



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

214694
(11) (B2)

(51) Int. Cl.³
C 07 D 501/60

(22) Přihlášeno 31 01 80

(21) [PV 658-80]

(32) (31) (33) Právo přednosti od 01 02 79
[8468] Spojené státy americké

(40) Zveřejněno 31 08 81

(45) Vydáno 15 09 84

(72)

Autor vynálezu FISHER JACK WAYNE, INDIANAPOLIS, INDIANA (Sp. st. a.)

(73)

Majitel patentu ELI LILLY AND COMPANY, INDIANAPOLIS, INDIANA (Sp. st. a.)

(54) Způsob přípravy solvátů cefalosporinu

1

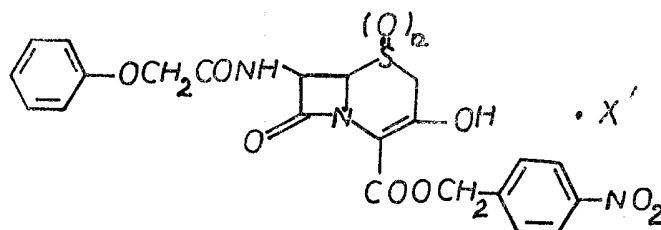
3-Hydroxy-3-cefem a odpovídající sulfoxidy jsou známy jako meziproducty při chemickém převádění penicilinů na cefalosporiny substituované přímo v poloze 3 atomem halogenu, alkoxyem nebo jinou funkční skupinou. Tsuji nárokuje v USA patent č. 4 079 181 přípravu 3-hydroxy-3-cefemů z penicilinsulfoxidu odvozeného z bicyklických thiazolinazetidinonů (USA patent č. 3 705 892). 3-Hydroxy-3-cefemy se také připravují ozonolysou odpovídajících 3-exomethylencefamů a penicilinsulfoxidu odvozeného z 3-exomethylencefamsulfoxidů (USA patent č. 4 052 387) jak je popsáno Chauvettem v USA pattech č. 3 917 587 a 4 060 688. Rovněž tak Hatfield nedávno popsal redukci 3-exomethylencefamu a 3-hydroxycefemsulfoxidů na odpovídající sulfidy použitím acetyl bromidu jakožto redukčního činidla. Příprava 3-halogencefe-

2

mů a 3-hydroxycefemetherů z 3-hydroxycefemů, je nárokována Chauvettem v USA pattech č. 3 925 372 a 3 917 587. Klinicky použitelným cefalosporinovým antibiotikem, které se připravuje z 3-hydroxycefemových meziproductů je 7-[D-(2-amino-2-fenylacetamido)]-3-chlor-3-cefem-4-karboxylová kyselina.

Předložený vynález se týká krystalických solvátů 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylátu a odpovídajícího sulfoxidu s kyselinou octovou, kyselinou propionovou, methylenchloridem a methanolem. Nález těchto solvátů umožňuje snazší izolaci a čištění 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylátu a jeho 1-oxidu.

Předmětem předloženého vynálezu je způsob přípravy solvátů cefalosporinu obecného vzorce I



kde

n je 1 nebo 0 a

X je CH_3COOH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ nebo CH_3OH ,
jestliže n je 1 a

X je CH_3COOH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ nebo $1/2$
 CH_2Cl_2 jestliže n je 0, který se vyznačuje
tím, že

jestliže n je 1 nebo 0 uvede se ve styk 4'-
nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-
-3-cefemkarboxylát sulfid nebo jeho sulfo-
xid s kyselinou octovou nebo kyselinou pro-
pionovou, případně v přítomnosti rozpouš-
tédla mísitelného s vodou nebo nemísitel-
ného s vodou a solvát s kyselinou octovou
nebo kyselinou propionovou vykristaluje,

jestliže n je 0, rozpustí se 4'-nitrobenzyl-
-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefemkar-
boxylát sulfid v methylenchloridu a solvát
se methylenchloridem vykristaluje a

jestliže se připravuje solvát vzorce I, kde
X je CH_3OH , suspenduje se solvát s kyse-
linou octovou nebo kyselinou propionovou
v methanolu a odstraní se vzniklá směs
kyseliny octové a methanolu nebo směs
kyseliny propionové a methanolu.

Solváty s kyselinou octovou, které jsou
výhodnými sloučeninami podle předlože-
ného vynálezu, obsahují 1 molární ekviva-
lent kyseliny octové na každý mol 3-hyd-
roxycefemu. Připravují se jednoduše při-
dáním kyseliny octové k roztoku obsahují-
címu 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-
-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát nebo jeho 1-
-oxid. V závislosti na koncentraci 3-hydro-
xycefemu v roztoku a příslušném použitém
rozpuštědlem vykristaluje solvát s kyselinou
octovou spontánně nebo se přivede ke krys-
talizaci běžnými krystalizačními technika-
mi, jako je snížení teploty roztoku, přidání
nerozpouštědla nebo naočkováním krysta-
ly příslušného solvátu nebo použití kteréko-
li kombinace těchto krystalizačních metod.
Krystalické solváty s kyselinou octovou se
izolují filtrací.

Rozpouštědla, ze kterých solváty s kyse-
linou octovou podle předložného vynálezu
vykristalují, jsou obecně ta organická roz-
pouštědla, ve kterých je 3-hydroxycefemsul-
foxid rozpustný. Vhodná rozpouštědla za-
hrnují halogenované uhlovodíky, jako je me-
thylenchlorid, chloroform, ethylendichlorid
a 1,1,2-trichlorethan, cyklické ethery, jako je
tetrahydrofuran, a dioxan, amidy, jako je
dimethylformamid nebo dimethylacetamid.
Alternativně solváty kyseliny octové se mo-
hou izolovat ze samotné kyseliny octové.

Jako nerozpouštědla pro krystalizaci sol-
vátů s kyselinou octovou z rozpouštědel ne-
mísitelných s vodou se mohou použít nižší
alifatické uhlovodíky, jako je pentan hexan,
cyklohexan nebo petrolether. Jako neroz-
pouštědlo při krystalizaci solvátů s kyse-
linou octovou z rozpouštědel mísitelných s
vodou jako je dimethylformamid nebo kyse-
lina octová se s výhodou používá voda.

Roztoky, ze kterých se solváty s kyse-
linou octovou podle předložného vynálezu

izolují, mohou být reakční směsi, ve kte-
rých se 3-hydroxycefemsulfoxid připravuje
nebo se takové roztoky mohou připravit jed-
noduše rozpuštěním 3-hydroxy-3-cefemu
(sulfoxidu), běžně v nečistém stavu, v roz-
pouštědle vhodném pro čištění krystaliza-
cí ve formě solvátů s kyselinou octovou.
Solvát 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-
-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát-1-oxidu s ky-
selinou octovou, který krystaluje ze směsi
kyseliny octové a vody, má teplotu tání 138
až 140 °C.

Solváty s kyselinou propionovou podle
předložného vynálezu se připravují, krys-
talizují a izolují postupem, který je analo-
gický pro přípravu solvátů s kyselinou oc-
tovou s tou výjimkou, že se kyselina pro-
pionová nahradí za kyselinu octovou. Solvát
4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydro-
xy-3-cefem-4-karboxylátu s kyselinou pro-
pionovou, který krystaluje ze směsi me-
thylenchloridu a kyselinou propionovou má
teplotu tání 89 až 91 °C, zatímco odpovída-
jící solvát 3-hydroxycefemsulfoxidu s kyse-
linou propionovou ze směsi dimethylforma-
midu, vody a kyseliny propionové, vykazu-
je teplotu tání 149 až 150 °C.

Solvát s methylenchloridem podle před-
ložného vynálezu obsahuje 0,5 molárního
ekvivalentu methylenchloridu na každý mol
3-hydroxy-3-cefemového esteru. Běžně se
připraví přidáním nerozpouštědla jako je
hexan k methylenchloridovému roztoku 4'-
nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-
-3-cefem-4-karboxylátu až do zákalu, na-
čež se roztok ochladí a s výhodou naočku-
je.

Charakteristickým rysem výše popsaných
solvátů je fakt, že při sušení ve vakuu i
při zvýšené teplotě (30 až 50 °C) nedochá-
zí k rozložení solvátu. Zahřívání solvátu k
teplotě tavení však uvolňuje vázané roz-
pouštědlo.

Solvát 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-
-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát-1-oxidu s
methanolem obsahuje 1 molární ekvivalent
methanolu na každý mol 3-hydroxycefem-
sulfoxidu. Připravuje se jednoduše suspen-
dováním vzorku výše popsaného solvátu 4-
nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-
-3-cefem-4-karboxylát-1-oxidu s kyselinou
octovou nebo kyselinou propionovou v me-
thanolu na 2 až 3 hodiny při teplotě míst-
nosti. Tento solvát s methanolem je „slab-
ším“ solvát, než jsou odpovídající solvá-
ty s kyselinou octovou nebo kyselinou pro-
pionovou. Tak sušením methanolického sol-
vátu ve vakuu při 30 až 50 °C po dobu 12
až 24 hodin se získá bezvodý nesolvatova-
ný vzorek 3-hydroxycefemsulfoxidu. Tak ne-
čistý vzorek 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetami-
do-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát-1-oxidu
se může čistit nejprve krystalizací ve for-
mě solvátu s kyselinou octovou nebo pro-
pionovou, přípravou methanolického solvá-
tu suspendováním solvátu s kyselinou v

methanolu a vysušením methanolického solvátu ve vakuu se pak připraví bezvodý nesolvatovaný 3-hydroxycefemsulfoxid.

Příprava 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylátu a jeho oxidu je popsán v USA patentech č. 4 044 002 a 4 060 688. USA patenty 4 079 181, 3 917 587, 3 925 372 a 3 917 588 dále popisují přípravu těchto sloučenin a jejich převedení na antibiotické sloučeniny.

Předložený vynález je dále objasněn v následujících příkladech.

Příklad 1

Solvát 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylátu s methylenchloridem

K roztoku 150 g (298,7 mmol) 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát 1-oxidu v 1500 ml methylenchloridu se přidá 75 ml (705 mmol) amylenu a pak přikape během 10 minut 54 ml (729 mmol) acetylbromidu, přičemž teplota se udržuje při 20 až 25 °C. Po 35 minutách při teplotě místnosti se reakční směs promyje vodou (2 × 1250 ml), roztokem chloridu sodného (1250 ml), vysuší síranem sodným a odpaří ve vakuu na objem 400 ml. Pak se přikape hexan (800 ml). Směs se po zakalení během přidávání hexanu naočkuje. Produkt vykristaluje a po 30 minutách se směs odfiltruje. Krystalická pevná látka se promyje 500 ml směsí hexanu a methylenchloridu (2 : 1), vysuší při 40 °C za sníženého tlaku přes noc. Získá se 135,1 g sloučeniny uvedené v nadpisu t. t. 75 °C (rozkl.).

NMR (DMSO d-6) δ

3,56 {ABq, 2}, 4,66 {s, 2}, 5,24 {d, 1, J=4 Hz}, 5,43 {s, 2}, 5,45 {q, 1, J=4 a 8 Hz}, 5,77 {s, 1, 1/2 CH₂Cl₂}, 7,0–8,4 {ArH} a 9,07 {d, 1, J=8 Hz}.

Analýza pro C_{22,5}H₂₀N₃O₈SCl

vypočteno:

C 51,19, H 3,82, Cl 6,72, N 7,96, O 24,24, S 6,07 %, nalezeno:

C 51,15, H 3,88, Cl 6,46, N 8,15, O 24,20, S 6,04 %.

Příklad 2

Solvát 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylátu s kyselinou octovou

[A] K roztoku 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát-1-oxidu, připraveného ozonolysou 15 g 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-methylencefam-4-karboxylát sulfoxidu v 135 ml me-

thylenchloridu, se při 15 °C přidá 8,8 ml amylenu a 6,1 ml acetylbromidu. Po dvou hodinách se přidá další 1,86 ml amylenu a 1,3 ml acetylbromidu. Po 1 hodině a znovu po 2 hodinách se přidá 25 ml propylenkarbonátu, aby se zvýšila rozpustnost 3-hydroxysulfoxidu. Reakční směs se ohřeje na 30 až 35 °C, načež se zdroj tepla odstraní. Po 6 hodinách při teplotě místnosti se reakční směs promyje vodou (4 × 500 ml) a pak odpaří ve vakuu na hmotnost 55 g. Sloučenina uvedená v nadpisu vykristaluje po přidání 75 ml kyseliny octové k reakční směsi. Krystalický produkt se odfiltruje, promyje a vysuší. Získá se 6,93 g t. t. 116 až 118 °C.

Spektrum nukleární magnetické resonance vysušeného produktu je identické se spektrem nesolvatovaného materiálu s výjimkou přítomnosti 1 ekvivalentu kyseliny octové (NMR integrace).

[B] V jiném pokusu se nesolvatovaný 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát připraví ve formě pěny z redukce 4,0 g odpovídajícího sulfoxidu chloridem fosforitým. Produkt se rozpustí ve 25 ml kyseliny octové. Solvát s kyselinou octovou (1,44 g) krystaluje z roztoku kyseliny octové.

[C] K roztoku 3-hydroxycefemsulfoxidu (7,52 g, 5 mmol) v 75 ml methylenchloridu se přidá 4,33 g (16,5 mmol) trifenylofosfinu a 2,34 ml (33 mmol) acetylchloridu. Směs se zahřívá 4 hodiny k varu (41 °C) pod zpětným chladičem. Směs se promyje vodou (5 × 50 ml) a roztokem chloridu sodného (25 ml), vysuší síranem sodným a pak se odpaří ve vakuu. Získá se 22 g sirupu, který nevykristaloval pokud roztok nebyl zpracován s 2 ml kyseliny octové. Směs se zředí 30 ml směsí hexanu a methylenchloridu (3 : 1) a před vysušením se filtruje. Získá se 6,30 g solvátu uvedeného v nadpisu, t. t. 111 až 115 °C.

Příklad 3

Solvát 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát 1-oxidu s kyselinou octovou

Nečistý 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát 1-oxid (400 g) se rozpustí v 1000 ml dimethylformamidu. Po 30 minutách se temný roztok zpracuje s 4 g aktivního uhlí (Darco) a pak se přefiltruje přes křemelinu Hyflo, aby se odstranily nerozpustné podíly. Filtrát se zředí 1200 ml kyseliny octové a naočkuje. Po 15 minutách produkt počne krystalovat. Pak se přikape 1200 ml vody. Třicet minut po skončení přidávání vody se sloučenina uvedená v nadpisu odfiltruje, promyje směsí voda : kyselina octová (1 : 1, 500 ml) a vodou (500 ml), produkt se suší přes noc při 40 °C.

Výtěžek 373,6 g.

NMR (DMSO d-6) δ

1,97 (s, 3, CH_3COOH), 4,09 (bs, 2), 4,78 (bs, 2), 5,12 (d, 1, $J=5$ Hz), 5,53 (bs, 2), 6,0 (q, 1, $J=5$ a 10 Hz) a 6,9–8,4 (ArH).

Analýza pro $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{S}$

vypočteno:

C 51,34, H 4,13, N 7,48, O 5,71 %, nalezeno:

C 50,83, H 4,12, N 7,17, O 5,23 %.

Příklad 4

Solvát 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát 1-oxidu s methanolem

(A) Ke 100 ml methanolu se přidá 10 g solvátu 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát 1-oxidu s kyselinou octovou. Po 3 hodinách při teplotě místnosti se roztok ochladí 30 minut v lázni s ledem a pak přefiltruje. Krystalický produkt se promyje studeným methanolem a vysuší. Získá se 7,85 g produktu, který natává při 87 až 88 °C, znovu ztuhne a taje při 118 až 120 °C.

NMR spektrum prokazuje, že obsahuje 1 ekvivalent methanolu.

(B) Solvát 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát 1-oxidu s kyselinou octovou (připravený ozonizací odpovídajícího 3-methylencefamsulfoxidu v methylenchloridu a použitím směsi kyseliny octové a vody vykrystalovaný) se suspenduje ve 150 ml methanolu za náočkování a míchání 1 hodinu při teplotě místnosti. Překrystalovaný produkt poskytuje jemnější krystaly než solvát s kyselinou octovou. Suspence se chladí v ledu 30 minut a pak se filtruje. Po promytí methanolickeho solvátu studeným methanolem se solvát suší přes noc při 40 až 45 °C ve vakuu a pak 4 hodiny při 50 až 55 °C. Získá se bílý prášek (13,77 g), t. t. 105 až 110 °C (čirý při 120 °C).

NMR spektrum vykazuje, že produkt je prostý solvátu (kyseliny octové nebo methanolu).

Příklad 5

Solvát 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylátu s kyselinou propionovou

5,28 g solvátu s methylenchloridem z příkladu 1 se rozpustí v 25 ml methylenchloridu při teplotě místnosti. Vzniklý roztok se zředí 25 ml kyseliny propionové. Objem

směsi se pak sníží odpařením ve vakuu. Krystaly sloučeniny uvedené v nadpisu vznikají během odpařování. Po 20 minutách se produkt izoluje filtrací, promyje se 15 ml kyseliny propionové a vysuší se ve vakuu při 35 °C. Izoluje se celkem 5,09 g produktu uvedeného v nadpisu.

NMR (CDCl_3) δ

1,16 (t, 3, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$), 2,4 (q, 2, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$), 3,45 (bs, 2, $\text{C}_2\text{—H}$), 2,96 (s, 2, $\text{C}_6\text{H}_3\text{OCH}_2$), 5,13 (d, 1, $J=4$ Hz, $\text{C}_6\text{—H}$), 5,45 (ABq, 2, ester CH_2), 5,75 (q, 1, $J=4$ Hz a 8 Hz, $\text{C}_7\text{—H}$) a 6,9–8,4 (m, 10, NH + ArH).

Analýza pro $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$

vypočteno:

C 53,66, H 4,50, N 7,51, S 5,73 %, nalezeno:

C 53,37, H 4,41, N 7,27, S 5,65 %.

Příklad 6

Solvát 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát 1-oxidu s kyselinou propionovou

20 g nečistého 4'-nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefem-4-karboxylát 1-oxidu se rozpustí v 50 ml dimethylformamidu za varu. Vzniklý roztok se filtruje přes skleněnou fritu použitím 10 ml dimethylformamidu. K filtrátu se přidá kyselina propionová (120 ml) a krystalizace se iniciuje škrabáním stěn nádoby obsahující směs. Během krystalizace se přikapává 60 ml vody. Reakční směs se pak míchá 60 minut při teplotě místnosti, krystalický produkt se odfiltruje, promyje směsí kyseliny propionové a vody (2 : 1). Vysušením ve vakuu při 45 až 50 °C přes noc se získá 14,76 g běžově zbarvených krystalů t. t. 149 až 150 °C.

NMR (DMSO d-6) δ

0,96 (t, 3, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$), 2,2 (q, 2, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$), 4,0 (bs, 2, $\text{C}_2\text{—H}$), 4,65 (bs, 2, $\text{C}_6\text{H}_5\text{OCH}_2$), 5,0 (d, 1, $J=4$ Hz, $\text{C}_6\text{—H}$), 5,45 (bs, 2, ester CH_2), 5,86 q, 1, $J=4$ a 10 Hz, $\text{C}_7\text{—H}$) a 6,7–8,2 (ArH).

Analýza pro $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{S}$

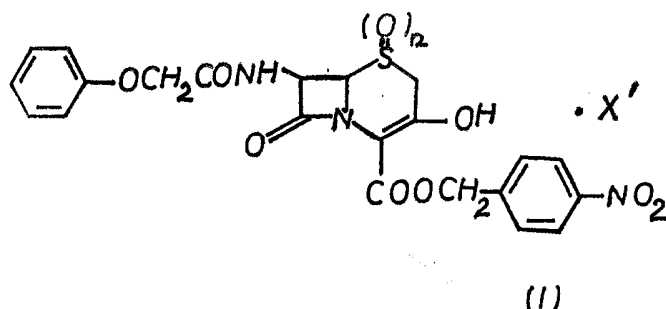
vypočteno:

C 52,17, H 4,38, N 7,30, O 30,58, S 5,47 %, nalezeno:

C 52,26, H 4,26, N 7,18, O 30,72, S 5,55 %.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob přípravy solvátů cefalosporinuobecného vzorce I



kde

n je 1 nebo 0 a

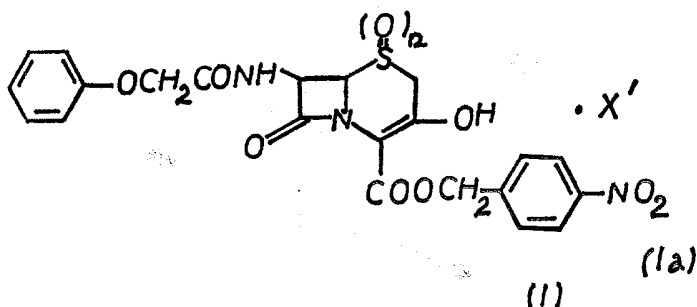
X je CH_3COOH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ nebo CH_3OH ,
jestliže n je 1 a

X je CH_3COOH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ nebo $1/2$
 CH_2Cl_2 jestliže n je 0, vyznačený tím, že
 jestliže n je 1 nebo 0, uvede se ve styk 4'-
 -nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-
 -3-cefemkarboxylát sulfid nebo jeho sulfo-
 xid s kyselinou octovou nebo kyselinou pro-
 pionovou, případně v přítomnosti rozpouš-
 tědla mísitelného s vodou nebo nemísitel-
 ného s vodou a solvát s kyselinou octovou

nebo kyselinou propionovou vykristaluje,
 jestliže n je 0, rozpustí se 4'-nitrobenzyl-
 -7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefemkar-
 boxylát sulfid v methylenchloridu a solvát
 s methylenchloridem vykristaluje a

jestliže se připravuje solvát vzorce I, kde
 X je CH_3OH , suspenduje se solvát s kyseli-
 nou octovou nebo kyselinou propionovou v
 methanolu a odstraní se vzniklá směs ky-
 seliny octové a methanolu nebo směs ky-
 seliny propionové a methanolu.

2. Způsob podle bodu 1 pro přípravu sol-
 vátů cefalosporinu obecného vzorce Ia



kde

n je 1 nebo 0 a

X' je CH_3COOH nebo CH_3OH , jestliže n
je 1 aX' je CH_3COOH nebo $1/2$ CH_2Cl_2 , jestliže
n je 0, vyznačený tím, že

jestliže n je 1 nebo 0, uvede se ve styk 4'-
 -nitrobenzyl-7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-
 -3-cefemkarboxylát sulfid nebo sulfoxid s
 kyselinou octovou, případně v přítomnosti
 rozpouštědla mísitelného s vodou nebo ne-
 mísitelného s vodou a solvát s kyselinou
 octovou vykristaluje,

jestliže n je 0, rozpustí se 4'-nitrobenzyl-
 -7-fenoxyacetamido-3-hydroxy-3-cefemkar-
 boxylát sulfid v methylenchloridu a solvát
 s methylenchloridem vykristaluje a

jestliže se připravuje solvát vzorce Ia, kde

X' je CH_3OH , suspenduje se solvát s kyseli-
 nou octovou v methanolu a odstraní
 se vzniklá směs kyseliny octové a metha-
 nolu.

3. Způsob podle bodu 1 nebo 2, vyzna-
 čený tím, že cefem-sulfid nebo -sulfoxid se
 rozpustí v organickém rozpouštědle mísi-
 telném nebo nemísitelném s vodou a s tím-
 to roztokem se smísí kyselina octová.

4. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím,
 že cefem-sulfid nebo -sulfoxid se rozpustí
 v organickém rozpouštědle mísitelném ne-
 bo nemísitelném s vodou a s tímto roztokem
 se smísí kyselina propionová.

5. Způsob podle bodu 1 nebo 2, vyzna-
 čený tím, že cefem-sulfid nebo -sulfoxid se
 rozpustí v kyselině octové a krystalizace
 se vyvolá přidáním vody k roztoku.