1), stosowanych w proporcji objętoś-
ciowej.

Wymienione wyżej reakcje estru 2,2,2-trójkloro-
etylowego kwasu 7- (d-5) karbo-2,2,2-trójkloro-
etoksy (-5-) 2,2,2-trójkloroetoksykarbonyloamino
(-waleryloamino) -cefalospiranowego za pomocą
cynku w 90% kwasie octowym, można również pro-
wadzić korzystnie w temperaturze 0°C.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania pochodnych kwasu 7-ami-
no- 3-dezacyloksymetylo- 3-formyloizocefalospo-
ranowego o ogólnym wzorze 1, w którym Ro oz-
nacza atom wodoru lub resztę acylową, R oznacza
atom wodoru lub resztę alkoholu, **znamienny tym**,
że kondensuje się tiazolidynon-2, o wzorze 2, w
którym Ac oznacza łatwo odszczepialną resztę acy-
lową półestru kwasu węglowego, R₁ i R₂ oznaczają
niższe rodniki alkilowe zwłaszcza rodniki metylo-
we, z estrem kwasu dwuformylometylenometano-
karboksylowego o wzorze 3, w którym Ra oznacza
resztę alkoholu lub z jego admianą tautometryczną,
po czym otrzymany związek o wzorze 4, w którym
Ac, Ra, R₁ i R₂ mają wyżej podane znaczenie lub
jego tautomer, poddaje się działaniu kwaśnego
czynnika, przy czym następuje rozszczepienie pier-
ścienia pięcioczłonowego i wytworzenie nowego
6-członowego pierścienia heterocyklicznego zawie-
rającego azot i siarkę, a następnie w otrzymanym
związku o wzorze 1 ewentualnie acyluje się wolną
grupę aminową w znany sposób i ewentualnie
otrzymaną mieszaninę izomerów rozdziela na po-
szczególne izomery w znany sposób.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że
stosuje się ester kwasu dwuformylometylenokar-
boksylowego z ewentualnie halogenowanym niższym
alkoholem.

3. Sposób według zastrz. 1 i 2, **znamienny tym**,
że reakcję kondensacji tiazolidynonu o wzorze 2,
w którym Ac, R₁ i R₂ mają wyżej pdane znaczenie,
z estrem kwasu dwuformylometylenokarboksyl-
owego prowadzi się w temperaturze 180°, korzyst-
nie 50 — 120°C.

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że
jako kwaśny czynnik stosuje się kwas nieorganicz-
ny lub mocny organiczny kwas tlenowy.

5. Sposób według zastrz. 4, **znamienny tym**, że
jako kwas nieorganiczny stosuje się kwas siarko-
wy, fosforowy lub nadchlorowy.

6. Sposób według zastrz. 4, **znamienny tym**, że
jako mocny tlenowy kwas organiczny stosuje się
mocny organiczny kwas karboksylowy.

7. Sposób według zastrz. 4, **znamienny tym**, że
jako mocny organiczny kwas karboksylowy stosuje
się kwas halogeno-niskoalkanokarboksylowy.

8. Sposób według zastrz. 7, **znamienny tym**, że
jako kwas halogeno-nisko-alkanokarboksylowy sto-
suje się kwas trójfluorooctowy.

9. Sposób według zastrz. 4, **znamienny tym**, że
jako mocny kwas organiczny stosuje się mocny or-
ganiczny kwas sulfonowy.

10. Sposób według zastrz. 1 — 4 **znamienny tym**,
że jako kwaśny czynnik organiczny stosuje się
aprotyczne kwasy Lewisa typu trójfluorku boru
i jego kompleksy lub czterochlorek cyny.

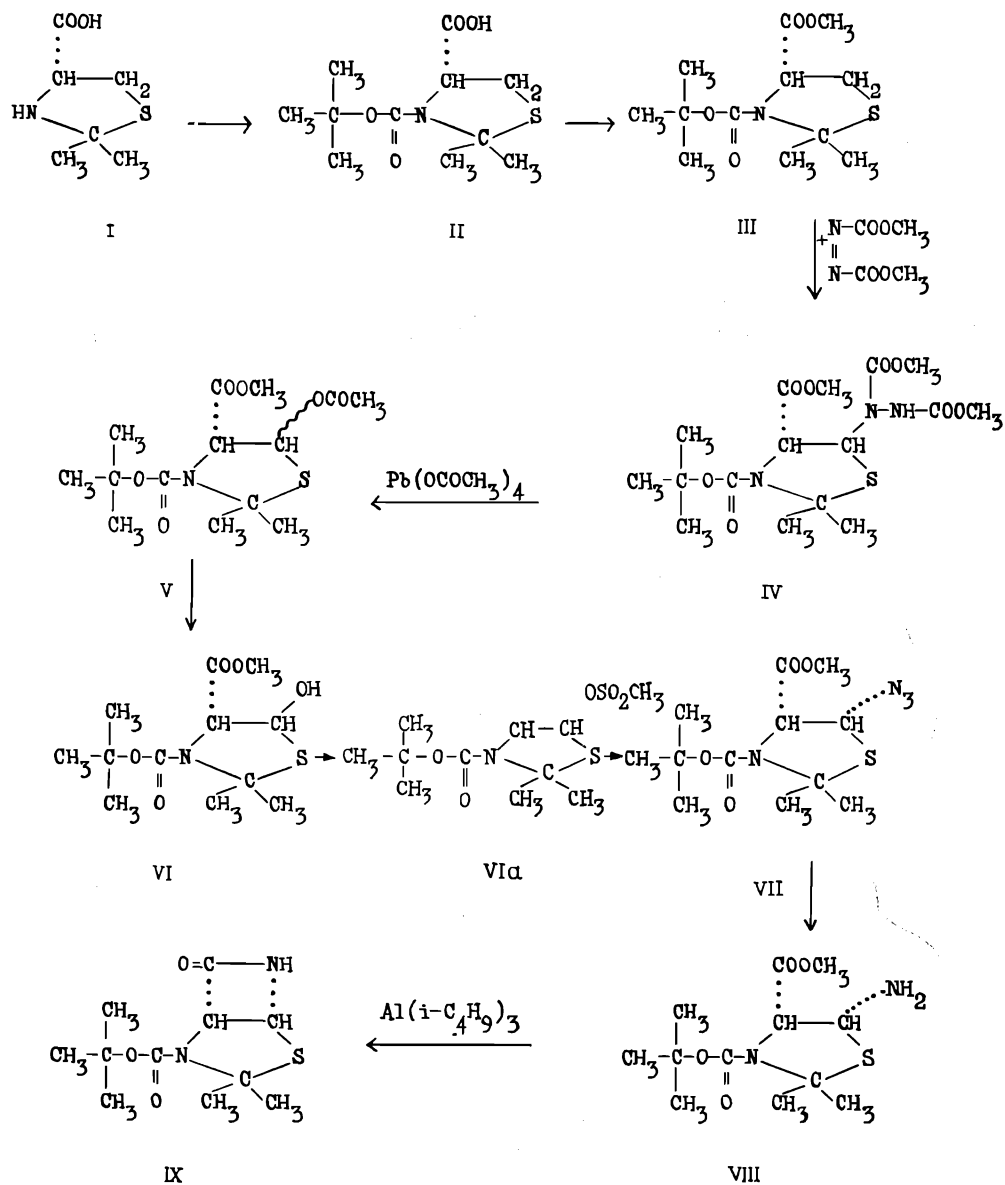
11. Sposób według zastrz. 10, **znamienny tym**, że
jako aprotyczny kwas Lewisa stosuje się trójflu-
orek boru.

12. Sposób według zastrz. 10, **znamienny tym**, że
jako związek kwasu Lewisa stosuje się kompleks
trójfluorku boru z eterem.

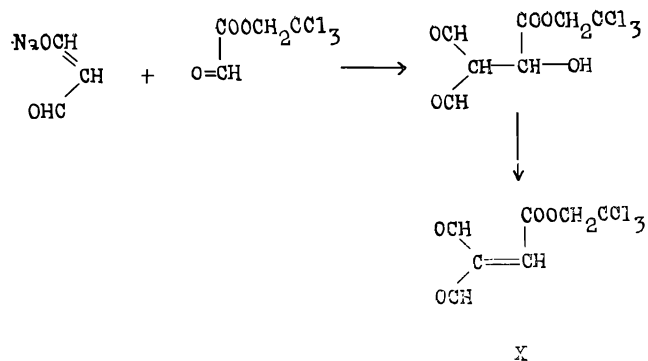
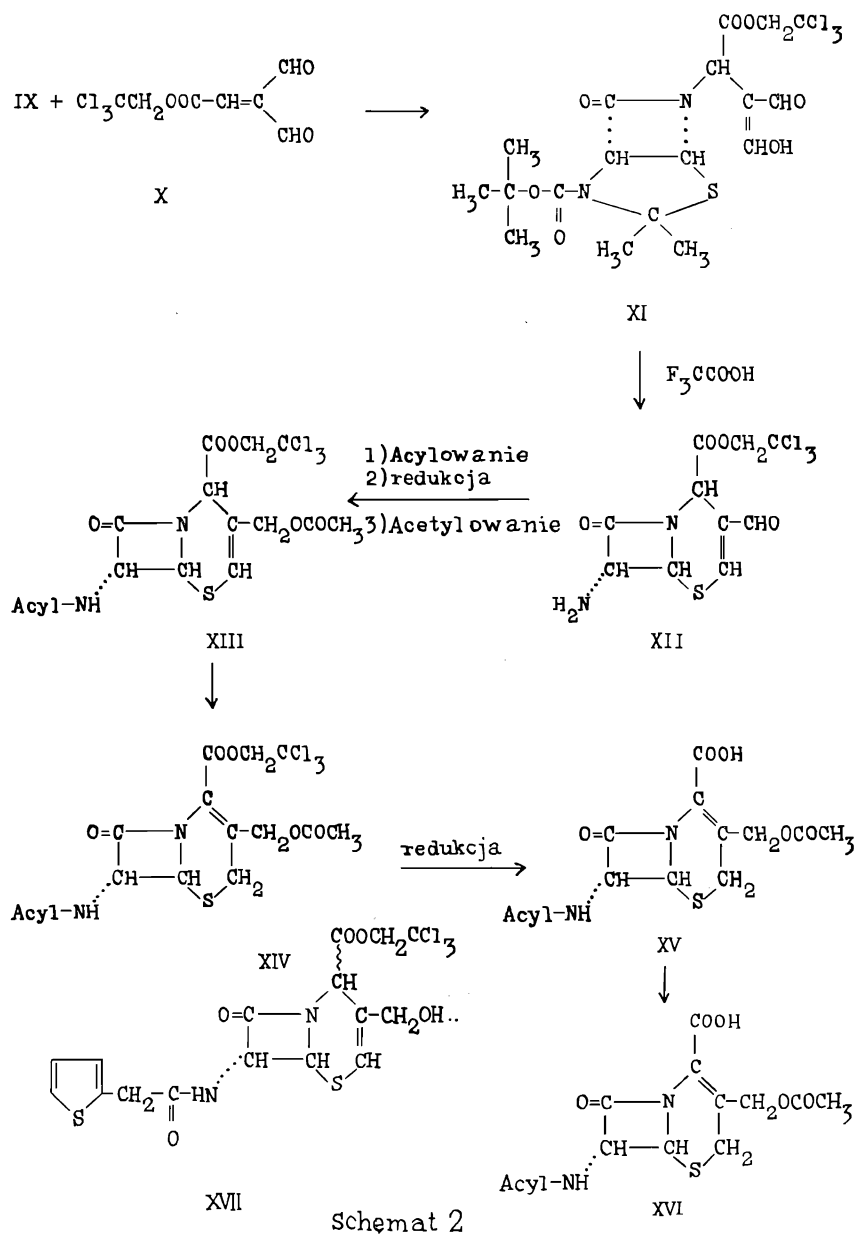
13. Sposób według zastrz. 10, **znamienny tym**,
że jako kompleksowy związek kwasu Lewisa sto-
suje się kompleks trójfluorku boru z kwasem
fluorowodorowym.

14. Sposób według zastrz. 1—3, **znamienny tym**,
że w przypadku wytwarzania estru 2,2,2-trójkloro-
roetylowego kwasu 3-III-rzęd. -butylooksykarbony-
lo-α-dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-
-acetyldyno-[3,2-d]-tiazolidynooctowego o wzorze
5 lub jego izomeru, kondensacji poddaje się ester
2,2,2-trójkloroetylowy kwasu 3,3-dwuformyloakry-
lowego z 3-III-rzęd. butylooksykarbonylo-4, 4-dwu-
metyloacetyldyno [3, 2-d]-tiazolidynonem-2, w bez-
wodnym środowisku organicznych rozpuszczalni-
ków n-oktanu z 1,2-dwumetoksyetanem lub ksyle-
nu. w temperaturze 80-110°C i z otrzymanej mie-
szaniny izomerów wyodrębnia izomer A i B i ich
tautomery.

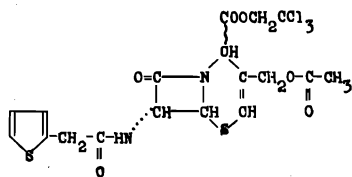
15. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że
w przypadku wytwarzania związku o wzorze 1, w
którym Ro oznacza atom wodoru, resztę 2-tienyloa-
cetylową lub resztę 5-amino-5-karboksywaleryno-
wą, ewentualnie zawierającą osłoniętą grupę amino-
wą i/lub karboksylową, a R oznacza chlorowcowa-
ną niższą resztę alkilową, ester 2,2,2-trójkloroety-
lowy kwasu 3-III-rzęd.-butylooksykarbonylo-α-
-dwuformylometylo-4, 4-dwumetylo-2-keto-1-acety-
ldyno [3,2-d]-tiazolidynooctowego poddaje się reak-
cji z kwasem trójfluorooctowym prowadzonej do
rozszczepienia pierścienia pięcioczłonowego i wy-
tworzenia pierścienia sześcioczłonowego przy rów-
noczesnym zmydleniu grupy acylowej i otrzymany
związek oznaczony cyfrą XII na schemacie 2, od-
powiadający związkowi o wzorze 1, w którym Ro
oznacza atom wodoru, a R ma wyżej podane zna-
czenie lub jego tautomer, albo acyluje się chlor-
kiem kwasu 2-tienylooctowego w środowisku suche-
go benzenu w obecności pirydyny do wytworzenia
związku o wzorze 6 w postaci izomerów C i D,
lub acyluje się dwuchlorkiem kwasu N-2,2,2-trójk-
chloroetoksykarbonylo-D -α-aminoadypinowego w
środowisku bezwodnego czterowodorofuranu w obec-
ności pirydyny lub dwucykloheksylokarbodwuimi-
du i uzyskuje związek o wzorze 1, w którym Ro
i R mają wyżej podane znaczenie, w postaci mie-
szaniny izomerów o wzorze 7 oraz 8 i związku o
wzorze 9 lub związku o wzorze 10.



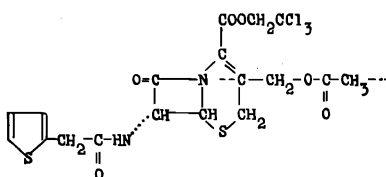
Schemat 1



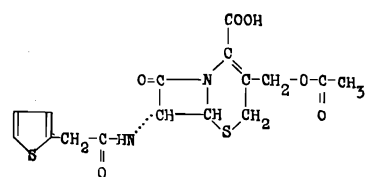
Schemat 3



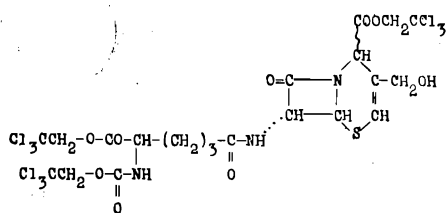
Wzór 13



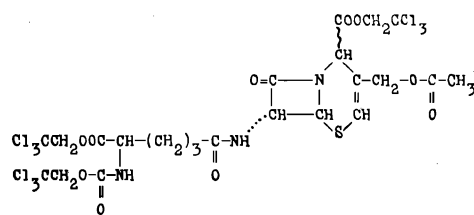
Wzór 14



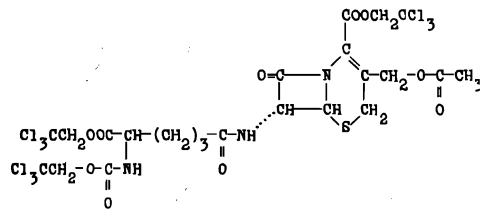
Wzór 15



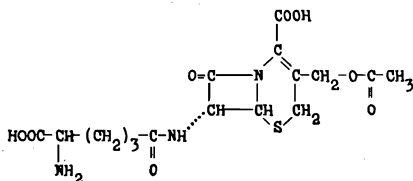
Wzór 16



Wzór 17



Wzór 18



Wzór 19