



Patent dodatkowy  
do patentu \_\_\_\_\_

Zgłoszono: 14.VII.1964 (P 105 189)

Pierwszeństwo: 15.VII.1963 dla zastrz.  
1—9 W. Brytania  
09.IV.1964 dla zastrz.  
12, 13, 16—36 W. Brytania

Opublikowano: 10.VI.1967

Kl. 12 p, 4/01

MKP C 07 d

99/24

UKD

Współtwórcy wynalazku: Brian Richard Cowley, Szephen Fardley, Gordon Jan Gregory, John Kevin Lazenby, Alan Gibson Long

Właściciel patentu: Glaxo Laboratories Limited, Greenford (Wielka Brytania)

### Sposób wytwarzania pochodnych cefalosporyny

1

Wynalazek dotyczy sposobu wytwarzania pochodnych cefalosporyny C o wzorze 1, w którym R<sup>1</sup> oznacza grupę acylową, przy czym pierścień pirydynowy może być podstawiony jednym lub kilkoma atomami lub grupami.

W celu wytworzenia 7-acyloamidowych pochodnych cefalosporyny C przedstawionej wzorem 2, w którym R oznacza grupę  $\alpha$ -aminoadipylową przeprowadza się cefalosporynę C w kwas 7-aminocefalosporanowy (7-ACA) i acyluje się uzyskaną aminę rozmaitymi czynnikami acylującymi. Na przykład, kwas 7-fenylaoacetoamidocefalosporanowy (7-PAC), wytworzony drogą reakcji 7-ACA z halogenkiem fenylaoacetylowym, wykazuje dużo większą aktywność wobec pewnych ustrojów, niż cefalosporyna C. W ten sposób można wytworzyć związki o wzorze 2, w którym R oznacza grupę acylową inną niż  $\alpha$ -aminoadipylową.

Aktywność związków o wzorze 2, w którym R oznacza grupę acylową,  $\alpha$ -aminoadipylową lub inną, można zmodyfikować drogą reakcji z nukleofilem, którym można zastąpić grupę octanową znajdującą się przy egzocyklicznym rodniku metylenowym. Otrzymuje się wtedy związki o wzorze 3, w którym R<sup>1</sup> oznacza grupę acylową, a Z oznacza resztę nukleofilu. Z może na przykład oznaczać grupę pirydyniową, a R<sup>1</sup> — fenylaoacetylową, jak w związku o wzorze 4, który wytwarza się drogą reakcji pirydyny z 7-PAC w środowisku wodnym. Według belgijskiego opisu patentowego nr 617687

2

Z może również oznaczać resztę nukleofilu zawierającego siarkę.

Związki o wzorze 3, w którym Z oznacza grupę pirydyniową lub podstawioną grupę pirydyniową, wykazują interesujące właściwości antybiotyczne. Dotychczasowe sposoby ich wytwarzania prowadzą jednak do osiągania niskiej wydajności produktu. Tak na przykład, w wyniku reakcji 7-PAC z pirydyną w środowisku wodnym według Hale'a, Newton'a i Abrahama, Biochem. J., (1961) 79, str. 403, uzyskano wydajność zaledwie 22%.

Z drugiej strony, w wyniku reakcji kwasów 7-acyloamidocefalosporanowych z siarkowymi nukleofilami, można uzyskać wyższą wydajność, lecz wytworzone związki wykazują niekorzystną słabą rozpuszczalność w wodzie, co zmniejsza ich praktyczne zastosowanie jako antybiotyków. Próby zastąpienia siarkowej reszty nukleofilowej nukleofilem typu pirydyny nie przyniosły sukcesu.

Stwierdzono, że zastąpienie to ułatwia zastosowanie pewnych soli metali. Wydajność wytworzonych pirydyniowych lub podstawionych pirydyniowych pochodnych cefalosporyny jest co najmniej równa, a nawet wyższa od wydajności związków wytworzonych drogą bezpośredniej reakcji.

Przedmiotem wynalazku jest więc sposób wytwarzania pochodnych cefalosporyny o wzorze ogólnym 1, w którym R<sup>1</sup> oznacza grupę acylową, przy czym pierścień pirydynowy może być podstawiony jednym lub kilkoma atomami lub grupami.

Sposób ten polega na reakcji związku siarkowego o wzorze ogólnym 5, w którym  $R^2$  oznacza grupę acylową lub atom wodoru, reszta  $-S-Y$  oznacza resztę nukleofilu, a  $X$  oznacza kation na przykład wodor, metal alkaliczny, grupę amoniową lub czwartorzędową grupę amoniową, z pirydyną lub podstawioną pirydyną, w roztworze soli rtęci, srebra lub złota, która to sól może tworzyć kompleks z resztą  $-S-Y$  i dysocjować w wodzie, a następnie w przypadku, gdy  $R^2$  oznacza atom wodoru, acylowemu otrzymanemu związkowi.

Należy zwrócić uwagę, że ponieważ reakcja zachodzi przy egzocyklicznym rodniku metylenowym, grupy  $R^1$  i  $R^2$  nie mają istotnego znaczenia dla przebiegu reakcji.

Związek o wzorze 5 wytwarza się drogą reakcji związku o wzorze 6, w którym  $R^2$  i  $X$  mają znaczenie wyżej podane, z nukleofilem zawierającym siarkę (YSH lub jego sól) lub sposobem opisanym w belgijskim opisie patentowym nr 621.452. Jako odpowiednie nukleofile zawierające siarkę stosuje się np. nukleofile opisane w belgijskim opisie patentowym nr 617 687, czyli tiosiarczany, merkaptany, tiomoczniki, tioamidy lub tiofenole.

Dobre wyniki osiągnięto stosując 2-merkaptopirymidyny, np. 2-merkaptio-4-metylopiyrymidyny i tiosiarczany metalu alkalicznego. Można również stosować dwutiokarbaminiany opisane w belgijskim opisie patentowym nr 637 547, lub związki o wzorze  $R^3CZ-SH$  lub  $R^3SO_2SH$ , w których  $Z$  oznacza siarkę lub tlen, a  $R^3$  oznacza rodnik alifatyczny, aryłowy, aralifatyczny, heterocykliczny lub rodnik alifatyczny podstawiony grupą heterocykliczną bądź też ich rozpuszczalne sole. Można poza tym również stosować związki o wzorze  $Alk-O-COSH$ , w którym  $Alk$  oznacza rodnik alkilowy lub ich rozpuszczalne sole.

Szczególnie dobre wyniki uzyskano stosując kwas tiobenzoowy i jego sole z metalami alkalicznymi, np. tiobenzoosan sodowy, związki o wzorze 7, w którym grupa  $HS-CO$  jest związana w pozycji  $\alpha$ ,  $\beta$ , lub  $\gamma$ , korzystnie  $\alpha$  lub  $\gamma$ ,  $R^4$  oznacza rodnik alkilowy o 1 — 4 atomach węgla lub pierścień benzoowy, a  $n$  oznacza 0, 1 lub 2, ich sole z metalami alkalicznymi, np. kwas tiopikolinowy i tiopikolinian sodowy, oraz związki o wzorze 8, w którym  $m$  oznacza 0 lub 1,  $Q$  oznacza tlen, siarkę,  $NH$  lub azot podstawiony grupami alkilowymi o 1 — 4 atomach węgla, a  $R^4$  i  $n$  mają znaczenie wyżej podane i ich sole z metalami alkalicznymi, np. 2-tiolo-karboksymetylotiofen i jego sól sodową. W przypadku gdy  $Q$  oznacza  $NH$ , podczas wytwarzania tio-kwasu może zająć konieczność ochrony atomu wodoru. Stosując powyższe nukleofile uzyskano wysoką wydajność związku o wzorze 5.

Związki o wzorze 5 można wytwarzać sposobami opisanymi w belgijskich opisach patentowych nr 617 687 i 637 547.

$R^1$  w związku o wzorze 1 oznacza grupę acylową lub pochodną acylową o wzorach:  $R'(CH_2)_nCO$ , w którym  $R'$  oznacza fenyl, cykloalkil, podstawiony fenyl, podstawiony cykloalkil albo grupę zawierającą  $O$ ,  $N$  lub  $S$ , zwłaszcza pięcio- lub sześciocłonowy pierścień heterocykliczny, a  $n$  oznacza 1 — 4, przy czym przykładami tych pochodnych są feny-

loacetyl, nitrofenyloacetyl, fenylopropionyl, cyklopentyloacetyl, tienylo-3-acetyl i cykloheksyloacetyl;  $C_nH_{2n} + CO$ , w którym  $n$  oznacza 2 — 7, rodnik alkilowy może być prosty lub rozgałęziony i może zawierać w łańcuchu atom tlenu lub siarki, bądź może być podstawiony jednym lub kilkoma atomami chlorowca, przy czym przykładami tych grup są heksanoil, heptanoil, oktanoil i butylotioacetyl.

$C_nH_{2n} + CO$ , w którym  $n$  oznacza 2 — 7, rodnik alkenyloowy może być prosty lub rozgałęziony i może zawierać w łańcuchu atom tlenu lub siarki, przy czym przykładami takich grup są akrylil, krotonyl, i alilotioacetyl;  $R'OCR''R'''-CO$ , w którym  $R'$  ma znaczenie wyżej podane lub oznacza rodnik alkilowy, a  $R''$  i  $R'''$ , różniące się lub nie różniące między sobą, oznaczają atomy wodoru lub rodniki alkilowe, aryłowe lub heterocykliczne, przy czym przykładem takiej grupy jest fenoksyacetyl;  $R'SCR''R'''-CO$ , w którym  $R'$ ,  $R''$  i  $R'''$  mają znaczenie wyżej podane, przy czym przykładami takich grup są S-fenyloacetyl, S-chlorofenyloacetyl i S-bromofenyloacetyl;  $R'(CH_2)_mS(CH_2)_nCR''R'''-CO$ , w którym  $R'$ ,  $R''$  i  $R'''$  mają znaczenie podane wyżej,  $m$  oznacza 1 — 4, a  $n$  oznacza 0 lub 1 — 4, przy czym przykładami takiej grupy są  $\beta$ -benzylotioacetyl, benzylotiopropionyl i  $\beta$ -fenyloacetyl;  $R'CO$ , w którym  $R'$  ma znaczenie wyżej podane, przy czym przykładami takich grup są benzoil, podstawiony benzoil i cyklopentanoil.

Korzystnie  $R^1$  oznacza grupę acylową o pierwszym z powyższych wzorów  $R'(CH_2)_nCO$ .

Należy zaznaczyć, że  $R^1$  może oznaczać  $\alpha$ -aminoadipyl, czyli grupę acylową cefalosporyny C lub jakąkolwiek grupę acylową zawierającą grupę aminową, np. grupy opisane w belgijskim opisie patentowym nr 635 137.

W procesie prowadzonym sposobem według wynalazku zamiast pirydyny można stosować podstawione pirydyny, takie jak  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -pikolina, lutydyny, amid kwasu nikotynowego, amid kwasu izonikotynowego, kwas nikotynowy, kwas izonikotynowy oraz ich estry. Reagent pirydynowy nie powinien korzystnie zawierać siarki. Jeżeli grupa  $A^1$  zawiera siarkę lub atom chlorowca, to reagent pirydynowy może również atakować tę grupę.

Rodzaj stosowanej pirydyny zależy od rodzaju żadanego produktu końcowego i jego właściwości przeciwbakteryjnych. Reagentem pirydynowym może więc być sama pirydyna lub związek o wzorze 9, w którym  $R^5$  oznacza niższy alkil, karbamyl, karbamyl podstawiony przy azocie niższym rodnikiem alkilowym, karbamyl dwupodstawiony przy azocie niższymi rodnikami alkilowymi, niższy alkoksylkarbonyl, niższy alkil podstawiony grupą hydroksylową, karbamyl podstawiony przy azocie niższym rodnikiem alkilowym podstawionym grupą hydroksylową lub niższy alkil podstawiony grupą karbamylową, a  $p$  oznacza 1 — 3.

Terminy „niższy alkil” i „niższa grupa alkoksylowa” oznaczają tu grupy zawierające 1—6, korzystnie 1—2 atomów węgla. Cząsteczka pirydyny mo-

że być podstawiona dwoma lub więcej różnymi rodzajami grupy  $R^5$ .

Jako sole metalu stosuje się sole srebra, rtęci lub złota z tym, że szczególnie korzystne są sole rtęciowe ( $Hg^{++}$ ). Skuteczność reakcji zależy również od innych czynników, takich jak rodzaj anionu soli, rodzaj kationów, wytwarzanych w roztworze wodnym oraz rozpuszczalność soli w wodzie.

Korzystnie stosuje się sól o wzorze  $HgD_2$  lub  $HgD$  wytwarzającą w roztworze wodnym kationy  $Hg^{++}$  i/ albo  $HgD^+$  (korzystnie ten pierwszy rodzaj) gdzie D— oznacza anion słabo nukleofilowy, sól rtęci z dwu- lub wielowartościowym anionem  $Hg_nE_n$ , gdzie E oznacza anion n-wartościowy, przy czym n oznacza 2 lub więcej, albo sól o wzorze  $Ag_mF$ , w którym F oznacza m-wartościowy anion słabo nukleofilowy, przy czym m oznacza 1 lub więcej.

Anion soli winien być zasadniczo anionem nieutleniającym w stosunku do związku o wzorze 5, a zwłaszcza do reszty -S-Y w warunkach reakcji i winien być korzystnie anionem silnego kwasu, np. kwasu o wartości  $pK_a$  w roztworze wodnym mniejszej od 2, co ułatwia tworzenie się żądanych kationów.

Nukleofilowe właściwości anionu mogą rywalizować z właściwościami wybranego nukleofilu, pożądane jest zatem, aby stała nukleofilowa anionu była mniejsza od stałej nukleofilowej jonu octanowego dla zwykłego jednostopniowego podstawienia nukleofilowego w środowiskach wodnych przy tetraedrycznym centrum węglowym (patrz np. Hine'a „Physical Organic Chemistry”, Mc Graw-Hill, (1962), str. 159 — 161).

Sole rtęciowe z anionami o stałej nukleofilowej mniejszej od stałej jonu octanowego powodują zwykle szybki przebieg reakcji. Ważnym czynnikiem jest również rozpuszczalność soli w wodzie; siarczan rtęciowy daje w wodzie aniony o stałej nukleofilowej nieco mniejszej od stałej octanu, lecz jest słabiej rozpuszczalny w wodzie od octanu rtęciowego i, jak stwierdzono, jest gorszym promotorem przy podstawianiu reszty tiobenzylowej.

Jako sole rtęci i srebra o powyższych cechach stosuje się nadchloran, azotan, trójfluorooctan i czterofluoroboran. Również nadchloran rtęciawy posiada żądane właściwości.

Sól metalu stosuje się w ilości co najmniej równoważnej do ilości związku o wzorze 5, korzystnie w kilkakrotnym nadmiarze, np. 2 — 5 równoważników.

Zamiast stosować oddzielnie sól metalu i związek o wzorze 5, można stosować sól odpowiedniego metalu ze związkiem o wzorze 5, np. sól srebra, którą wytwarza się wstępnie lub in situ w mieszaninie reakcyjnej.

Ponieważ reagenty pirydynowe reagują z solami metali tworząc kompleksy, kompleksy te można stosować zamiast pojedynczych soli metali. Na przykład pirydyna i nadchloran rtęciowy reagują w wodzie tworząc związek prawdopodobnie o wzorze 10. Zastosowanie kompleksów zamiast pojedynczych soli metali jest korzystne wtedy, gdy sole takie ulegają rozkładowi w roztworze wodnym; umożliwia ono bowiem dokładniejszą kontrolę stężenia jonów metalu.

Jako środowisko reakcyjne stosuje się korzystnie wodę, mimo, że może ona wejść w reakcję i rywalizować jako nukleofil z reagentem pirydynowym. Choć można pomyślnie prowadzić reakcję w środowisku niewodnym, najlepszą wydajność przy tych samych pozostałych czynnikach, osiąga się przy zastosowaniu wody jako środowiska reakcyjnego, prawdopodobnie dlatego, że ułatwia ona tworzenie się żądanych kationów soli metalu, które z kolei stanowią o pomyślnym przebiegu reakcji. Wodę wprowadza się do reakcji stosując roztwór wodny reagentu pirydyny bądź soli metalu lub też dodaje się ją do innych reagentów.

Jeżeli reagent pirydynowy słabo rozpuszcza się w wodzie, to dla zwiększenia rozpuszczalności stosuje się mieszające się z wodą rozpuszczalniki organiczne. Reakcję prowadzi się korzystnie w temperaturze  $20^\circ - 100^\circ C$ , przy czym szczególnie korzystną jest temperatura w granicach  $35^\circ - 71^\circ C$ . Zasadniczo reakcję prowadzi się w czasie krótszym niż przy bezpośrednim podstawieniu grupy octanowej, co zmniejsza reakcje uboczne.

Przebieg reakcji śledzi się przy pomocy elektroforezy bibulowej. Związki o wzorze 1 są zwykle betainami, jednak przy  $pH = 1,9$  zachowują się one jak słabe zasady tak, że można je wyosobnić z surowych mieszanin drogą elektroforezy bibulowej. Frakcje występują w postaci ciemnych plam widocznych pod światłem nadfioletowym; strefę wycina się i nawadnia po czym ustala się ilość betainy na podstawie absorpcji wodnego roztworu w nadfiolecie. Na przykład, w przypadku gdy  $R^1$  w związku o wzorze 1 oznacza tlenoacetyl, stosunek gęstości optycznej przy  $240 m\mu$  do gęstości optycznej w paśmie  $255 m\mu$  określa czystość frakcji. Dla tej szczególnej betainy stosunek ten winien wynosić  $1,09 : 1$ , a  $E_{1cm}^{1\%} - 384$  w paśmie  $240 m\mu$  i  $351$  w paśmie  $255 m\mu$ .

Po zakończeniu reakcji, otrzymany produkt zawiera sól reszty -S-Y, którą można odsączyć. Pozostałe jony metaliczne usuwa się przez strącenie, np. w postaci ich siarczków, przy pomocy  $H_2S$ . Produkty końcowe są rozpuszczalne w wodzie; oczyszcza się je z zanieczyszczeń kwasowych przez perkolowanie przez żywicę anionitową. Wodne eluaty stęża się następnie drogą zamrożenia, a osad oczyszcza się przez krystalizację.

Ze względu na to, że obecność soli rtęci, srebra lub złota jest konieczna dla pomyślnego przebiegu reakcji oraz, że sole te pełnią funkcję jonizującą, zadziwiający jest fakt, że reakcję można prowadzić w zasadniczo niewodnych środowiskach organicznych bez względu na stopień ich biegunowości, przy czym warunki reakcji i reagenty są zwykle inne niż w warunkach opisanych wyżej. Reakcję prowadzi się jednak w dowolnej temperaturze aż do temperatury wrzenia mieszaniny reakcyjnej, odpowiedniej do trwałości reagentów. Przebieg reakcji śledzi się przy pomocy elektroforezy, tak jak przy zastosowaniu środowiska wodnego.

Można więc stosować jako środowisko nityle niższego kwasu alkanokarboksylowego, np. acetonitryl lub propionitryl; chlorowcowane węglowodory, np. chlorek metylenu, czterochlorek węgla, chloroform, chlorek etylenu lub czterochloroetylen, niższe nitroalkany, np. nitrometan; związki nitro-

we aromatyczne, np. nitrobenzen; etery cykliczne np. dioksan lub czterowodorofuran; amidy o wzorze ogólnym  $R^6-CO-NR^7-R^8$ , w którym  $R^6$  oznacza atom wodoru lub rodnik alkilowy o 1—5 atomach węgla, a  $R^7$  i  $R^8$ , różniące się lub nie różniące między sobą, oznaczają atomy wodoru lub rodniki alkilowe o 1—5 atomach węgla, bądź  $R^7$  i  $R^8$  tworzą dwuwartościową grupę alifatyczną, która wraz z sąsiednim atomem azotu stanowi pierścień heterocykliczny.

Przykładami takich amidów są N,N-dwumetyloformamid, N,N-dwuetyloformamid, N,N-dwumetyloacetamid, formamid i N-metyloformamid. Poza tym można stosować piroolidony podstawione przy azocie niższym rodnikiem alkilowym, np. N-metylopirolidon i sulfotlenki dwupodstawione niższymi rodnikami alkilowymi np. dwumetylosulfotlenek (choć ten ostatni tworzy mieszaninę wybuchową z nadchlorem rtęciowym).

Reagenty pirydynowe mogą być stosowane jako środowisko reakcyjne, o ile występują w stanie ciekłym w temperaturze reakcji.

Środowisko reakcji nie musi być ciekłe w temperaturze pokojowej. Można tu stosować substancje stałe, np. formamid, o ile przechodzą one w stan ciekły w temperaturze reakcji.

Kompleksy reagentów pirydynowych i soli metali stosuje się korzystnie w środowiskach niewodnych dzięki ich dobrej rozpuszczalności w tych środowiskach.

W praktyce, związek o wzorze 5 rozpuszcza się lub zawiesza w wybranym środowisku zawierającym reagent pirydynowy, korzystnie w nadmiarze; dogodnym stosunkiem reagentu pirydynowego i środowiska jest stosunek 1:1. Następnie dodaje się sól, np. nadchlorem rtęciowy, w ilości 2 równoważników molowych w stosunku do jednego równoważnika związku o wzorze 3, przy czym zaleca

się utrzymywanie tego stosunku poniżej 6:1. Reakcję prowadzi się w temperaturze około 50°C. Przy stosunku 2:1 większość rtęci strąca się, tak, że unika się dalszych kroków (np. przepuszczenia siarkowodoru) w celu jej usunięcia.

Pochodną pirydynową ekstrahuje się wodą w niemal czystym stanie, po czym usuwa się nadmiar reagentu pirydynowego przez ponowną ekstrakcję, np. chlorkiem metylenu. Zanieczyszczenia jonowe usuwa się z fazy wodnej przy pomocy odpowiednich wymienników jonowych. Betainę otrzymuje się w postaci osadu przez odparowanie bądź też strąca się ją jako sól przez dodanie kwasu, np. kwasu azotowego lub nadchlorowego, jak podano w brytyjskim opisie patentowym nr 43441/63.

Poniższe przykłady objaśniają wynalazek. Nazwy związków w przykładach pochodzą od substancji cefam według wzoru 11.

Przykłady I — XIa. Wytwarzanie tiokwasów i ich soli sodowych.

Tiokwasy i ich sole sodowe wytwarza się:

A. Z chlorków kwasowych sposobem przeznaczonym do wytwarzania kwasu tiobenzoesowego (Organic Synthesis, (1952), 32, str. 101), kwasu tianisowego (Block i Bergmann, Ber. (1920), 53, str. 975), kwasu p-nitrotiobenzoesowego (Khaletskij i Janowickaja, J. Gen. Chem. USSR., (1949), 19, str. 1193); C.A., (1950), 44 str. 2952), kwasu 2-tiopiroluzowego (Patton, J. Amer. Chem. Soc. (1949), 71, str. 3571) i kwasu tionikotynowego (Bohm i Michalski, Roczniki Chem., (1954), 28, str. 501).

B. Z mieszaniny bezwodnika z chloromrówczanem etylowym, jak opisano przez Cronyn i Jui. w J. Amer. Chem. Soc., (1952), 74, str. 4726).

W tablicy I podaje się właściwości tiokwasów i ich soli.

Tablica I

| Przykład<br>Nr | W z ó r               | Me-<br>to-<br>da | Tempe-<br>ratura<br>topnie-<br>nia | max<br>m p.              | ε               | Stwierdzono |     |      |      | W z ó r<br>empiryczny          | Wymagane |      |      |      |
|----------------|-----------------------|------------------|------------------------------------|--------------------------|-----------------|-------------|-----|------|------|--------------------------------|----------|------|------|------|
|                |                       |                  |                                    |                          |                 | C           | H   | N    | S    |                                | C        | H    | N    | S    |
| I              | $p-CH_3O-C_6H_4COSNa$ | A                | —                                  | 261<br>293               | 9,930<br>11,500 | 50,4        | 3,9 | —    | 16,4 | $C_8H_7O_2SNa$                 | 50,5     | 3,7  | —    | 16,9 |
| II             | $p-CN-C_6H_4COSH$     | A                | —                                  | 245<br>290-1<br>6,460    | 17,200<br>6,460 | 59,2        | 3,2 | 8,9  | 19,1 | $C_8H_5NOS$                    | 58,9     | 3,1  | 8,6  | 19,7 |
| III            | $p-CN-C_6H_4COSNa$    | A                | —                                  | 243<br>290<br>6,750      | 17,350<br>6,750 | 47,2        | 2,3 | 7,3  | 16,3 | $C_8H_4NOSNa \cdot H_2O$       | 47,3     | 3,0  | 6,9  | 15,8 |
| IV             | $o-NO_2-C_6H_4COSNa$  | A                | 90-1                               | 249                      | 13,070          | 39,5        | 2,4 | 7,0  | 14,8 | $C_7H_4NO_3SNa \cdot 1/2 H_2O$ | 39,25    | 2,35 | 6,5  | 15,0 |
| V              | $o-CH_3O-C_6H_4COSNa$ | A                | 174-5                              | 259                      | 6,350           | 49,4        | 4,0 | —    | 18,3 | $C_8H_7NaO_2S \cdot 1/2 H_2O$  | 49,4     | 3,9  | —    | 16,5 |
| VI             | $o-CH_3S-C_6H_4COSNa$ | A                | —                                  | 258-9                    | 9,800           | 47,0        | 3,5 | —    | 30,8 | $C_8H_7OS_2Na$                 | 46,6     | 3,4  | —    | 31,1 |
| VII            | wzór 12               | B                | 130-1                              | 263-4<br>311-3<br>4,000  | 6,180<br>4,000  | 51,8        | 3,9 | 10,4 | 22,9 | $C_6H_5NOS$                    | 51,8     | 3,6  | 10,1 | 23,0 |
| VIII           | wzór 13               | A                | —                                  | 258<br>308<br>8,300      | 9,750<br>8,300  | 34,5        | 2,3 | —    | 34,5 | $C_5H_3OS_2Na \cdot 1/2 H_2O$  | 34,3     | 2,3  | —    | 36,6 |
| IX             | wzór 14               | A                | —                                  | 260-1<br>300<br>11,600   | 8,080<br>11,600 | 38,3        | 2,8 | —    | 18,1 | $C_5H_3O_2SNa \cdot 1/2 H_2O$  | 37,7     | 2,5  | —    | 20,1 |
| X              | wzór 15               | B                | 162                                | 239-40<br>281-2<br>7,100 | 31,600<br>7,100 | 53,0        | 4,0 | 7,8  | 16,4 | $C_{10}H_7NOS$                 | 63,4     | 3,7  | 7,4  | 16,9 |
| XI             | wzór 16               | A                | —                                  | 239                      | 14,200          | —           | —   | —    | —    | $C_6H_5OS_2Na$                 | —        | —    | —    | —    |
| XIa            | wzór 17               | B                | 160                                | 271-3<br>305 inf         | 5,000<br>3,060  | 51,8        | 3,7 | 9,8  | 22,6 | $C_6H_5NOS$                    | 51,8     | 3,6  | 10,1 | 23,0 |

inf = ugięcie (załamanie)

Przykład XII. Wytwarzanie kwasu 3-pikolinoilotiometrylo-7-(2'-tienyloacetamido) - cefemo-3-karboksyowego-4.

a) 13,9 g (100 milimoli) kwasu tiopikolinowego rozpuszcza się w 250 ml wody zawierającej 8,4 g (100 milimoli) kwaśnego węglanu sodowego i uzyskany roztwór miesza się z roztworem 20,9 g 7-(2'-tienyloacetamido)-cefalosporanianu sodowego w 250 ml wody i mieszaninę tę ogrzewa się w ciągu 29 godzin w temperaturze 50°C w atmosferze azotu.

Następnie ochładza się ją i odsącza szarawobiałe osady, z którego po wysuszeniu otrzymuje się 11,6 g (46,7%) surowej soli sodowej. Sól tę w połączeniu z 290 ml acetonu i 290 ml wody wstrząsa się z 500 ml octanu etylu i zakwasza 12,5 ml 2N kwasu solnego. Warstwę wodną (pH około 2) ekstrahuje się dwukrotnie po 250 ml octanu etylu, a połączone ekstrakty płucze się kolejno 250 ml 10 procentowego chlorku sodowego i 2 x 250 ml wody, po czym suszy się je nad siarczanem sodowym.

Po odparowaniu do objętości około 50 ml otrzymuje się 10,44 g (43,9%) białego krystalicznego produktu stałego o  $[\alpha]_D^{25} - 78,6^\circ$  (c — 0,85 w dioksanie),  $\lambda$  max. (H<sub>2</sub>O) 274 — 276 m $\mu$

( $\epsilon$  — 17,500) i 232 m $\mu$  ( $\epsilon$  — 21,700).

Stwierdzono: C — 50,8% H — 3,65%

C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub>S<sub>3</sub> wymaga: C — 50,5% H — 3,6%.

Substancja ta daje zadowalające widma w podczerwieni oraz protonowego rezonansu magnetycznego, a chromatografia bibułowa z zastosowaniem mieszaniny octanu etylu, n-butanolu, 0,1 M octanu sodowego (pH 5,0) w stosunku 8:1:8, ujawnia tylko jedną plamę, przy czym stosuje się papierek Whatman'a nr 1 buforowany 0,1M octanem sodowym (pH — 5,0).

Wydażność 59 — 63% uzyskuje się prowadząc reakcję przy niższej wartości pH, np. 4,5 — 5. W przykładach tych do mieszaniny reakcyjnej zawierającej kwaśny fosforan dwusodowy wprowadza się powoli kwas fosforowy, do uzyskania żądanej wartości pH.

Jeszcze wyższą wydażność uzyskuje się prowadząc reakcję w wyższej temperaturze i w ciągu krótszego okresu czasu oraz stosując wartość pH 3,6 — 4,6 uzyskaną przy pomocy roztworu kwasu tiopikolinowego z 7-(2'-tienyloacetamido)-cefalosporanianem sodowym, jak wynika z przykładu XII b.

b) 6,8 g kwasu tiopikolinowego rozpuszcza się mieszając w 150 ml wody w temperaturze 75°C, dodaje się 9,93 g 7-(2'-tienyloacetamido)-cefalosporanianu sodowego i mieszaninę tę o pH = 3,6 miesza się w ciągu 2 godzin w temperaturze 75°C. Następnie ochładza się gęstą zawiesinę o pH = 4,6 miesza w ciągu 1 godziny w temperaturze 5°C i odsącza.

Wilgotny osad rozpuszcza się w mieszaninie 240 ml acetonu i 80 ml wody w temperaturze 40°C i dodaje się 8,5 ml stężonego kwasu solnego. Następnie dodaje się powoli 400 ml wody, mieszaninę ochładza się do temperatury 5°C, miesza się ją przez 2 godziny i odsącza. Przesąc płucze się

25 ml wody i po wysuszeniu przez noc w temperaturze 40°C pod próżnią otrzymuje się 9,42 g (83,5%) kwasu 3-pikolinoilotiometrylo-7-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyowego 4 o  $[\alpha]_D^{25} - 79,8^\circ$  (c — 0,8 w dioksanie).

Wyniki przykładu XIIa oraz przykłady podobnego wytwarzania związków o wzorze 5, w którym R<sup>1</sup> oznacza tienylo-2-acetyl, podaje się w tablicach IIa i IIb.

## Objaśnienia do tablic IIa i IIb

### Metody wyosobniania:

- 15 A. Utworzone nierozpuszczalne sole sodowe oczyszcza się lub przeprowadza w wolny kwas jak w przykładzie XIIb.
- B. Najlepszą wydażność uzyskuje się w drodze podstawienia nukleofilowego przy pH = 5,0.
- 20 C. Oczyszczanie poprzez sól cykloheksyloaminową.
- D. Zakwasza się surową mieszaninę reakcyjną i oczyszcza jako wolny kwas.
- 25 E. Około 50% wyosobnionego produktu strąca się podczas reakcji lub po ochłodzeniu do temperatury 0°C przy końcu reakcji. Resztę wyosobnia się przez zakwaszenie roztworu macierzystego i oczyszcza przez strącenie kwasem z obojętnego roztworu, a następnie z rozpuszczalników organicznych przez dodanie wody.
- 30 \* Skręcalność optyczną wyznaczono w dioksanie (c — 1%) z wyjątkiem soli sodowej z przykładu XVI, którą badano w mieszaninie EtOH—H<sub>2</sub>O w stosunku 2:1, soli sodowej z przykładu XXIII i kwasów z przykładów XVIII, XXIV, XXIX i XXX, których skręcalność optyczną wyznaczono w dwumetylosulfotlenku, oraz soli potasowej z przykładu XXV, gdzie zastosowano mieszaninę acetonu z wodą w stosunku 1:1.
- 35 \*\* Absorbpcję w nadfiolecie wyznaczono w roztworach 0,1M buforze fosforanowym o pH = 6,0, z wyjątkiem związku z przykładu XII, którego absorbpcję wyznaczono w wodzie oraz związków z przykładów XVIII i XXI, których absorbpcję wyznaczono w etanolu.
- 40 P. Widma w podczerwieni (nujol) i protonowego rezonansu magnetycznego (pirydyna) każdego związku były zgodne z budową chemiczną.
- 50

Związki z przykładu XII z tablicy IIa i IIb poddano reakcji promotowanej przez związki rtęciowe w mieszaninie wody z pirydyną w stosunku objętościowym 1:1, w temperaturze 50°C, jak opisano w przykładzie LIII. Wyniki podaje się w tablicy III.

### Objaśnienia do tablicy III

- 55 \*\* Stosowano temperaturę 25°C
- \* Wydażność wzrasta po 1 godzinie
- 60 \*\*\* Stosowano temperaturę 35°C

53343  
Tablica IIa

| Przykład<br>Nr | S,Y =<br>(wzór 5)                                       | X =<br>(wzór 5) | Tempe-<br>ratura °C | Czas<br>w godzi-<br>nach | Sposób<br>wyosob-<br>nienia | [α] <sub>D</sub> <sup>*</sup> | λ <sub>max</sub> <sup>**</sup><br>mμ | ε <sup>**</sup> | λ <sub>max</sub> <sup>**</sup><br>mμ | ε <sup>**</sup> |
|----------------|---------------------------------------------------------|-----------------|---------------------|--------------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------------|--------------------------------------|-----------------|
| XIIa           | wzór 18                                                 | H               | 50                  | 29                       | A, B                        | -79°                          | 274-6                                | 17,500          | 232                                  | 21,700          |
| XIII           | wzór 19                                                 | H               | 50                  | 32                       | A                           | -114°                         | 289                                  | 26,100          | 239                                  | 16,200          |
| XIV            | wzór 20                                                 | H               | 46                  | 15,5                     | A                           | -140°                         | 268,9                                | 21,400          | 242-3                                | 19,100          |
| XV             | wzór 21                                                 | H               | 37                  | 140                      | A                           | -147°                         | 276-7                                | 20,600          | 243-4                                | 30,600          |
| XVI            | wzór 22                                                 | Na              | 50                  | 42,5                     | A                           | -24°                          | 266                                  | 18,600          | 232-5                                | 21,000          |
|                |                                                         | H               |                     |                          |                             | -147°                         | 266                                  | 19,800          | 232-5                                | 22,500          |
| XVII           | wzór 23                                                 | H               | 50                  | 30                       | A                           | -201°                         | 234-5                                | 31,300          | 273-4                                | 17,500          |
| XVIII          | wzór 24                                                 | H               | 50                  | 30                       | A                           | -48°                          | 271-3                                | 13,600          | 238-9                                | 19,000          |
| XIX            | wzór 25                                                 | H               | 50                  | 26                       | A                           | -150°                         | 295-7                                | 16,700          | 241-3                                | 17,500          |
| XX             | wzór 26                                                 | H               | 50                  | 26                       | A                           | -103°                         | 292                                  | 22,700          | 232-8                                | 15,600          |
| XXI            | wzór 27                                                 | H               | 50                  | 29                       | A                           | -22,5°                        | 269-74                               | 16,700          | 243-4                                | 51,200          |
| XXII           | wzór 28                                                 | H               | 50                  | 31                       | C                           | —                             | 263 (Sh)                             | 12,900          | 236                                  | 24,100          |
|                |                                                         | wzór 29         |                     |                          |                             |                               |                                      |                 |                                      |                 |
| XXIII          | wzór 30                                                 | Na              | 50                  | 21,5                     | A                           | -274°                         | 298-301                              | 16,600          | 229-232                              | 19,400          |
|                |                                                         | H               |                     |                          |                             | -333°                         | 296-302                              | 15,300          | 229-232                              | 18,700          |
| XXIV           | wzór 31                                                 | H               | 52                  | 23                       | D                           | -18°                          | 270                                  | 11,700          | 227-8                                | 20,200          |
| XXV            | -S.CO.(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> K | K               | 50                  | 16                       | B                           | +3°                           | 260-263                              | 10,500          | 236-7                                | 16,000          |
| XXVI           | wzór 32                                                 | H               | 100                 | 25 minut                 | E                           | -88°                          | 266 (Sh)                             | 18,400          | 240                                  | 22,400          |
| XXVII          | wzór 33                                                 | H               | 100                 | 25 minut                 | E                           | -72°                          | 262 (Sh)                             | 18,100          | 240-1                                | 21,200          |
| XXVIII         | wzór 34                                                 | H               | 100                 | 25 minut                 | E                           | -114°                         | 260 (Sh)                             | 17,800          | 241-2                                | 21,600          |
| XXIX           | wzór 35                                                 | H               | 50                  | 29                       | A, B                        | -87°                          | 273                                  | 17,800          | 231                                  | 21,000          |
| XXX            | wzór 36                                                 | H               | 60                  | 15,5                     | A                           | -82°                          | 273-4                                | 16,400          | —                                    | —               |

Sh = ugięcie

Tablica IIb

| Przykład<br>Nr | Stwierdzono % |      |      |      | W z ó r                                                                                           | Wymagane w % |     |      |      |
|----------------|---------------|------|------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----|------|------|
|                | C             | H    | N    | S    |                                                                                                   | C            | H   | N    | S    |
| XIIa           | 51,45         | 3,8  | —    | —    | $C_{20}H_{17}N_3O_5S_3$                                                                           | 50,5         | 3,6 | —    | —    |
| XIII           | 53,6          | 4,85 | 4,9  | 17,1 | $C_{22}H_{20}N_2O_6S_3 \cdot C_4H_7OH$<br>(krystalizacja z propanolu)                             | 53,2         | 5,0 | 5,0  | 17,0 |
| XIV            | 48,6          | 3,6  | 8,2  | 18,6 | $C_{21}H_{17}N_3O_7S_3$                                                                           | 48,5         | 3,3 | 8,1  | 18,5 |
| XV             | 53,7          | 3,6  | 8,2  | 19,3 | $C_{22}H_{17}N_3O_5S_3$                                                                           | 52,9         | 3,4 | 8,4  | 19,3 |
| XVI            | 47,7          | 3,7  | 7,9  | 17,7 | $C_{21}H_{16}N_3O_7S_3Na$                                                                         | 46,6         | 3,0 | 7,8  | 17,8 |
|                | 47,6          | 3,5  | 8,4  | 17,8 | $C_{21}H_{17}N_3O_7S_3 \cdot \frac{1}{2}H_2O$                                                     | 47,75        | 3,4 | 8,0  | 18,2 |
| XVII           | 49,7          | 4,2  | 5,2  | 24,2 | $C_{22}H_{20}N_2O_5S_4$                                                                           | 49,9         | 4,0 | 5,3  | 24,2 |
| XVIII          | 51,9          | 4,1  | 5,8  | 18,7 | $C_{22}H_{20}N_2O_6S_3$                                                                           | 52,4         | 4,0 | 5,55 | 19,1 |
| XIX            | 47,75         | 3,7  | 5,7  | 26,0 | $C_{19}H_{16}N_2O_5S_4$                                                                           | 47,5         | 3,4 | 5,8  | 26,7 |
| XX             | 48,8          | 3,9  | 5,7  | 20,0 | $C_{19}H_{16}N_2O_6S_3$                                                                           | 49,1         | 3,5 | 6,0  | 20,7 |
| XXI            | 55,7          | 3,9  | 7,8  | 18,0 | $C_{24}H_{16}N_3O_5S_3$                                                                           | 54,9         | 3,6 | 8,0  | 18,3 |
| XXII           | —             | —    | —    | —    | —                                                                                                 | —            | —   | —    | —    |
|                | 52,4          | 5,4  | 6,8  | 21,0 | $C_{26}H_{31}N_3O_5S_4$                                                                           | 52,6         | 5,3 | 7,1  | 21,6 |
| XXIII          | 48,1          | 3,6  | 5,7  | 27,8 | $C_{21}H_{17}N_2O_4S_4Na$                                                                         | 49,2         | 3,3 | 5,5  | 25,0 |
|                | —             | —    | —    | —    | —                                                                                                 | —            | —   | —    | —    |
| XXIV           | 47,2          | 3,9  | 5,75 | 23,5 | $C_{21}H_{20}N_2O_6S_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$                                                     | 47,3         | 3,9 | 5,3  | 24,0 |
| XXV            | —             | —    | —    | —    | —                                                                                                 | —            | —   | —    | —    |
| XXVI           | 49,6          | 4,3  | 11,9 | 20,7 | $C_{19}H_{18}N_4S_3O_4$                                                                           | 49,4         | 3,9 | 12,1 | 20,8 |
| XXVII          | 49,3          | 4,5  | 12,0 | 19,8 | $C_{20}H_{20}N_4S_3O_4$                                                                           | 49,5         | 4,3 | 11,5 | 19,8 |
| XXVIII         | 49,6          | 3,9  | 11,5 | 20,1 | $C_{18}H_{16}N_4S_3O_4 \cdot \frac{1}{2}C_4H_9O_2$<br>(krystalizacja z wodnego roztworu dioksanu) | 48,9         | 3,9 | 11,4 | 19,5 |
| XXIX           | 51,5          | 3,6  | 8,5  | 19,7 | $C_{20}H_{17}N_3O_5S_3 \cdot \frac{1}{2}C_3H_6O$<br>(krystalizacja z wodnego roztworu acetonu)    | 51,0         | 3,9 | 8,5  | 19,4 |
| XXX            | 50,8          | 3,8  | 8,6  | 19,7 | $C_{20}H_{17}N_3O_5S_3$                                                                           | 50,5         | 3,6 | 8,8  | 20,2 |

53343  
Tablica III

| Przykład<br>Nr | Grupa —S.Y                                          | Promotor                           | Stosunek<br>molewy<br>promotoru<br>do substratu | Czas potrzebny<br>do osiągnięcia<br>maksymalnej wydajności | Wydajność<br>% | Stosunek<br>absorpcji<br>w nadfiolecie |
|----------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|----------------|----------------------------------------|
| XXXI           | wzór 19                                             | Hg(OAc) <sub>2</sub>               | 2,0                                             | 1,5 godzin                                                 | 47             | 1,11                                   |
| XXXII          | wzór 20                                             | Hg(OAc) <sub>2</sub>               | 2,0                                             | 6—7 godzin                                                 | 28             | —                                      |
| XXXIII         | wzór 18                                             | Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  | 2,5                                             | 5 minut                                                    | 70             | 1,08                                   |
| XXXIV          | wzór 18**                                           | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 30 minut                                                   | 86             | 1,02                                   |
| XXXV           | wzór 26                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 45 minut                                                   | 74             | 1,10                                   |
| XXXVI          | wzór 25                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 45 minut                                                   | 50             | 1,10                                   |
| XXXVII         | wzór 30                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 1 godzina*                                                 | >52            | 1,11                                   |
| XXXVIII        | wzór 38                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 1 godzina*                                                 | >67,5          | 1,06                                   |
| XXXIX          | —S.C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>                    | Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  | 2,5                                             | 1 godzina                                                  | 44,0           | 1,10                                   |
| XL             | wzór 39                                             | Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  | 2,5                                             | 1 godzina                                                  | 63             | 1,10                                   |
| XLI            | wzór 40                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 30 minut                                                   | 55,4           | 1,09***                                |
| XLII           | —S.SO <sub>3</sub>                                  | Hg(SCN) <sub>2</sub>               | 3,0                                             | 120 minut                                                  | 57             | 1,11                                   |
| XLIII          | —S.SO <sub>3</sub>                                  | Hg(OAc) <sub>2</sub>               | 3,0                                             | 60 minut                                                   | 55             | 1,11                                   |
| XLII           | —S.SO <sub>3</sub>                                  | Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  | 3,0                                             | 30 minut                                                   | 64             | 1,10                                   |
| XLII           | —S.SO <sub>3</sub>                                  | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 10 minut                                                   | 73             | 1,08                                   |
| XLIII          | —SCoCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 3,0                                             | 15 minut                                                   | 60             | 1,07                                   |
| XLIV           | wzór 41                                             | Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  | 2,5                                             | 35 minut                                                   | 63             | 1,04                                   |
| XLV            | wzór 20                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 4 godzin                                                   | 55             | 1,11                                   |
| XLVI           | wzór 42                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 4 godzin                                                   | 30             | 1,07                                   |
| XLVII          | wzór 43                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 2 godzin                                                   | 51,5           | 1,10                                   |
| XLVIII         | wzór 43                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 3,5                                             | 2,75 godzin                                                | 60             | 1,10                                   |
| XLIX           | wzór 44                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 1 godzina*                                                 | >70            | —                                      |
| L              | wzór 28                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 10 minut                                                   | 63             | 1,15                                   |
| LI             | wzór 24                                             | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 1 godzina                                                  | 66             | 1,09                                   |
| LII            | wzór 45                                             | AgNO <sub>3</sub>                  | 2,5                                             | 2 godziny                                                  | 54             | —                                      |
| LIIa           | wzór 35**                                           | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 1 godzina                                                  | 20             | —                                      |
| LIIb           | wzór 36**                                           | Hg(C10 <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2,5                                             | 45 minut                                                   | 73             | —                                      |

11

Przykład LIII. Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydyno)-metylo-cefemo-3-karboksyowego-4 z kwasu 3-benzoiotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksyowego-4, z zastosowaniem nadchlora-  
nu rtęciowego.

9,492 g tiobenzoesanu wyżej wymienionego kwasu rozpuszcza się w 100 ml pirydyny w temperaturze 51°C i do roztworu tego dodaje się kolejno, mieszając, 25 ml wody, 50 ml roztworu nadchloranu rtęciowego (uzyskanego przez zawieszenie 0,25 mola żółtego tlenku rtęciowego w 100 ml wody, dodanie 0,52 mola kwasu nadchlorowego, mieszanie, odsączenie i rozcieńczenie wodą do 250 ml) i 25 ml wody, przy czym po kilku minutach zaczyna się strącać czarny osad. Po 25 minutach umieszcza się kolbę w wyparce obrotowej i w ciągu 25 minut odparowuje się mieszaninę w temperaturze 50 — 53° przy pomocy pompy wodnej.

Następnie dodaje się 150 ml wody i przez 20 minut przepuszcza się przez zawieszinę siarkowodór, po czym przenosi się czarną zawieszinę na szczyt kolumny o średnicy wewnętrznej 5,4 cm, zawierającej mieszaninę 150 ml Dowex-1 (OAc-) i 150 ml Deacidite FF (OAc-) nad 50 ml Zeo-karb 226 SRC 47 (H<sup>+</sup>), przy czym wielkość cząsteczek tych wszystkich żywic jest taka, że przechodzą one przez sito o 100 oczkach na długości 1 cala, a zatrzymują się na sicie o 200 oczkach na długości 1 cala.

Eluowanie wodą daje 1560 ml eluatu, który po wysuszeniu w suszarce sublimacyjnej stanowi kremową substancję. Dalsze eluowanie wodą daje

12

220 ml eluatu, który przesącza się i zagęszcza do 25 ml drogą odparowania obrotowego w temperaturze 30°, po czym stosuje do rozpuszczenia substancji otrzymanej w suszarce sublimacyjnej.

Uzyskany roztwór odsącza się i mieszając podaje reakcji z 1 ml kwasu azotowego o ciężarze właściwym 1,42. Po 2 godzinach mieszania w temperaturze 5°C, odsącza się osad i po wysuszeniu go nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> w temperaturze pokojowej pod ciśnieniem 0,5 mm, otrzymuje się 5,902 g (61,6%) soli kwasu azotowego o λ<sub>max</sub> · (H<sub>2</sub>O) 240 m (E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 329) i 255 mμ (E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 300). Po odparowaniu przesącza do około 5 ml otrzymuje się dalsze 0,052 g (0,6%) produktu o λ<sub>max</sub> · (H<sub>2</sub>O) 240 (E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 309) i 255 mμ (E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 283).

5,742 g (12 milimoli) soli kwasu azotowego zawieszona się w 20 ml wody i mieszając wkrapla się amoniak o ciężarze właściwym 0,88, do rozpuszczenia się soli (pH — 4,0). Uzyskany brunatny roztwór rozcieńcza się wodą do 45 ml i przepuszcza przez kolumnę o średnicy wewnętrznej 2,1 cm, zawierającą mieszaninę 15 ml Dowex-1 (OAc-) i 15 ml Deacidite FF (OAc-) nad 30 ml Zeo-karb 226 SRC 47 (H<sup>+</sup>) nad 15 ml Deacidite FF (OAc-). Po rozcieńczeniu wodą do 568 ml i wysuszeniu, otrzymuje się białą substancję, z której po miareczkowaniu 45 ml suchego metanolu uzyskuje się 4,436 g (89,3%) pochodnej pirydyniowej o [α]<sub>D</sub> + 47,8° (c, 1,125 w H<sub>2</sub>O), λ<sub>max</sub> (H<sub>2</sub>O) 240 (E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 380) i λ (załamanie) 255 mμ (E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 348).

W tablicy IV podaje się wydajność tego produktu, wytworzonego z kwasu 3-benzotiotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido) - cefemo-3-karboksylowego-4

w temperaturze 50°C w roztworze wodnym zawierającym 50% objętościowych pirydyny w obecności różnych soli metali.

Tablica IV

| Sól                                                 | Stosunek molowy katalizatora do tiobenzoesanu | Czas potrzebny do osiągnięcia maksymalnej wydajności | Wydajność % | Stosunek absorpcji w nadfiolecie |
|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------|-------------|----------------------------------|
| HgBr <sub>2</sub>                                   | 2,0                                           | 4 godziny                                            | 13,9        | 1,07                             |
| Hg(SCN) <sub>2</sub>                                | 2,0                                           | 1—4 godzin                                           | 31,4        | 1,11                             |
| Hg(C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>2</sub>    | 2,0                                           | 0—75 godzin                                          | 58          | 1,10                             |
| Hg(C <sub>10</sub> H <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>    | 2,5                                           | 25 minut                                             | 74,0        | 1,11                             |
| Hg (OCOCF <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>               | 2,0                                           | 2,5 — 3 godzin                                       | 60          | 1,13                             |
| Hg <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>     | 2,0                                           | 0                                                    | utworzony   | —                                |
| Hg (OCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> | 2,0                                           | 3—5 godzin                                           | 25          | 1,09                             |

Przykład LIV. Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido) - 3-(N-pirydino)-metylo-cefemo-3-karboksylowego-4 z 2''-(7-2'-tienyloacetamido-4-karboksy-3-cefemylo - 3-metylotio)-4''-metylopirymidyny.

4,98 g pochodnej merkaptopirymidyny rozpuszcza się w 40 ml pirydyny w temperaturze 51°C, po czym dodaje się szybko roztwór 7,7 g (2,25 równoważniki) octanu rtęciowego w roztworze wodnym pirydyny (25 ml + 10 ml) i spłukuje 25 ml wody. Roztwór szybko ciemnieje i zaczyna się strącać drobny czarny osad.

W ciągu 1 godziny miesza się szybko roztwór, a następnie umieszcza się kolbę w wyparce obrotowej i w ciągu 25 minut odparowuje się rozpuszczalniki pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze 50°C. Po dodaniu 10 ml wody odparowuje się je ponownie w ciągu dalszych 10 minut. Osad rozcieńcza się 50 ml wody i przez zawieszinę tę w ciągu 15–20 minut przepuszcza się siarkowodór.

Następnie przenosi się czarną zawieszinę na wierzchołek wielowarstwowej kolumny żywicy jonitowej, składającej się z 25 ml Zeo-karb 226 SRC 47 (H<sup>+</sup>), 50 ml Dowex-1 (OAc<sup>-</sup>) i 50 ml Deacidite FF (OAc<sup>-</sup>), przy czym wielkość cząsteczek tych żywic jest taka, że przechodzą one przez sito o 100 oczkach na długości 1 cala, a pozostają na sicie o 200 oczkach na długości 1 cala, a każda warstwa jest oddzielona papierem filtracyjnym. Po rozcieńczeniu wodą otrzymuje się żółty eluat, który suszy się do stanu suchego.

Następnie częściowo rozpuszcza się substancję w 20 ml wody, przy czym pozostaje 0,8 g bladego żółtego osadu, który na podstawie elektroforezy, chromatografii oraz widm w nadfiolecie i podczerwieni okazał się 2-merkaptio-4-metylopirymidyną. Osad ten odsącza się i pomarańczowy roztwór poddaje się reakcji z 0,8 ml kwasu azotowego o ciężarze właściwym 1,42. Po ochłodzeniu w temperaturze 0°C, odsączeniu strąconego azotanu pirydynowego i wysuszeniu go nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> w próżni otrzymuje się 2,73 g (53,3%) produktu o λ<sub>max</sub>. (H<sub>2</sub>O) 240 mμ (E<sub>1cm</sub><sup>1%</sup> 315), 255 mμ (E<sub>1cm</sub><sup>1%</sup> 282).

1 g tego azotanu zawiesza się w 25 ml wodnego roztworu acetonu i zobojętnia 2 N roztworem amoniaku. Brudnożółty osad odsącza się, a uzyskany bladeżółty roztwór wprowadza się do 10 ml kolumny Dowex-1 (OAc<sup>-</sup>) o wielkości cząsteczek przechodzących przez sito o 100 oczkach na długości 1 cala, a pozostających na sicie o 200 oczkach na długości 1 cala i rozcieńcza wodą. Niemal bezbarwne eluaty wyosobnia się i suszy partiami. Po miareczkowaniu metanolem otrzymuje się 0,75 g (87%) (całkowita wydajność 46,4%) białego proszku (przy czym metanol zachowuje słabe żółte zabarwienie) o następujących danych w nadfiolecie na najmniej czystej próbce pierwszej frakcji: λ<sub>max</sub>. (H<sub>2</sub>O) 240 (E<sub>1cm</sub><sup>1%</sup> 365) i (załamanie) 255 mμ (E<sub>1cm</sub><sup>1%</sup> 333).

W tablicy V podaje się wyniki podobnych doświadczeń, w których 2''-(7-2'-tienyloacetamido-4-karboksy-3-cefemylo-3-metylotio) - 4''-metylopirymidynę przeprowadzono w sól wewnętrzną kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydino) - metylo-cefemo-3-karboksylowego-4.

Tablica V

| Sól                                              | Temperatura °C | Stosunek pirydyny do wody | Czas potrzebny do osiągnięcia maksymalnej wydajności w minutach | Maksymalna wydajność % |
|--------------------------------------------------|----------------|---------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------|
| HgBr <sub>2</sub>                                | 50             | 50 : 50                   | 360                                                             | 25 <sup>a</sup>        |
| Hg(O·COCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>            | 50             | 50 : 50                   | 60                                                              | 50                     |
| Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                | 50             | 50 : 50                   | 15                                                              | 68                     |
| Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                | 50             | 50 : 50                   | 45                                                              | 61 <sup>b</sup>        |
| Hg(C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>2</sub> | 50             | 50 : 50                   | 10                                                              | 70                     |
| Hg(C <sub>10</sub> H <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> | 35             | 50 : 50                   | 75                                                              | 75                     |
| Hg(C <sub>10</sub> H <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> | 19             | 50 : 50                   | 210                                                             | 75                     |
| Hg(C <sub>10</sub> H <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> | 35             | 25 : 75                   | 160                                                             | 82                     |
| Hg(C <sub>10</sub> H <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> | 35             | 10 : 90                   | 90                                                              | 42 <sup>a</sup>        |

- a — W określonym czasie nie uzyskano maksymalnej wydajności, lecz funkcje wydajności i czasu wyrównują się w tym momencie.
- b — Zastosowano 1,25 równoważnika azotanu rtęciowego.

Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydino) - metylo-cefemo-3-karboksykowego-4 poprzez pośredni tiosiarczan 7-(S-2'-tienyloacetamido)-3-metylo-cefemylo-3 z 7-(2'-tienyloacetamido)-cefalosporianianu sodowego.

4,18 g (10 milimoli) 7-(2'-tienyloacetamido)-cefalosporianianu sodowego rozpuszcza się w 28 ml wody i do uzyskanego roztworu o pH = 5,8 dodaje się 2,73 g (11 milimoli) pięciowodzianu tiosiarczanu sodowego w 7 ml wody, po czym rozcieńcza się mieszaninę do 60 ml i przenosi do naczynia w temperaturze 90°C.

Zamiast soli sodowej można zastosować tiosiarczan amonowy. Po 30 minutach szybkiego mieszania w tej temperaturze w atmosferze azotu, bądź po 64 godzinach w temperaturze 37°C, albo po 40 godzinach w temperaturze 50°C ochładza się roztwór do 27°C i dodaje się doń 80 ml pirydyny, po czym w ciągu 7 minut wkrapla się, mieszając, 22 ml (22 milimoli) 1 M roztworu (lub 4 M roztworu) nadchloranu rtęciowego tak, aby temperatura nie przekroczyła 25°C. W ciągu następnych 53 minut miesza się mieszaninę w temperaturze 25°C (w innych przypadkach mieszano przez 25 minut w temperaturze 50°C).

Zielony roztwór ochładza się lodem do temperatury 10°C i przepuszcza się siarkowódór w ciągu 7 minut. Strącony siarczek rtęciowy wyosobnia się na złożu ziemi okrzemkowej i dokładnie płucze wodą, po czym ekstrahuje się przesącz za pomocą 40 ml Amberlitu LA-1 w 100 ml benzenu. 20 ml Amberlitu LA-1 w 50 ml benzenu i 2 x 100 ml chlorku metylenu. (LA oznacza ciekły anionit).

Ekstrakty organiczne ekstrahuje się ponownie 50 ml wody, a połączone roztwory odparowuje się na wyparce obrotowej w temperaturze 30°C w ciągu 0,5 godziny w celu usunięcia rozpuszczalników organicznych, po czym przenosi się uzyskaną substancję do kolumny zawierającej 25 ml kwasowego tlenku glinowego Woelma nad 50 ml octanowej żywicy Dowex-1, nad 10 ml Zeo-karb 226 w postaci wodorowej. Eluowanie wodą prowadzi się dopóki skręcalność optyczna (rurka 1 dcm), nie będzie mniejsza niż 0,02°, po czym eluat suszy się.

Uzyskany osad rozpuszcza się w 40 ml wody i traktuje kwasem azotowym w stosunku kwasu do wody 1:1, aż pH spadnie do 1,5, po czym ochładza się mieszaninę do temperatury 0°C w ciągu 1 godziny, odsącza się sól addycyjną z kwasem azotowym i płucze się ją wodą, a następnie suszy w próżni nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Dalszą ilość produktu otrzymuje się z roztworu macierzystego. Ogółem uzyskuje się 2,12 g (44,5 %) produktu o λ (załamanie) 238 — 240 mμ (E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 320), λ max. 255 mμ (E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 289), [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> + 40° (pH 6 bufor fosforanowy: C = 0,98).

Produkt ten można również wyosobnić jak w przypadku tiobenzoesanu w przykładzie LIII.

1 g powyższej soli addycyjnej z kwasem azotowym zawiesza się w 10 ml wody i przy pomocy 7,5 N roztworu amoniaku podnosi się pH do 5,0. Mieszaninę tę eluuje się z 15 ml kolumny octanowej żywicy Dowex-1, aż skręcalność eluatu będzie mniejsza niż 0,02 (rurka 1 dcm). Po wysuszeniu eluatu i strąceniu osadu z 20 ml metanolu otrzymuje się 0,775 g (90%) soli z kwasem azotowym) białego produktu o λ (załamanie) 240 mμ (E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 372), λ max. 255 mμ (E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 341), [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> + 47,5° (woda, c = 0,965). Całkowita wydajność wynosi 40%.

Przykład LVI. a) Wytwarzanie kwasu 3-benzotiotiometylo-7 - (2'-tienyloacetamido - cefemo-3-karboksykowego-4.

Mieszaninę 4,27 g 7-(2'-tienyloacetamido)-cefalosporianianu sodowego, 5,35 litrów (40% wag./obj.) roztworu tiobenzoesanu sodowego, 1,88 kg dwuwodzianu ortofosforanu jednosodowego, 7,27 ml kwasu ortofosforowego i 27,8 litrów wody ogrzewa się mieszając w temperaturze 90°C w ciągu 1 godziny. Regulowana wartość pH wynosi na początku reakcji 4,5 a po zakończeniu reakcji — 5,2. Następnie ochładza się mieszaninę reakcyjną do temperatury 10°C w ciągu 30 minut i odsącza się krystaliczny 3-(benzotiotiometylo)-7-(2'-tienyloacetamido) - cefemo-3-karboksylian sodowy.

Surowy produkt rozpuszcza się w mieszaninie 125 litrów acetonu i 125 litrów wody w temperaturze 35°C i miesza się roztwór dodając powoli 3,5 litrów stężonego kwasu solnego, po czym ochładza się mieszaninę przez noc do temperatury —5°C. Po odsączeniu krystalicznej substancji, wypłukaniu jej wodą, i wysuszeniu przez noc w temperaturze 40°C w poróżni, otrzymuje się 4,047 kg (83,5%) kwasu 3-benzotiotiometylo-7 - (2'-tienyloacetamido) - cefemo-3-karboksykowego-4 o [α]<sub>D</sub> —131° (c, 1 w dioksanie, λ max. 237 — 238, 272 — 275 mμ (odpowiednio E<sub>1 cm</sub><sup>1%</sup> 481 i 372), zidentyfikowanego na podstawie analizy widma w podczerwieni.

b) Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-(N-piperydyna)-metylo-cefemo-3-karboksykowego-4.

23,73 g tiobenzoesanu kwasu otrzymanego pod a) rozpuszcza się w 125 ml pirydyny i uzyskany roztwór ogrzewa się do temperatury 51°C, po czym dodaje się 125 ml roztworu nadchloranu rtęciowego, wytworzonego przez zawieszenie 54,15 g (0,25 mola) żółtego tlenku rtęci w 100 ml wody, dodanie 55,5 ml (0,52 mola) kwasu nadchlorowego o ciężarze właściwym 1,54, mieszanie, odsączenie i rozcieńczenie wodą do 250 ml, po czym miesza się całość w ciągu 50 minut w temperaturze 51°C.

Następnie ochładza się mieszaninę do temperatury 0°C, dodaje 50 ml kwasu tiobenzoesowego i kontynuuje mieszanie przez dalsze 10 minut. Roztwór odsącza się przez warstwę ziemi okrzemkowej i ekstrahuje kolejno 300 ml benzenu roztworem 150 ml anionitu Amberlit LA 2 w 300 ml ben-

zenu, roztworem 50 ml LA 2 w 100 ml benzenu i 100 ml benzenu. Osad wymywa się 2 x 100 ml wody, a płuczki stosuje się do dwukrotnego ekstrahowania warstw organicznych.

Roztwór i ekstrakty przeniesiono kolejno do wierzchołka kolumny o średnicy wewnętrznej 6,5 cm, zawierającej 150 ml kwasowego tlenku glinowego Woelma o aktywności 1 nad 25 ml Zeo-karb 226 SRC 43 (H<sup>+</sup>) o stopniu rozdrobnienia 100—200, nad 150 ml kwasowego tlenku glinowego Woelma o aktywności 1, nad 25 ml Sephadex CM C-25 (średni) (H<sup>+</sup>). Rozcieńczając wodę do uzyskania  $\alpha = 0,08^\circ$  ( rurka 1 dm) otrzymuje się 950 ml roztworu, który traktuje się 125 ml 4 N kwasu azotowego i w ciągu 2 godzin utrzymuje się w temperaturze 0°C.

Po odsączeniu krystalicznego osadu, wypłukaniu go 25 ml wody i 300 ml acetonu i 3-godzinny suszeniu w próżni w temperaturze 40°C otrzymuje się 15,63 g (65,4%) soli addycyjnej z kwasem azotowym o  $[\alpha]$  (pH 7 bufor fosforanowy) +42,3° (c 1,20),  $\lambda$  max. (bufor pH 7) 239 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  321),  $\lambda$  (załamanie) 255 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  294), woda (Karl Fischer) 2,7% zawartość rtęci poniżej 10 części na milion.

9,561 g (20 milimoli) tej soli kwasu azotowego zawieszają się w 66 ml wody i wstrząsa z roztworem 10 ml Amberlitu LA 2 w 60 ml eteru naftowego o temperaturze wrzenia 40°—60°C. Warstwę wodną ekstrahuje się kolejno 2 ml LA 2 w 25 ml eteru naftowego, 2 ml LA 2 w 25 ml eteru naftowego i 2 x 25 ml eteru naftowego.

Warstwy organiczne ekstrahuje się kolejno 20 ml i 10 ml wody, po czym roztwór i ekstrakty przepuszcza się przez kolumnę złożoną z 18 ml Dowex-1 (OAc<sup>-</sup>) o takiej wielkości cząsteczek, że przechodzą przez sito o 100 oczkach na długości 1 cala, a pozostają na sicie o 200 oczkach na długości 1 cala nad 18 ml Sephadex XM C-25 (średni). Po rozcieńczeniu wodą uzyskuje się 170 ml roztworu przy minimalnej rotacji eluatu.

Roztwór ten suszy się otrzymując białą, stałą substancję, którą miareczkuje się 90 ml suchego metanolu i przez 2 godziny utrzymuje się w temperaturze 0°C. Po odsączeniu osadu, wypłukaniu go w 40 ml metanolu i wysuszeniu przez noc w próżni w temperaturze pokojowej, otrzymuje się 7,304 g (88%) pochodnej pirydynowej o  $[\alpha]_D +48,1^\circ$  (c 1,03 H<sub>2</sub>O),  $\lambda$  max. (H<sub>2</sub>O) 239 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  383),  $\lambda$  (załamanie) 255 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  352), wilgoć (Karl Fischer) 0,7%, zawartość rtęci poniżej 10 części na milion, zabarwienie Lovibond (10 procentowy roztwór, naczynie 2 cm) 0,8 Y, 0,2 R.

Przykład LVII. a) Wytwarzanie kwasu 3-benzotiotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido) - cefemo-3-karboksylowego-4.

W 125 ml wody rozpuszcza się 4,975 g (12,5 milimoli) kwasu 7-tienyloacetamidocetalo-sporanowego, 1,05 g (12,5 milimoli) kwaśnego węgla sodowego i 4 g (25 milimoli) tiobenzoesanu sodowego, roztwór ten odsącza się, a przesącz ogrzewa w ciągu 18 godzin w temperaturze 50°C w strumieniu

azotu. Po wyosobnieniu krystalicznego osadu, wypłukaniu go wodą i wysuszeniu w próżni nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> otrzymuje się 4,39 g (70,6%) 3-benzotiotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 sodowego o  $\lambda$  max. (nujol) 1758 ( $\beta$ -laktam) 1660 (—S—CO—), 1648, 1530 (CONH) i 1625 cm<sup>-1</sup> (CO<sub>2</sub>—).

Sól sodową zawiesza się w 50 ml 50 procentowego wodnego roztworu acetonu i pokrywa 100 ml octanu etylowego dodając 2 N kwas solny i uzyskaną mieszaninę wstrząsa się do rozpuszczenia niemal całej substancji. Następnie usuwa się aceton w próżni, po czym rozdziela się warstwy, warstwę wodną ekstrahuje się 50 ml octanu etylowego, a ekstrakty łączy się, płucze wodą i suszy nad siarczanem magnezowym.

Po odparowaniu otrzymuje się 4,2 g białej stałej substancji, którą krystalizuje się z 180 ml wrzącej mieszaniny acetonu z wodą w stosunku 2:1, otrzymując 1,6 g (25,8%) produktu o  $[\alpha]_D^{25} -138^\circ$  (dioksan),  $\lambda$  max. (bufor fosforanowy pH 6) 238—239 m $\mu$  ( $\epsilon$  23,500), 273 — 274 m $\mu$  (21,050),  $\lambda$  max. (nujol) 1770 ( $\beta$ -laktam), 1722, 1700 (COOH), 1682 (—SCOPh), 1643, 1538 cm<sup>-1</sup> (CONH).

Stwierdzono: C — 53,4% H — 4,1% N — 6,1% S — 20,0% C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S<sub>3</sub> wymaga C — 53,1%, H — 3,8%, N — 5,9%, S — 20,3%. Po uzyskaniu dalszych 2,337 g produktu ogólna wydajność osiąga 63,5%.

b) Wytwarzanie 3-benzotiotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 srebra.

2,32 g (4,7 milimoli) kwasu w 135 ml dioksanu miesza się z 0,2 N roztworem azotanu srebra, dodaje się 110 ml wody i mieszając szybko mętny żółty roztwór dodaje się około 50 ml 0,1 N wodorotlenku sodowego ustalając pH na 7. Po odsączeniu brunatnego osadu, dokładnym wypłukaniu go wodą i wysuszeniu w próżni, otrzymuje się 2,54 g soli srebra. Stwierdzono: Ag — 19,5%;



wymaga Ag — 18,6%.

c) Reakcja 3-benzotiotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylanu-4 srebra z wodnym roztworem pirydyny.

0,58 g (1 milimol) soli srebra w 8 ml pirydynie i 8 ml wody ogrzewa się w ciągu 17 godzin w temperaturze 46°C, po czym rozcieńcza się mieszaninę 25 ml wody, przesącza przez warstwę ziemi okrzemkowej i płucze trzykrotnie chlorkiem metylenu. Warstwę wodną suszy się, brunatny osad miareczkuje 10 ml wody i odsącza, a po ponownym wysuszeniu przesącza otrzymuje się 0,115 g bladobrazowej substancji. Elektroforeza wysokonapięciowa wykazuje obecność pirydynowej pochodnej kwasu 7-(2'-tienyloacetamido)-cefalosporanowego.

Roztwór tej substancji w wodzie przepuszcza się przez jonitową kolumnę 10 ml Dowex-1 (OAc<sup>-</sup>) i zbiera się eluaty dopóty, dopóki skręcalność optyczna nie stanie się minimalna. Po wysuszeniu połączonych eluatów otrzymuje się surową sól

wewnętrzną kwasu 7-(2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydyno)-metylo-cefemo-3-karboksylowego-4. Elektroforeza wykazuje silną plamę odpowiadającą plamie czystej próbki związku pirydyniowego.

Ślepa próba z 0,479 g (1 milimolem) kwasu 3-benzoilotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido) - cefemo-3-karboksylowego-4 ogrzewano przez 16 godzin w 8 ml pirydyny i 8 ml wody w temperaturze 46°C, prowadzona jak wyżej, nie wykazuje tworzenia się soli wewnętrznej kwasu 7-(2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydyno)-metylo-cefemo-3-karboksylowego-4.

Przykład LVIII. Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-(2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydyno)-metylo-cefemo-3-karboksylowego-4 z kwasu 3-benzoilotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido) - cefemo-3-karboksylowego-4 z zastosowaniem azotanu srebra.

4,275 g (9 milimoli) kwasu 3-benzoilotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido) - cefemo-3-karboksylowego-4 rozpuszcza się w 45 ml pirydyny i dodaje się w temperaturze 50°C 3,06 g (18 milimoli) azotanu srebra w 45 ml wody. W ciągu 5 godzin ogrzewa się mieszaninę reakcyjną w temperaturze 50°C. Elektroforeza i analiza absorpcji w nadfiolecie wykazuje obecność 24% związku pirydyniowego.

Ochłodzony roztwór rozcieńcza się 50 ml wody, ekstrahuje 50 ml chlorku metylenu i odsąca. Osad płucze się wodą i ekstrakt organiczny płucze się wodą a połączone płuczki oraz warstwę wodną przepuszcza się przez kolumnę 100 ml Dowex-1 (OAc<sup>-</sup>). Eluowanie kontynuuje się, aż  $\alpha_D$  spadnie poniżej  $\div 0,025^\circ$ . Objętość połączonych eluatów zmniejsza się do 50 ml drogą odparowania na wyparce obrotowej ( $< 35^\circ$ ) i roztwór ten przepuszcza się przez kolumnę 40 ml Dowex-1 (OAc<sup>-</sup>).

Po wysuszeniu eluatów otrzymuje się 0,86 g brunatnej żywicy, którą miareczkuje się metanolem otrzymując 0,43 g ciemnożółtego stałego związku pirydyniowego o  $\lambda$  max. ( $H_2O$ ) 240 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  342) i 255 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  309). Po dalszym oczyszczeniu drogą miareczkowania jonitem i metanolem otrzymuje się 0,215 g białokremowych kryształów związku pirydyniowego o  $[\alpha]_D +47,6^\circ$  (c 1,04 w  $H_2O$ ),  $\lambda$  max. ( $H_2O$ ) 240 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  358) i  $\lambda$  (załamanie) 255 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  329), stosunek 1,09. Widma w podczerwieni i rezonansu magnetycznego potwierdzają tożsamość produktu.

Przykład LIX. Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-(2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydyno)-metylo-cefemo-3-karboksylowego-4 z kwasu 3-benzoilotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido) - cefemo-3-karboksylowego-4 z zastosowaniem chlorku rtęciowego.

4,745 g (10 milimoli) kwasu 3-benzoilotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido) - cefemo-3-karboksylowego-4 w 25 ml pirydyny ogrzewa się w kąpeli termostatycznej w temperaturze 50°C, miesza się i łączy z roztworem 5,43 (20 milimoli) chlorku rtęciowego w 75 ml wody. Po 3 godzinach próbkę 10 ml poddaje się elektroforezie i identyfikuje się produkt na podstawie absorpcji w nadfiolecie w pasmach 240 i 255 m (stosunek 1,11). Analiza ta wykazuje obecność 30% żądanego produktu.

Następnie odsąca się stałą substancję, płucze się ją 25 ml wody, połączone płuczki i przesącz ekstrahuje się 3 x 50 ml chlorku metylenu i odsąca. Warstwę wodną przepuszcza się przez kolumnę 130 mld Dowex-1 (OAc<sup>-</sup>) do uzyskania  $\alpha_D < +0,02^\circ$ . Uzyskaną po wysuszeniu brunatną żywicę rozpuszcza się w wodzie i chromatografuje na kolumnie 50 ml Deacidite FF (OAc<sup>-</sup>). Wyosobnione dwie frakcje zawierają odpowiednio 96% i 88% produktu.

Po wypłukaniu tych frakcji metanolem otrzymuje się 1,2 g (29%) ciemnożółtych kryształów związku pirydyniowego o  $\lambda$  max. ( $H_2O$ ) 240 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  367) i 255 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  333). Kryształy te oczyszcza się dalej drogą chromatografii na 100 ml Deacidite FF (OAc<sup>-</sup>), przy czym 0,37 g pierwszej brunatnej frakcji odrzuca się, a następne frakcje łączy i po przekrystalizowaniu ich z metanolem otrzymuje się 0,52 g (12%) pochodnej pirydyniowej o  $[\alpha]_D +46$ ,  $\lambda_{\text{max.}}$  ( $H_2O$ ) 240 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  356) i  $\lambda$  (załamanie) 255 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  324), stosunek w nadfiolecie 1,10. Widma w podczerwieni i rezonansu magnetycznego potwierdzają tożsamość produktu.

Ekstrakty suszy się i odparowuje, a po miareczkowaniu produktu acetonem otrzymuje się 1,38 g (29%) kwasu 3-benzoilotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 o czystości powyżej 90%.

Poniższa tablica VI podaje maksymalne wydajności soli wewnętrznej kwasu 7-(2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydynometylo)-cefemo-3-karboksylowego-4 uzyskane przez ogrzewanie różnych kwasów 3-Y-S-metylo-7-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowych-4 w temperaturze 50°C w 50 procentowym objętościowo roztworze wodnym pirydyny w obecności różnych soli metali.

Dane cyfrowe uzyskano poddając 10<sup>-3</sup> ml próbki elektroforezie, odcinając miejsca odpowiadające danemu związkowi pirydyniowemu, rozcieńczając wodą do 10 ml i dokonując pomiarów ich absorpcji w nadfiolecie w pasmach 240 i 250 m $\mu$ . Drugim kryterium czystości jest stosunek gęstości optycznych na tych długościach fal (1,10 dla czystej substancji).

| Przykład nr | Sól                                   | Stosunek molowy katalizatora do substratu | —SY                                | Czas potrzebny do osiągnięcia maksymalnej wydajności w godzinach | Wydajność % | Stosunek absorpcji w nadfiolecie         |
|-------------|---------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------|------------------------------------------|
| LX          | AgNO <sub>3</sub>                     | 1                                         | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | > 5                                                              | 12          | 1,18                                     |
| LXI         | AgNO <sub>3</sub>                     | 2                                         | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | 4                                                                | 26,5        | 1,11                                     |
| LXII        | AgNO <sub>3</sub>                     | 3                                         | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | 4,5                                                              | 31,5        | 1,12                                     |
| LXIII       | AgClO <sub>4</sub>                    | 3                                         | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | 4,5                                                              | 39          | 1,11                                     |
| LXIV        | Ag(OCOCH <sub>3</sub> )               | 3                                         | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | 4,5                                                              | 38          | 1,11                                     |
| LXV         | Hg(CN) <sub>2</sub>                   | 2                                         | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | —                                                                | < 5         | —                                        |
| LXVI        | HgCl <sub>2</sub>                     | 2                                         | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | 4,5                                                              | 30          | 1,11                                     |
| LXVII       | HgSO <sub>4</sub>                     | 2                                         | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | 4,5                                                              | 26,5        | 1,13                                     |
| LXVIII      | Hg(OCOCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  | 2                                         | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | 2—3                                                              | 55          | 1,10                                     |
| LXIX        | Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>     | 2                                         | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | 2,5                                                              | 53          | 1,11                                     |
| LXX         | AgNO <sub>3</sub>                     | 3                                         | —SSO <sub>3</sub> —Na <sup>+</sup> | 5                                                                | 25          | Zastosowano pochodną 7-fenylacetamidową  |
| LXXI        | AgNO <sub>3</sub>                     | 3                                         | wzór 46                            | nie wyznaczono                                                   | ca 25       | Zastosowano pochodną 7-fenylacetamidową  |
| LXXII       | Hg(O-COCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> | 2,25                                      | wzór 32                            | ~ 1                                                              | 51          | 1,09                                     |
| LXXIII      | AgNO <sub>3</sub>                     | 3                                         | wzór 32                            | 2                                                                | 28          | 1,13                                     |
| LXXIV       | NaAuCl <sub>4</sub>                   | 2,5                                       | —SCOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | 3,5                                                              | 30          | 1,09                                     |
| LXXV        | Na AuCl <sub>4</sub>                  | 2,5                                       | wzór 18                            | 1,5                                                              | 38          | wydajność względem kwasu tiopikolinowego |

21

Przykład LXXIII powtórzono również z analogicznym związkiem 7-fenylacetamidowym.

Przykład LXXVI. a) Przeprowadzanie kwasu 3-benzotiotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 w sól wewnętrzną kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydyno)-metylo-cefemo-3-karboksylowego-4 z zastosowaniem azotanu rtęciowego w środowisku bezwodnym.

0,237 g (0,5 milimola) tiobenzoesanu wyżej wymienionego kwasu rozpuszcza się w 2,5 ml pirydyny, dodaje się mieszaninę 0,406 g (1,25 milimola) suszonego kilka dni nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> w próżni bezwodnego azotanu rtęciowego w 2,5 ml drugiego rozpuszczalnika i ogrzewa się całość w ciągu 5 godzin w temperaturze 50°C.

Pobrane w odpowiednich odstępach czasu próbki poddaje się elektroforezie, eluując miejsce odpowiadające związkowi pirydyniowemu i dokonując pomiarów absorpcji w nadfiolecie w pasmach 240 i 255 mμ. Poniżej podaje się czas potrzebny do osiągnięcia najwyższej próbki oraz wydajność związku pirydyniowego w mieszaninach pirydyny z każdym z podanych rozpuszczalników:

| Rozpuszczalnik           | Czas potrzebny do osiągnięcia maksymalnej wydajności w godzinach | Wydajność |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------|-----------|
| Acetonitryl              | 3                                                                | 27%       |
| Aceton                   | 2,5—3                                                            | 12%       |
| Dioksan                  | 3                                                                | 7%        |
| Chlorek metylenu***      | * —                                                              | 6%        |
| N,N-dwumetyloformamid*** | ** 17                                                            | 11%       |

\*\*\* jako czynnik elektrofilowy zastosowano azotan srebra

22

\* jako roztwór zastosowano mieszaninę pirydyny z dwuchlorkiem metylenu w stosunku objętościowym 2:98.

\*\* czas ten nie został ustalony jako najodpowiedniejszy.

b) Przeprowadzanie kwasu 3-benzotiotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido)-cefemo-3-karboksylowego-4 w sól wewnętrzną kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydyno)-metylo-cefemo-3-karboksylowego-4 z zastosowaniem nadchloranu rtęciowego w środowisku bezwodnym.

0,238 (0,5 milimola) tiobenzoesanu wyżej wymienionego kwasu rozpuszcza się w 2,5 ml pirydyny, dodaje się 1,25 ml milimola mieszaniny bezwodnego nadchloranu rtęciowego (wytworzonego przez wysuszenie 1,25 ml 1M wodnego roztworu i kilkudniowe suszenie produktu nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> w próżni) w 2,5 ml drugiego rozpuszczalnika. Po wstępnym ogrzaniu całości do temperatury około 35°C pozostawia się mieszaninę na 4 godziny w temperaturze 25—30°C, po czym w odpowiednich odstępach czasu pobiera się próbki w celu zbadania ich w nadfiolecie.

25

| Rozpuszczalnik    | Czas potrzebny do osiągnięcia maksymalnej wydajności w godzinach | Wydajność |
|-------------------|------------------------------------------------------------------|-----------|
| Acetonitryl       | około 2                                                          | 67%       |
| N-metylopirolidon | < 0,5                                                            | 72%       |

30

Przykład LXXVII. Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydyno)-metylo-cefemo-3-karboksylowego-4 z 2-(4'-karboksy-7'-2''-tienyloacetamido-3'-cefemilo-3'-metylotio)-4-metylopirymidyny.

35

Do wirującego roztworu 4,6 g (10 milimoli) 2-(4'-karboksy-7'-2''-tienyloacetamido-3'-cefemilo-3'-metylotio)-4-metylopirymidyny w 50 ml pirydyny

5 dodaje się roztwór 8 g (20 milimoli) wysuszonego nadchloranu rtęciowego w 50 ml acetonitrylu. Mieszanie tę wiruje się w temperaturze 50°C w ciągu 20 minut, po czym odparowuje się ją do stanu suchego w wyparce obrotowej w ciągu 35 minut w temperaturze do 40°C. Uzyskany osad zawiesza się w 100 ml wody i przez 15 minut przepuszcza się przez zawieszoną strumień siarkowodoru.

Następnie przepuszczając azot przez 20 minut usuwa się nadmiar siarkowodoru i odsącza się siarczek rtęciowy przez warstwę ziemi okrzemkowej. Przesącz przepuszcza się przez kolumnę o 3 cm średnicy składającej się z 20 ml Zeo-karb 226 (H<sup>+</sup>), 60 ml Deacidite EF (OAc<sup>-</sup>), 20 ml Zeo-karb 226 (H<sup>+</sup>) i 60 ml Dowex-1 (OAc<sup>-</sup>). Eluowanie kolumny kontynuuje się dopóty, dopóki nie zbierze się 1,5 litrów, stosując płuczki z warstwą ziemi okrzemkowej, po czym suszy się połączone eluaty. 3,54 g uzyskanej stałej substancji zawiesza się w około 15 ml wody i przez dodanie amoniaku podnosi się pH z 3,5 do 4,5.

Po odsączeniu i usunięciu w ten sposób niewielkiej ilości substancji nierozpuszczalnej, ustala się pH na 1,2 przez dodanie kwasu azotowego. Azotan pochodnej pirydyniowej wyosobnia się w postaci 2,9 g (60%) bladej żółtej stałej krystalicznej substancji o  $\lambda$  max. 237—239 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  314),  $\lambda$  (załamanie) 255 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  286),  $[\alpha]_D + 43^\circ$  (c 1,1 w buforze fosforanowym o pH 7).

Postępując podobnie, lecz stosując 4 g (12,4 milimoli) azotanu rtęciowego otrzymuje się 0,68 g (35%) pochodnej pirydyniowej o  $\lambda$  max. 240 m ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  369),  $\lambda$  (załamanie) 255 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  337) (stosunek 1,095),  $[\alpha]_D + 43^\circ$  (c 1,0 woda). W innym doświadczeniu z zastosowaniem azotanu rtęciowego otrzymuje się pochodną pirydyniową o  $\lambda$  max. 240 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  363),  $\lambda$  (załamanie) 255 m $\mu$  ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$  328) (stosunek 1,09),  $[\alpha]_D + 47^\circ$  (c 1,0 woda).

Elektroforeza wykazuje, że pochodna pirydyniowa tworzy się z pochodnej 4-metylo-2-merkaptopyrymidynowej, jeżeli następujące rozpuszczalniki zmiesza się z pirydyną w różnych objętościach, a jako promotor zastosuje się azotan rtęciowy. W każdym przypadku ustala się tożsamość pochodnej pirydyniowej na podstawie stosunku absorpcyjności (w wodnych roztworach):

$$\frac{\text{gęstość optyczna w paśmie 238 m}\mu}{\text{gęstość optyczna w paśmie 255 m}\mu} = 1,1$$

- 1) dwumetylosulfotlenek
- 2) dwumetyloacetamid
- 3) dwumetyloformamid
- 4) acetonitryl
- 5) chlorek metylenu
- 6) bezwodny alkohol etylowy
- 7) nitrometan
- 8) N-metylopirolidon
- 9) dioksan

Ruchliwość produktów reakcji przy pH = 1,9 porównano ze standartowymi próbkami pochodnej

pirydyniowej, przy czym wykrywanie odbywało się pod promieniami nadfioletowymi z natryskiwaniem jodoplatynianem potasowym.

Postępując jak w przykładzie LXXVII, z tymi samymi substancjami wyjściowymi stosuje się różne sole rtęciowe i rozpuszczalniki, otrzymując następujące wyniki:

| 10 | Sól rtęciowa | Rozpuszczalnik <sup>1</sup> | Maksymalna wydajność % | Czas <sup>2</sup> w minutach |
|----|--------------|-----------------------------|------------------------|------------------------------|
|    | octan        | aceton                      | 12                     | 60                           |
|    | azotan       | aceton                      | 24                     | 15                           |
| 15 | octan        | acetonitryl                 | 10                     | 60                           |
|    | azotan       | acetonitryl                 | 59                     | 40                           |
|    | octan        | dioksan                     | 12                     | > 150 <sup>3</sup>           |
|    | azotan       | dioksan                     | 55                     | > 180 <sup>3</sup>           |

- 20 1. 50% rozpuszczalnika z pirydyną
2. Czas w przybliżeniu dla maksymalnej wydajności.
3. Nie osiągnięto maksymalnej wydajności

25 **Przykład LXXVIII.** Przeprowadzenie 2-(4'-karboksy-7'- 2''-tienyloacetamido-3'-cefemio-3'-metylotio)-4-metylopirymidyny w sól wewnętrzną kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydino)-metylo-cefemo-3-karboksylowego-4 z zastosowaniem soli metali w rozpuszczalnikach bezwodnych.

| 30 | Promotor                                         | Równoważnik | Rozpuszczalnik | Maksymalna wydajność % | Czas w minutach |
|----|--------------------------------------------------|-------------|----------------|------------------------|-----------------|
| 35 | Hg(C <sub>10</sub> H <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 2           | acetonitryl    | 80                     | 40              |
|    | Hg(C <sub>10</sub> H <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 3           | acetonitryl    | 80                     | 20              |
|    | Hg(C <sub>10</sub> H <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 3           | nitrometan     | 73                     | 40              |
|    | Hg(C <sub>10</sub> H <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 3           | pirydyna       | 58                     | 40              |
| 40 | Hg(BF <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>                | 2           | acetonitryl    | 60                     | 50              |
|    | Hg(CN) <sub>2</sub>                              | 1—3         | acetonitryl    | < 10                   | 120             |
|    | AgBF <sub>4</sub>                                | 2           | acetonitryl    | 45                     | 30              |

45 Reakcje prowadzi się w temperaturze 50° stosując mieszaninę danego rozpuszczalnika z pirydyną w stosunku 1:1.

**Przykład LXXIX.** Przeprowadzenie 2-(4'-karboksy-7'- 2''-tienyloacetamido-3'-cefemio-3'-metylotio)-4-metylopirymidyny (A) w związku C<sub>A</sub> z zastosowaniem nadchloranu rtęciowego.

50 Do roztworu 2-merkapt-4-metylopirymidyny w odpowiednim rozpuszczalniku dodaje się nukleofil i 2 równoważniki wysuszonego nadchloranu rtęciowego. Analizę przeprowadza się po 15, 30 i 60 minutach drogą elektroforezy bibułowej przy pH 1,9, 30 v/cm na papierze Whatman'a 3 MM w ciągu 1,5—3 godzin. Związki C<sub>A</sub> przemieszczają się w kierunku katody i obserwuje się je w postaci plam absorbujących promienie nadfioletowe i zabarwiających się jodoplatynianem.

| Przykład nr | A mg | Nukleofil mg                   | Rozpuszczalnik ml       | Temperatura °C | Czas w minutach | Przemieszczanie się ku katodzie podczas elektroforezy |
|-------------|------|--------------------------------|-------------------------|----------------|-----------------|-------------------------------------------------------|
| I           | 20   | amid kwasu izonikotynowego 378 | CH <sub>3</sub> CN      | 35             | 0—60            | 1,2 cm                                                |
| II          | 46   | amid kwasu izonikotynowego 61  | Me <sub>2</sub> N-Ac 1  | 50             | 0—60            | 1,5 cm                                                |
| III         | 20   | α-pikolina 0,25 ml             | CH <sub>3</sub> CN 0,25 | 35             | 0—60            | 1,5 cm                                                |
| IV          | 20   | amid kwasu nikotynowego 378    | CH <sub>3</sub> CN 2    | 35             | 0—60            | 1,1 cm                                                |

## 25

Przykład LXXX. Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-[(4"-karboksyamido)-N-pirydino]-metylo-cefemo-3-karboksyłowego-4.

Reakcję prowadzi się jak w przykładzie LXXIX (1) z tym, że stosuje się 23 mg 2-(4'-karboksy-7-2"-tienyloacetamido-3'-cefemylo-3'-metylotio)-4-metylopirymidyny, 9,2 mg amidu kwasu izonikotynowego, 0,25 ml acetonitrylu i 0,25 ml wody. Reakcję prowadzi się w ciągu 60 minut w temperaturze 50°C. Uzyskany produkt przemieszcza się 1,5 cm w kierunku katody.

Przykład LXXXI. Reakcja kwasu 3-benzotiotiometylo-7-fenyloacetamido-cefemo-3-karboksyłowego-4 z nikotynianem etylowym z zastosowaniem nadchloranu rtęciowego jako promotora.

Do roztworu 117 mg (0,25 milimola) kwasu 3-benzotiotiometylo-7-fenyloacetamido-cefemo-3-karboksyłowego-4 w 1,25 ml nikotynianu etylowego dodaje się 0,625 ml roztworu nadchloranu rtęciowego (wytworzonego przez zawieszenie 0,25 mola żółtego tlenku rtęciowego w 100 ml wody, dodanie 0,52 mola kwasu nadchlorowego, mieszanie, odsączenie i rozcieńczenie przesączu wodą do 250 ml), po czym rozcieńcza się tę mieszaninę 0,625 ml acetonitrylu i w ciągu 1 godziny ogrzewa w temperaturze 50°C.

Przez następne 5 minut przepuszcza się powolny strumień siarkowodoru, mieszaninę odsącza się, a osad płucze się 10 ml wody. Połączone płuczki i przesącz ekstrahuje się kolejno 2 × 20 ml roztworu Amberlite LA 1 w benzenie w stosunku 2:1, 10 ml benzenu i 10 ml chlorku metylenu. W celu usunięcia pozostałości rozpuszczalników organicznych odparowuje się warstwę wodną w wyparce obrotowej, a następnie przepuszcza się tę warstwę przez kolumnę 10 ml Dowex-1 (OAc-). Kolumnę tę eluuje się wodą do zebrania 76 ml.

Po zliofilizowaniu otrzymuje się białozółty proszek, który przy 10-minutowej analizie elektroforetycznej z zastosowaniem buforu o pH 1,9 i gradientu 75 V/cm, ujawnia pojedynczą plamę przemieszczającą się 0,7 cm w kierunku katody i zabarwiającą się na kolor szarobrunatny pod wpływem wodnego roztworu jodoplatynianu potasowego. Podobne własności wykazuje produkt wytworzony z kwasu 7-fenyloacetamidocefalosporanowego i nikotynianu etylowego sposobem opisanym przez Hale'a, Newtona i Abrahama w Biochemical Journal, (1961) 79 str. 403.

## 26

Przykład LXXXII. a) Wytwarzanie 2-(7-D-5"-amino-5"-karboksypentanoamido-4'-karboksy-3'-cefemylo-3'-metylo)-tio-4,6-dwumetylopirymidyny (soli potasowej).

Do gorącego (80°C) roztworu 4,6-dwumetylo-2-merkaptopirymidyny, wytworzonego przez rozpuszczenie 23,4 g (1,2 równoważnika) chlorowodoru 4,6-dwumetylo-2-merkaptopirymidyny w 200 ml wody i ustalenie pH roztworu na 6,0 przy pomocy roztworu wodorotlenku sodowego, dodaje się 50 g soli potasowej cefalosporyny C i mieszaninę tę ogrzewa się w ciągu 1 godziny w temperaturze 80°C w atmosferze azotu.

Po ochłodzeniu i pozostawieniu w chłodni na noc otrzymuje się 6,02 g (10%) niemal czystych kryształów produktu o  $[\alpha]_D^{20} - 41^\circ$  (c 1,0 H<sub>2</sub>O),  $\lambda$  max. 265 m $\mu$  ( $E_{1cm}^{1\%}$  339, 18,100; Rf 0,24 względem kwasu 7-fenyloacetamidocefalosporanowego n-PrOH-H<sub>2</sub>O w stosunku 7:3; o przemieszczeniu w postaci kationu 2,5 cm przez 90 minut, przy pH 1,9 i gradiencie 16 V/cm.

Po stężeniu przesącza w próżni otrzymuje się dalsze 17,92 g (30%) produktu o  $\lambda$  max. 265 — 268 m $\mu$  ( $E_{1cm}^{1\%}$  320). Po ostatecznym strąceniu przez dodanie etanolu otrzymuje się 18,91 g (32%) surowego produktu o  $\lambda$  max. 262 — 266 m $\mu$  ( $E_{1cm}^{1\%}$  254).

b) Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu N-(7-D-5"-amino-5"-karboksypentanoamido)-3-(N-pirydino)-metylo-cefemo-3-karboksyłowego-4.

Postępując jak w przykładzie LIV, lecz z zastosowaniem 2-(7-D-5"-amino-5"-karboksypentanoamido-4'-karboksy-3'-cefemylo-3'-metylo)-tio-4,6-dwumetylopirymidyny, otrzymuje się powyższy związek (wydajność 63%) o  $[\alpha]_D^{20} + 14^\circ$  (c 1,0 H<sub>2</sub>O), Rf 0,062 względem kwasu 7-fenyloacetamidocefalosporanowego (n-PrOH-H<sub>2</sub>O w stosunku 7:3), o przemieszczeniu w postaci kationu 3,1 cm w ciągu 70 minut, przy gradiencie 16 V/cm i buforze o pH 1,9. Jest to produkt identyczny z tym, który otrzymuje się drogą bezpośredniego zastąpienia grupy acetoksy cefalosporyny C pirydyną.

Przykład LXXXIII. a) Wytwarzanie 2-(7'-amino-4'-karboksy-3'-cefemylo-3'-metylo)-tio-4,6-dwumetylopirymidyny.

Postępując jak w przykładzie XII z zastosowaniem kwasu 7-aminocefalosporanowego i 4,6-dwumetylo-2-merkaptopirymidyny, otrzymuje się pro-

dukt (wydajność 53%) o  $[a]_D^{20} - 10,4^\circ$  (c 1,0 3-procentowy  $\text{NaHCO}_3$ ),  $\lambda_{\text{max}}$  266 — 268 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  430,  $\epsilon$  15,100), Rf 0,71 względem kwasu 7-fenylacetamidocefalospiranowego (n-PrOH-H<sub>2</sub>O w stosunku 7:3), o przemieszczeniu w postaci kationu 3,5 cm w ciągu 90 minut przy buforze o pH 1,9 i gradientcie 16 V/cm.

b) Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-amino-3-(N-pirydyno)-metylo- cefemo-3- karboksylowego-4.

Postępując jak w przykładzie LVI b) lecz z zastosowaniem 2- (7'-amino-4'-karboksy-3'-cefemilo-3'-metylo)-tio-4,6-dwumetylopirymidyny, otrzymuje się surowy produkt z domieszką 4,6-dwumetylo-2-merkaptopirymidyny o Rf 0,21 względem kwasu 7-fenylacetamidocefalospiranowego (n-PrOH-H<sub>2</sub>O) w stosunku 7:3 i o przemieszczeniu w postaci kationu 6,2 cm w ciągu 90 minut, przy buforze o pH 1,9 i gradientcie 16 V/cm. Pod wpływem reagentu ninhydrynowego, produkt ten zabarwia się na kolor żółty.

Przykład LXXXIV. Zastosowanie kompleksu soli metalu z pirydyną.

1) Do 20 ml pirydyny dodaje się w temperaturze 0°C 20 ml (0,4 mola) wodnego roztworu nadchloranu rtęciowego, wytworzonego przez rozpuszczenie żółtego tlenku rtęciowego w niewielkim nadmiarze kwasu nadchlorowego, osad płucze się zimną wodą i przekształca z wody gorącej. Po wysuszeniu bezbarwnych igiełek w próżni nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, otrzymuje się 3,75 g (84%) substancji o temperaturze topnienia 343°C (rozkład). Stwierdzono: C — 21,6%; H — 2,1%; Hg — 34,9%; N — 5,3%. C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>HgN<sub>2</sub>O<sub>8</sub> wymaga C — 21,6%; H — 1,8%; Hg — 36,0%; N — 5,0%.

2) 1,19 g kwasu 3-pikoloinolotiometylo-7-(2'-tienyloacetamido)-cefem-3-karboksylowego-4 rozpuszcza się w 10 ml pirydyny, dodaje się 10 ml wody i ochładza się roztwór do temperatury 23°C. W ciągu 2 minut dodaje się, mieszając, roztwór 3,35 g (2,4 równoważniki) nadchloranu dwupirydynortęciowego wytworzonego jak wyżej (1) w 20 ml wodnego roztworu pirydyny w stosunku objętościowym 1:1.

Po upływie 1 godziny przepuszcza się siarkowodór w ciągu 5 minut i odsąca się czarny osad. Z przesączu jak w przykładzie LVI otrzymuje się sól addycyjną z kwasem azotowym, z której po wysuszeniu nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pod ciśnieniem 1 mm, otrzymuje się 0,74 g (62%) produktu o  $\lambda_{\text{max}}$  (H<sub>2</sub>O) 239 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  354) i  $\lambda$  (załamanie) 255 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  318). Jak opisano w przykładzie LVI, kwaśny azotan ten można przekształcić w betainę.

Przykład LXXXV. Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydyno)-metylo- cefemo-3-karboksylowego-4 z cykloheksyloaminowej soli S-(7-2'-tienyloacetamido-4-karboksy-3- cefemilo-3- metylo)-N,N-dwumetylodwutiokarbaminianu z zastosowaniem nadchloranu rtęciowego.

Do roztworu 55 mg (1 milimol) cykloheksyloaminowej soli pochodnej dwumetylodwutiokarbaminianu w 0,5 ml pirydyny i 0,25 ml wody dodaje się 0,25 ml (2,5 równoważnika) 1 M roztworu nadchloro-

ranu rtęciowego i mieszaninę tę ogrzewa się w ciągu 45 minut w temperaturze 50°C. W odpowiednich odstępach czasu pobiera się próbki i określa się ilość utworzonego związanego pirydyniowego drogą chromatografii bibulowej.

#### Stosunek

| Czas/<br>minuty | $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ w paśmie 240 m $\mu$ | Wydajność<br>% |
|-----------------|---------------------------------------------|----------------|
|                 | $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ w paśmie 255 m $\mu$ |                |
| 3               | 1,02                                        | 27             |
| 5               | 1,1                                         | 29             |
| 7               | 1,07                                        | 30             |
| 10              | 1,1                                         | 34             |
| 15              | 1,09                                        | 36             |
| 30              | 1,1                                         | 35             |
| 45              | 1,1                                         | 34             |

Jako rozpuszczalnik stosuje się górną fazę mieszaniny butanolu, etanolu i wody w stosunku 4:1:5 i zrównoważa się zbiornik fazą dolną. Chromatografię prowadzi się przez noc przy pomocy papieru Whatman'a nr 3 MM metodą przemieszczania pionowego. Po umiejscowieniu i wyosobnieniu pochodnej, określa się jej właściwości podobnie jak w przypadku opisanej powyżej elektroforezy, na podstawie charakterystyki widmowej czystej próbki.

Przykład LXXXVI wykazuje, że zastosowanie środowiska wodnego nie jest konieczne ani przy wytwarzaniu związków o wzorze 5, ani związków o wzorze 1 oraz, że nie trzeba wyosobniać związku o wzorze 5 przed przeprowadzeniem go w związek o wzorze 1.

Przykład LXXXVI. Wytwarzanie soli wewnętrznej kwasu 7-(N-2'-tienyloacetamido)-3-(N-pirydyno)-metylo- cefemo-3-karboksylowego-4 z kwasu 7-(2'-tienyloacetamido)-cefalospiranowego w formamidzie, z zastosowaniem tiosiarczanu sodowego i nadchloranu rtęciowego.

Do roztworu 0,88 g (1,1 równoważnika) bezwodnego tiosiarczanu sodowego w 25 ml formamidu dodaje się w temperaturze 100°C 2,09 g 7-(2'-tienyloacetamido)-cefalospiranianu sodowego i mieszaninę tę ogrzewa się w ciągu 20 minut w temperaturze 100°C. Po ochłodzeniu określa się ilość utworzonej pochodnej tiosiarczanowej drogą chromatografii bibulowej (około 57%), podobnie jak w przykładzie LXXXV.

Do 13,5 ml ochłodzonej do temperatury 40°C mieszaniny reakcyjnej dodaje się 13,5 ml pirydyny i 2,5 g (2,5 równoważnika) wysuszonego nadchloranu rtęciowego. Mieszaninę tę miesza się w temperaturze 40°C w ciągu 35 minut, pobierając próbki w odpowiednich odstępach czasu. Podobnie jak wyżej, drogą elektroforezy bibulowej określa się ilość utworzonego związku pirydyniowego.

| Czas/minuty | Ilość<br>związku pirydyniowego |  |
|-------------|--------------------------------|--|
|             | %                              |  |
| 5           | 30,5                           |  |
| 10          | 32,5                           |  |
| 15          | 35                             |  |
| 20          | 36,5                           |  |
| 30          | 35                             |  |
| 35          | 40                             |  |

1. Sposób wytwarzania pochodnych cefalosporyny o ogólnym wzorze 1, w którym  $R^1$  oznacza grupę acylową, przy czym pierścień pirydynowy może być podstawiony jednym lub kilkoma atomami lub grupami, **znamienny tym**, że związek siarkowy o wzorze 5, w którym  $R^2$  oznacza grupę acylową,  $-S-Y$  oznacza resztę nukleofilu, a  $X$  oznacza kation, poddaje się reakcji z pirydyną lub podstawioną pirydyną w środowisku reakcyjnym zawierającym rozpuszczoną sól rtęci, srebra lub złota, która tworzy kompleks z resztą  $-S-Y$  i dysocjuje w wodzie.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w środowisku zawierającym 2 — 5 równoważników soli w stosunku do ilości związku o wzorze 5.
3. Sposób według zastrz. 1, 2, **znamienny tym**, że jako środowisko reakcyjne stosuje się wodę.
4. Sposób według zastrz. 1 — 3, **znamienny tym**, że reakcję z pirydyną prowadzi się w temperaturze 20° — 100°C.
5. Sposób według zastrz. 1 — 4, **znamienny tym**, że reakcji poddaje się związek o wzorze 5, w którym  $R^2$  oznacza rodnik o wzorze  $R'(CH_2)_nCO$ , w którym  $R^1$  oznacza fenyl podstawiony fenyl, cykloalkil, podstawiony cykloalkil lub grupę heterocykliczną, a  $n$  oznacza liczbę całkowitą 1—4, a pozostałe podstawniki mają znaczenie podane w zastrz. 1.
6. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że reakcji poddaje się związek o wzorze 5, w którym  $R^1$  oznacza grupę tienylo-2-acetylową, a pozostałe podstawniki mają znaczenie podane w zastrz. 1.
7. Sposób według zastrz. 1 — 6, **znamienny tym**, że reakcji z pirydyną poddaje się związek o wzorze 5 wytwarzany drogą bezpośredniej reakcji związku o wzorze 6, w którym  $R^2$  i  $X$  mają znaczenie jak w zastrz. 1, z nukleofilem zawierającym siarkę.
8. Sposób według zastrz. 7, **znamienny tym**, że związek o wzorze 6 poddaje się reakcji z tio-siarczanami, merkaptanami, tiomocznikami, tioamidami, tiofenolami lub dwutiokarbaminianami.
9. Sposób według zastrz. 7 i 8, **znamienny tym**, że związek o wzorze 6 poddaje się reakcji z 2-merkaptto-4-metylopirymidyną lub tiosiarczaniem sodowym.
10. Sposób według zastrz. 7, **znamienny tym**, że związek o wzorze 6 poddaje się reakcji z nukleofilem o wzorze  $YSH$ , w którym  $Y$  oznacza grupę  $R^3-CZ$  lub  $R^3-SO_2$ , gdzie  $Z$  oznacza siarkę lub tlen, a  $R^3$  oznacza rodnik alifatyczny, arylowy, aralifatyczny, heterocykliczny lub rodnik alifatyczny podstawiony grupą heterocykliczną lub z rozpuszczalną w wodzie solą tego nukleofilu.
11. Sposób według zastrz. 10, **znamienny tym**, że związek o wzorze 6 poddaje się reakcji z kwasem tiobenzoesowym lub jego solą z metalami alkalicznymi.

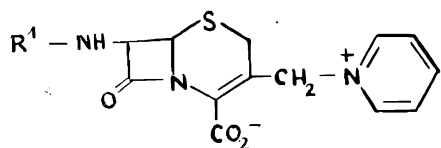
12. Sposób według zastrz. 10, **znamienny tym**, że związek o wzorze 6 poddaje się reakcji ze związkiem o wzorze 7, w którym  $R^4$  oznacza rodnik alkilowy o 1—4 atomach węgla lub pierścień benzenowy, a  $n$  oznacza zero, 1 lub 2, lub z jego solą z metalami alkalicznymi.
13. Sposób według zastrz. 12, **znamienny tym**, że związek o wzorze 6, poddaje się reakcji z kwasem tiopikolinowym lub tiopikolinianem sodowym.
14. Sposób według zastrz. 7, **znamienny tym**, że związek o wzorze 6 poddaje się reakcji ze związkiem o wzorze 8, w którym  $m$  oznacza zero lub 1,  $Q$  oznacza tlen, siarkę,  $NH$  lub grupę  $N$ -alkilową o 1—4 atomach węgla, a  $R^4$  i  $n$  mają znaczenie jak w zastrz. 12, lub z jego solą z metalami alkalicznymi.
15. Sposób według zastrz. 14, **znamienny tym**, że związek o wzorze 6 poddaje się reakcji z 2-tiokarboksymetylotiofenem lub jego solą sodową.
16. Sposób według zastrz. 1—15, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w środowisku zawierającym sól  $HgD_2$  lub  $HgD$ , gdzie  $D$  oznacza słabo nukleofilowy anion, przy czym sól metalu odszczepia w roztworze wodnym kationy  $Hg^{++}$  i albo  $HgD^+$  albo sól rtęci  $Hg_nE_n$  z anionem dwu- lub wyżej wartościowym, gdzie  $E$  oznacza anion, a  $n$  liczbę odpowiadającą wartościowości tego anionu, względnie sól  $Ag_mF$ , gdzie  $F$  oznacza słabo nukleofilowy anion  $m$ -wartościowy, a  $m$  oznacza 1 lub większą liczbę.
17. Sposób według zastrz. 16, **znamienny tym**, że stosuje się sól z anionem kwasu, którego  $pK_a$  w roztworze wodnym wynosi poniżej 2.
18. Sposób według zastrz. 16 i 17, **znamienny tym**, że stosuje się sól z anionem, którego stała nukleofilowa jest mniejsza od stałej nukleofilowej jonu octanowego przy jednostopniowym podstawieniu nukleofilowym w środowisku wodnym.
19. Sposób według zastrz. 16—18, **znamienny tym**, że stosuje się sól, która rozpuszcza się w wodzie lepiej niż odpowiedni octan.
20. Sposób według zastrz. 16—19, **znamienny tym**, że stosuje się rtęciową lub srebrną sól kwasu nadchlorowego lub kwasu azotowego.
21. Sposób według zastrz. 20, **znamienny tym**, że stosuje się nadchloran rtęciowy.
22. Sposób według zastrz. 16—19, **znamienny tym**, że stosuje się nadchloran rtęciawy.
23. Sposób według zastrz. 16—19, **znamienny tym**, że stosuje się trójfluorooctan rtęciowy.
24. Sposób według zastrz. 1—23, **znamienny tym**, że związek o wzorze 5 poddaje się reakcji ze wstępnie utworzonym kompleksem soli metalu z pirydyną.
25. Sposób według zastrz. 1—2 i 4—24, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w bezwodnym środowisku niewodnego rozpuszczalnika.
26. Sposób według zastrz. 25, **znamienny tym**, że jako rozpuszczalnik stosuje się ciekłą pirydynę.
27. Sposób według zastrz. 25, **znamienny tym**, że jako rozpuszczalnik stosuje się nityl niższego kwasu alkanokarboksylowego.

28. Sposób według zastrz. 27, **znamienny tym**, że stosuje się acetonitryl lub propionitryl.
29. Sposób według zastrz. 25, **znamienny tym**, że jako rozpuszczalnik stosuje się chlorowcowany węglowodór.
30. Sposób według zastrz. 29, **znamienny tym**, że stosuje się czterochlorek węgla, chloroform, chlorek etylenu, czterochloroetylen lub chlorek metylenu.
31. Sposób według zastrz. 25, **znamienny tym**, że jako rozpuszczalnik stosuje się niższy nitroalkan lub nitrowy związek aromatyczny.
32. Sposób według zastrz. 31, **znamienny tym**, że stosuje się nitrometan.
33. Sposób według zastrz. 25, **znamienny tym**, że jako rozpuszczalnik stosuje się cykliczny eter.
34. Sposób według zastrz. 33, **znamienny tym**, że stosuje się dioksan lub czterowodorofuran.
35. Sposób według zastrz. 25, **znamienny tym**, że jako rozpuszczalnik stosuje się amid o wzorze ogólnym  $R^3-CO-NR^4-R^5$ , w którym  $R^3$  oznacza atom wodoru lub rodnik alkilowy o 1—5 atomach węgla, a  $R^4$  i  $R^5$  te same lub różniące się między sobą, oznaczają atomy wodoru lub

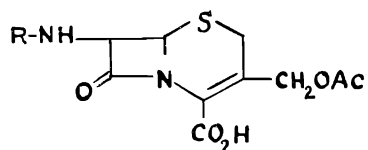
- rodniki alkilowe o 1—5 atomach węgla, albo  $R^4$  i  $R^5$  tworzą dwuwartościowy rodnik alifatyczny, który wraz z przyległym atomem azotu tworzy pierścień heterocykliczny.
36. Sposób według zastrz. 35, **znamienny tym**, że stosuje się N,N-dwumetyloformamid, N,N-dwumetyloformamid, N-metyloformamid lub N,N-dwumetyloacetamid.
37. Sposób według zastrz. 1—36, **znamienny tym**, że związek o wzorze 5 poddaje się reakcji ze związkiem o wzorze 9, w którym  $R^5$  oznacza niższy alkil, karbamyl, karbamyl podstawiony przy azocie rodnikiem alkilowym, karbamyl dwupodstawiony przy azocie niższymi rodnikami alkilowymi, niższy alkoksycarbonyl, niższy alkil podstawiony grupą hydroksylową, karbamyl podstawiony przy azocie niższym rodnikiem alkilowym podstawionym grupą hydroksylową lub niższy alkil podstawiony grupą karbamylową, a p oznacza 1, 2 lub 3.
38. Sposób według zastrz. 1—23 i 25—37, **znamienny tym**, że reakcji z pirydyną lub podstawioną pirydyną poddaje się sól metaliczną związku o wzorze 5.



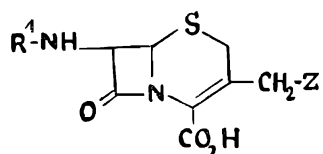
Dokonano 5 poprawek



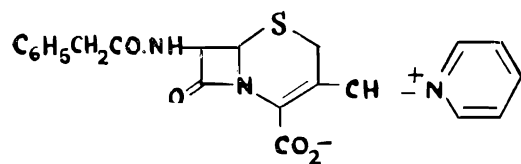
WZÓR 1



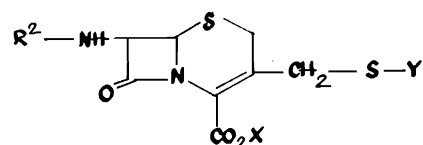
WZÓR 2



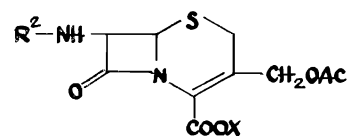
WZÓR 3



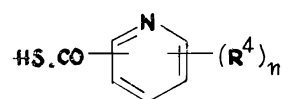
WZÓR 4



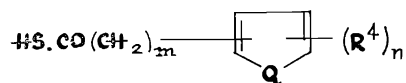
WZÓR 5



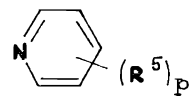
WZÓR 6



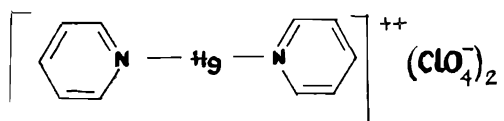
WZÓR 7



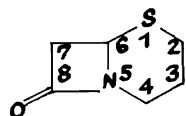
WZÓR 8



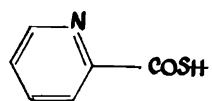
WZÓR 9



WZÓR 10



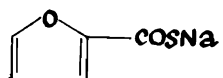
WZÓR 11



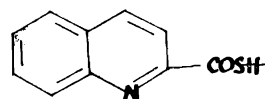
WZÓR 12



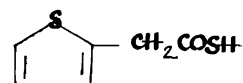
WZÓR 13



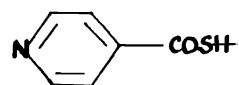
WZÓR 14



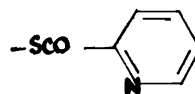
WZÓR 15



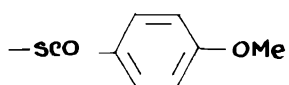
WZÓR 16



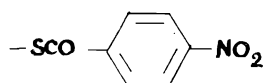
WZÓR 17



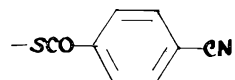
WZÓR 18



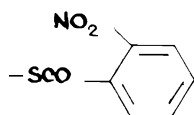
WZÓR 19



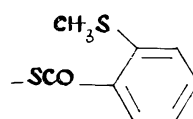
WZÓR 20



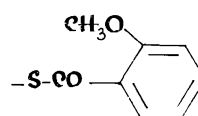
WZÓR 21



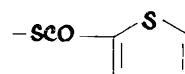
WZÓR 22



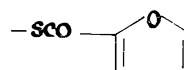
WZÓR 23



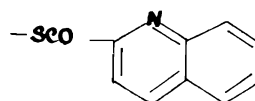
WZÓR 24



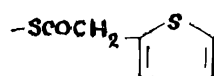
WZÓR 25



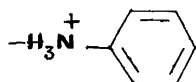
WZÓR 26



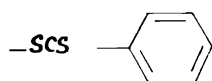
WZÓR 27



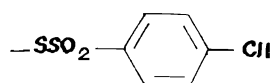
WZÓR 28



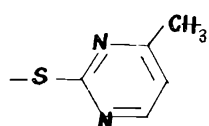
WZÓR 29



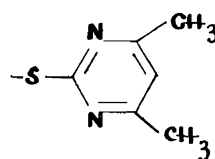
WZÓR 30



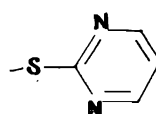
WZÓR 31



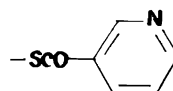
WZÓR 32



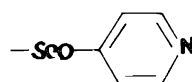
WZÓR 33



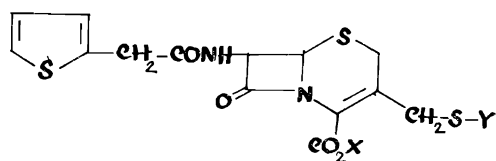
WZÓR 34



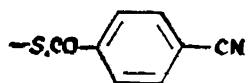
WZÓR 35



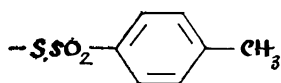
WZÓR 36



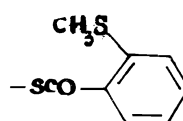
WZÓR 37



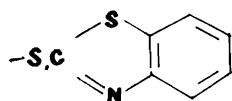
WZÓR 38



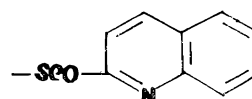
WZÓR 39



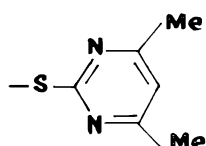
WZÓR 43



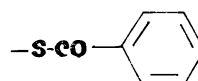
WZÓR 40



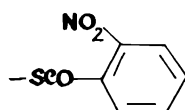
WZÓR 44



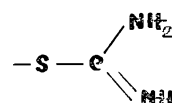
WZÓR 41



WZÓR 45



WZÓR 42



WZÓR 43