

INSTITUTUL POLITEHNIC "TRAIAN VUIA"
- TIMIȘOARA -
FACULTATEA DE INGINERIE CHIMICA

BIBLIOTECA CENTRALĂ
UNIVERSITATEA "POLITEHNICA"
TIMIȘOARA

SINTEZE DE COMPUSI ORGANOFOSFORICI
=====

CU PROPRIETATI POTENTIAL TERAPEUTICE
=====

(Epoxi-fosfonati si fosfinati cu actiune antibiotica)

Teză prezentată pentru
obținerea titlului de doctor-inginer

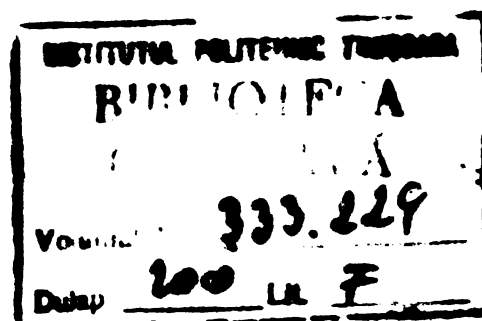
Ing. Deneș A. Alexandru

Conducător științific :

Profesor Doctor Docent ing. I. Dick

Conferențiar Doctor ing. R. Vlăceanu

- 1977 -



Datorez multă recunoștință și mulțumiri
Generalului-maior Chițac Mihai și
Colonelului ing. Mitru Gheorghe pentru
sprijinul permanent, acordat dezvoltării
mele profesionale.

Imi exprim cel mai sincer omagiu regretatului Prof.dr.doc.ing. I.Dick, sub îndrumarea căruia am început stagiul de doctorat, pentru îndrumarea de o înaltă ținută științifică, înțelegerea și încurajarea continuă, pe care mi le-a acordat.

Aduc calde mulțumiri Conf.dr.ing.R.Vîlceanu pentru bunăvoința cu care a preluat conducerea științifică a lucrării și pentru prețiosul sprijin acordat în timpul elaborării tezei.

Cu deosebit respect mulțumesc Prof.S.Trippett M.A., Ph.D., Sc.D., șeful departamentului de chimie organică al Universității Leicester - Anglia, pentru generosul ajutor, acordat în documentarea și efectuarea unor lucrări de laborator, în vederea elaborării tezei.

Datorez mulțumiri tuturor colegilor mei din sectorul de analize fizico-chimice și compartimentul de analize biochimice pentru ajutorul prietenesc primit la efectuarea determinărilor de specialitate.

C U P R I N S

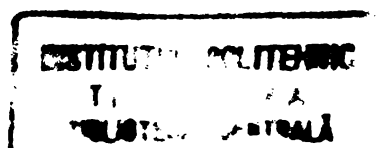
=====

	<u>pag.</u>
- Introducere-prezentarea problemei.	1
1. - Acidul (-)- <u>cis</u> -1,2-epoxipropilfosfonic	10
1.1. - Descrierea Fosfonomicinei	10
1.2. - Metode generale de sinteză a Fosfonomicinei.	13
1.2.1. - Obținerea acidului <u>cis</u> -1,2-propenilfosfonic.	14
1.2.2. - Epoxidarea acidului <u>cis</u> -1,2-propenilfosfonic	18
1.2.3. - Metode directe de obținere a acidului <u>cis</u> -1,2-epoxipropilfosfonic	18
2. - Lucrări originale-descrierea metodelor noi elaborate pentru obținerea Fosfonomicinei, a unor omologi fosfonici și fosfinici ai acesteia, precum și a substanțelor intermediare necesare	23
2.1. - Sinteza Fosfonomicinei	23
2.1.1. - Izomerizarea acetilen-alenică a propargilfosfiților	24
2.2. - Metode noi elaborate pentru sinteza Fosfonomicinei	30
2.2.1. - Rearanjarea acetilen-alenică a propargildiclorfosfitului și bis-(dimetilamido)-propargilfosfitului.	30
2.2.2. - Dehidrohalogenarea acizilor (\pm)- <u>trans</u> -(1-halo-2-hidroxi-propil)-fosfonici și a esterilor acestora	35
2.2.3. - Dehidrohalogenarea acizilor (1-halo-etoxi)-metilfosfonici și a esterilor acestora	41
2.3. - Sinteza unor omologi fosfonici și fosfinici noi ai acidului <u>cis</u> -1,2-epoxipropilfosfonic.	43

INSTITUTUL DE RESEARCH
 TIMIȘOARA
 BIBLIOTECA CENTRALĂ

	<u>pag.</u>
2.3.1.- Acizi epoxifosfonici și derivați	43
2.3.2.- Acizi epoxifosfinici și derivați	51
2.4. - Sinteza Fosfonomicinei și a unor omologi fosfinici conținând P ³²	56
2.4.1. - Sinteza Fosfonomicinei marcate cu P ³²	57
2.4.2.- Sinteza acidului <u>cis</u> -1,2-epoxipropil-metil- fosfinic marcat cu P ³²	57
3. - Stereochimia acidului epoxipropilfosfonic.	59
4. - Metode de analiză a compușilor sintetizați	62
4.1. - Analize elementare	62
4.2. - Spectre I. R.	62
4.3. - Spectre R.M.N.	71
4.4. - Analize gaz-cromatografice	85
4.5. - Analize prin cromatografie în strat subțire.	91
4.6. - Analize spectrofotometrice în U.V. și vizibil	92
4.7. - Alte determinări fizico-chimice.	92
4.7.1.- Determinări radiometrice	92
4.7.2.- Determinări polarimetrice.	93
5. - Comportarea in vitro și in vivo a epoxifos- fonaților și fosfinaților sintetizați.	93
5.1. - Stabilitatea epoxifosfonaților și fosfinaților	93
5.2. - Absorbția, repartizarea în țesuturi și eli- minarea	96
5.2.1.- Absorbția preparatelor administrate.	97
5.2.2.- Repartizarea în țesuturi și organe	97
5.2.3.- Excreția	98
5.3. - Testarea activității antibiotice și a toxi- cității compușilor sintetizați	99
5.3.1.- Activitatea antibiotică.	100
5.3.2.- Toxicitatea.	104
5.3.3.- Activitatea antienzimatică	105

	<u>pag.</u>
5.4. - Mecanismul de acțiune biochimică.	106
5.4.1.- Biochimia peretelui celular bacterian și fosfonomicinele	109
5.5. - Aplicații practice.	118
6. - Concluzii	121
7. - Partea experimentală.	125
7.1. - Acidul <u>cis</u> -1,2-epoxipropilfosfonic și sărurile acestuia	125
7.1.1.- Sinteza materiilor prime și intermediare.	129
7.2. - Dimetil și dietilesterii acidului (<u>1</u>) . .	143
7.3. - Derivați halogenați ai acidului (<u>1</u>). . .	144
7.3.1.- Sinteza materiilor prime și intermediare.	146
7.4. - Acidul 2-fenil-(<u>cis</u> -1,2-epoxietil)- fosfonic și derivați	148
7.4.1.- Sinteza materiilor prime și intermediare.	148
7.5. - Acizi epoxifosfonici omologi ai Fos- fonomicinei	151
7.5.1.- Acizi epitiofosfonici	154
7.5.2.- Sinteza materiilor prime și intermediare.	155
7.6. - Acizi epoxifosfinici și derivați	159
7.6.1.- Esteri ai acizilor epoxifosfinici. . . .	160
7.6.2.- Sinteza materiilor prime și intermediare.	162
7.7. - Sinteza fosfono și fosfinoepoxizilor marcați cu P ³²	167
8. - Bibliografie	170



I N T R O D U C E R E

Fosforul este un element important în constituția materiei vii, reprezentând la om și vertebrate în general, aproximativ 1% din greutatea corpului. Cea mai mare parte a fosforului se găsește în organism sub formă de fosfați minerali (aproximativ 87,5%) în scheletul osos, restul fiind repartizat într-o mare varietate structurală de organofosfați, în toate țesuturile.

Structura, repartiția, rolul biochimic și metabolismul organofosfaților naturali constituie subiectul unui volum imens de lucrări, strâns legate de studiul unor procese biochimice fundamentale.

Chimia compușilor organofosforici sintetici s-a născut și s-a dezvoltat relativ târziu, în special după descoperirea unor proprietăți fiziologice interesante ale esterilor fosforici, care au deschis largi domenii de aplicații practice pentru aceste categorii de substanțe.

Primele lucrări mai ample în domeniul compușilor organici ai fosforului au fost efectuate de către școala germană condusă de Michaelis începând din 1874, continuate și dezvoltate apoi de către Arbuzov și colaboratorii săi în Rusia.

Prin aceste lucrări au fost puse la punct câteva metode sintetice de baza, în special pentru prepararea fosfonaților și a acizilor fosfonici corespunzători, cunoscute în literatura de specialitate sub denumirile de "Transpoziția Michaelis-Arbuzov" și "Transpoziția Michaelis-Becker".

În anul 1930, în S.U.A. se descoperă în mod accidental proprietățile neurotoxice ale tricrezilfosfaților, iar cu doi ani mai târziu, Lange și Krüger regăsesc aceste proprietăți la o serie de dialchilfluorfosfați sintetizați în laborator.

Studiul sistematic al compușilor organofosforici fiziologic activi a început în Germania în 1935, prin lucrările lui G. Schrader. Paralel cu lucrările efectuate în Germania, Mc.Combie și Saunders în Anglia dezvoltă studiile începute de Lange și Krüger în domeniul dialchilhalogenfosfaților.

Din păcate, în timpul celui de al doilea război mondial toate aceste lucrări devenind secrete, rezultatele lor nu

au fost publicate decît mult mai tîrziu, începînd din anul 1945.

În perioada postbelică, chimia compușilor organofosforici a cunoscut o dezvoltare vertiginoasă, determinată de numeroasele aplicații practice valoroase ale acestor compuși, ca: insectofungicide, ignifuganți, plastifianți, mase plastice cu însușiri speciale, coloranți și indicatori, solvenți și extracțanți selectivi, agenți activi de suprafață, diverse tipuri de medicamente etc. [1] .

În domeniul medicamentelor de sinteză, compușii organofosforici au găsit aplicații în primul rînd ca preparate anticolinesterazice deosebit de active, fără a fi însă lipsite de importanță și interes nici celelalte utilizări la aproape toate categoriile de medicamente, atît ca structuri active independente, cît și ca grupări auxiliare, introduse în moleculele unor substanțe medicamentoase bine cunoscute, în vederea ameliorării calităților acestora (ca stabilizatori, solubilizanți etc.).

O primă încercare de a sistematiza substanțele medicamentoase cu structuri organofosforice, studiate în laborator, în experiment clinic, sau introduse în uz terapeutic curent, aparține lui Cheymol, care într-un articol monografic relativ recent [2] trece în revistă un număr însemnat de compuși organofosforici cu diverse acțiuni medicamentoase (preparate anticolinesterazice, medicamente cu acțiune antipiretică-analgezică, sedative, anticonvulsivante, anestezice, cardiovasculare, compuși organofosforici cu acțiune antimicrobiană, medicamente cu acțiune psihotropă, solubilizarea și stabilizarea substanțelor medicamentoase prin fosforilare etc.).

Mai tîrziu, același autor consacră o altă monografie [3] compușilor organofosforici cu acțiune citostatică, inventariind un număr de peste 250 substanțe sintetizate (în special fosforamide), încercate in vitro și in vivo pe diverse tipuri de tumori și formațiuni neoplazice.

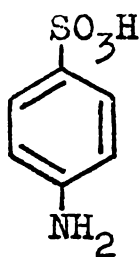
Compușii organofosforici studiați pînă în prezent sub aspect farmacologic, aparțin în cea mai mare parte clasei organofosfaților, numărul derivaților acizilor fosfonici și fosfinici cu aplicații terapeutice fiind mult mai redus.

Făcînd abstracție de numărul impresionant al derivaților fosfonați cu proprietăți anticolinesterazice, din care însă numai foarte puține preparate au intrat în uz terapeutic curent datorită toxicității lor deosebit de ridicate,

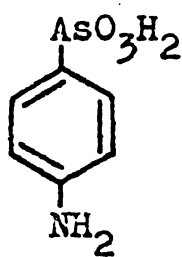
fosfonații și fosfinații în general, au fost studiați mai puțin ca agenți terapeutici potențiali, în comparație cu volumul studiilor consacrate organofosfaților. [67, 68] .

Ținând seamă de asemănările structurale dintre grupările fosfonil pe de o parte, și grupările carbonil și sulfonil pe de altă parte, precum și de tăria excepțională a legăturii P-C (Energia de legătură: 62 Kcal/mol [38]), au fost efectuate numeroase încercări de introducere a grupeii fosfonil în unele structuri fiziologic active, în locul grupelor carbonil și sulfonil, obținând astfel omologii fosfonați ai unor substanțe medicamentoase bine cunoscute.

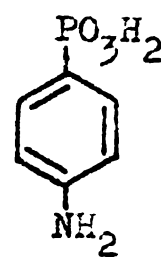
Se remarcă sub acest aspect lucrările lui Bauer [4] , redate apoi de Klotz și colab. [5, 6, 7] privind sinteza și studiul farmacologic al derivaților acidului 4-aminobenzenfosfonic (denumit de Bauer în analogie cu acizii sulfanilic și arsanilic, "acid fosfanilic").



Acidul sulfanilic



Acidul arsanilic



Acidul fosfanilic

În experiențele in vitro, amida acidului fosfanilic a arătat o activitate bactericidă similară cu cea a sulfamidelor simple (față de E.coli), această acțiune fiind antagonizată de aproximativ aceeași concentrație de acid p-aminobenzoic ca și în cazul sulfanilamidei, ceea ce sugerează un mecanism de acțiune similar cu cel al sulfamidelor (antimetaboliți ai acidului P.A.B.).

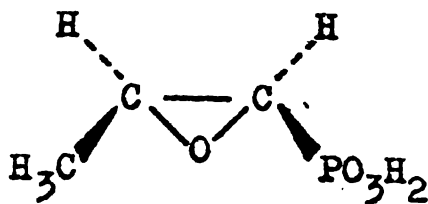
Un alt exemplu de îmbunătățire prin fosfonilare a unor substanțe medicamentoase, îl constituie derivații fosfonați ai Procainamidei și analogului acestuia - Ambonestilul. În ambele cazuri, prin înlocuirea grupelor C=O cu grupe P=C în molecula acidului p-aminobenzoic și respectiv izonicotinic, rezultă fosfonamidele corespunzătoare, care prezintă proprietăți antiaritmice, antifibrilatorii și cardiotonice mai intense decât carbonilderivații inițiali, având în plus și o ușoară acțiune anestezică [2] .

Un domeniu al chimiei compușilor organofosforici, care se bucură de multă atenție în ultimul timp, înregistrându-se numeroase lucrări publicate și brevete acordate, este cea a complexanților organofosforici. În principiu, complexanții organofosforici sînt analogi ai acizilor policarboxilici, în moleculele cărora toate grupările carboxilice au fost înlocuite prin grupări fosfonice.

Cu toate că în unele domenii complexanții organofosforici și-au găsit deja numeroase utilizări practice (în special ca agenți extractanți la prelucrarea minereurilor), acești compuși sînt încă insuficient studiați sub aspectul perspectivelor ce se pot deschide în biochimie și terapeutică.

Introducerea în terapeutică curentă și experiența clinică acumulată prin utilizarea unui astfel de agent complexant - sarea de sodiu a acidului etilendiamino-diizopropilfosfonic, ("FOSFICIN" - U.R.S.S.), a demonstrat că acizii alchilaminofosfonici pot fi utilizați cu succes în tratamentul intoxicațiilor cronice și acute cu metale grele [8].

Cea mai recentă și poate din punct de vedere practic, cea mai importantă descoperire în domeniul acizilor alchilfosfonici cu uz terapeutic potențial, a fost izolarea din anumite culturi de *Streptomyces*, a unui compus chimic cu proprietăți antibiotice remarcabile: acidul (-)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic, denumit "FOSFONOMICINA", urmată apoi de verificarea structurii compusului prin sinteză totală [9, 10].



Fosfonomicina

Fosfonomicina prezintă o activitate antibiotică *in vitro* și *in vivo* față de un număr mare de germeni Gram-pozitivi și Gram-negativi, putînd fi comparată favorabil cu alte antibiotice cu spectru larg de acțiune, ca Tetraciclina și Cloramfenicolul.

Fosfonomicina acționează asupra microorganismelor patogene probabil prin întreruperea succesiunii reacțiilor de

biosintează a unor precursori importanți în sinteza pereților celulari bacterieni [11, 12].

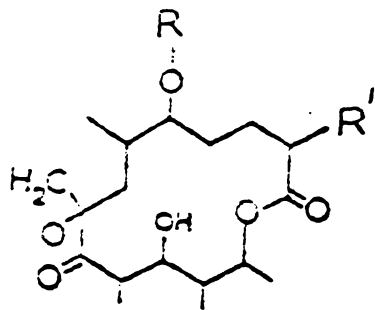
Descoperirea fosfonomicinei a generat ulterior preocupări intense din partea unui număr mare de laboratoare și firme comerciale producătoare de medicamente - preocupări îndreptate în direcția găsirii unor metode de sinteză corespunzătoare și acoperirea acestora cu brevete [13, 14, 15, 16, 17].

Totodată, descoperirea unui nou acid fosfonic natural prezintă și o importanță teoretică deosebită prin aceea că apariția unui compus fosfonic cu o structură deosebită de cea a câtorva acizi alchilaminofosfonici naturali cunoscuți anterior, a readus în actualitate problema controversată și revizuirea concepției privind imposibilitatea biosintezei legăturii P-C. O tentativă de explicație și un mecanism teoretic corespunzător asupra biosintezei fosfonaților, au fost date aproximativ în același timp cu descrierea Fosfonomicinei, de către Kittredge și Roberts [18].

De asemenea, prin structura sa α -epoxidică, Fosfonomicina contribuie nu numai la îmbogățirea domeniului compușilor epoxidici naturali cu activitate fiziologică, ci ar putea deschide un nou capitol deosebit de interesant din punct de vedere teoretic și promițător sub aspectul aplicațiilor practice potențiale. În această idee, dezvoltarea studiilor asupra derivaților acizilor alchil- și aril-epoxifosfonici ar permite obținerea unor noi compuși de o mare varietate structurală.

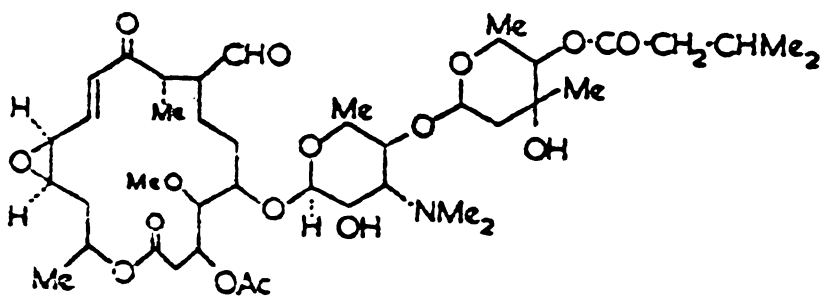
Se cunosc în prezent numeroși epoxizi naturali [52]. Far funcțiile lor biologice, legate de reactivitatea remarcabilă a inelului epoxidic, au fost descrise recent într-o lucrare monografică de către Cross și colab. [53].

Astfel, dintre compușii epoxidici naturali cu acțiune antibiotică pronunțată se impun a fi enumerate Oleandomicina, produs de fitobiosintează a leandrului (*Nerium oleander*), Carbo-
micina, izolată din produsele metabolice ale *S.halstedie*, Fumagilina, produsă de *Aspergillus fumigatus* [58, 59], Nistatina din seria macrolidelor polienice (cu structura încă insuficient elucidată, în molecula căreia însă s-a dovedit în mod neîndoiește existența a cel puțin unui inel epoxidic) [54, 55], precum și Pimaricina, un alt reprezentant al macrolidelor cu proprietăți antibiotice [60, 61].

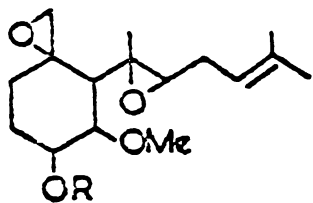


Oleandomicina

R = desosamina
R' = L-oleandoză

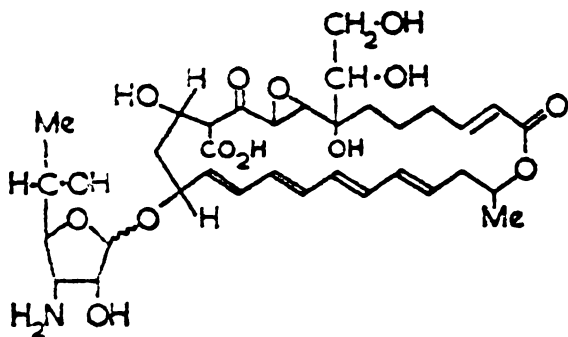


Carbomicina (Magnamicina)



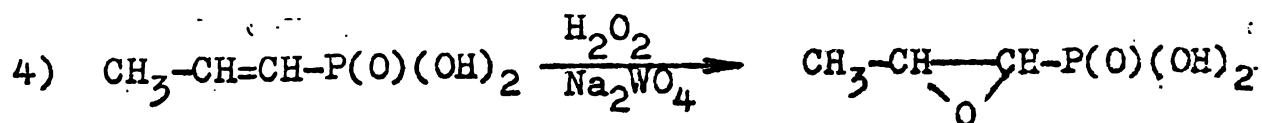
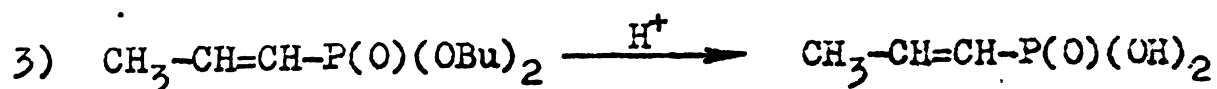
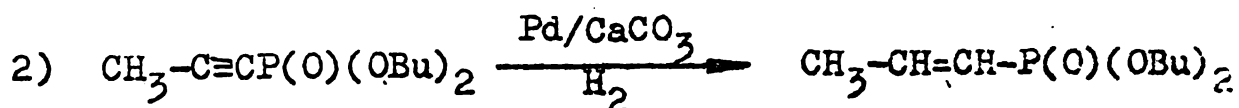
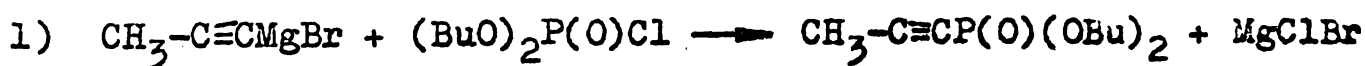
Tuzagilina

R = CO(CH=CH)₄-COOH

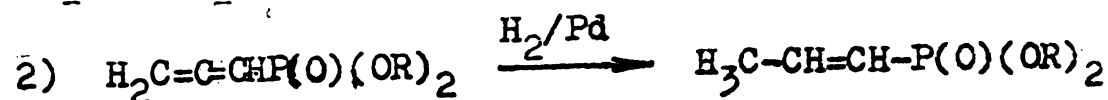
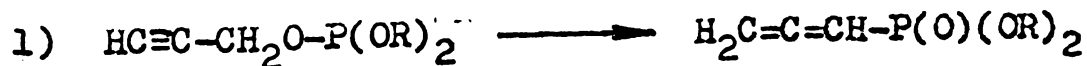


Pimaricina

În cazul fosfomicinei, deși un compus cu o structură relativ simplă, metodele de sinteză descrise pînă în prezent în literatură nu sînt de o prea mare varietate. Astfel, exceptînd metoda utilizată pentru sinteza totală a compusului în vederea verificării structurii [10], care constă în esență în realizarea legăturii P-C prin reacția bromurii de propinilmagneziu cu dibutilclorfosfat, urmată de hidrogenarea catalitică parțială a triplei legături în prezență de catalizator Lindlar și hidroliza acidă a cis-1,2-propenilfosfonatului la acidul corespunzător, apoi epoxidarea acestuia cu apă oxigenată în prezență de tungstat de sodiu, aproape toate celelalte metode descrise în literatura de brevete fac uz de izomerizarea acetilen-alenică a unui fosfit mixt, concomitent cu reacția de transpoziție fosfit-fosfonat. Alenfosfonatul astfel obținut este apoi hidrogenat catalitic la cis-1,2-propenilfosfonat, care prin hidroliză, urmată de epoxidare și separarea antipozilor optici, conduce la acidul (-)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic [9] (sau sărurile acestuia), identic cu antibioticul natural.



Sinteza Fosfomicinei după Kittredge și colab. [10] :



Obținerea cis-1,2-propenilfosfonaților prin rearanjare acetilen-alenică [22, 23, 24, 24] .

În cazul tuturor metodelor descrise în literatură, bazate pe rearanjarea acetilen-alenică, se remarcă obținerea unor randamente totale relativ scăzute, datorite în special fazei de izomerizare acetilen-alenice.

Din studiile teoretice și lucrările practice întreprinse în cadrul prezentei teze de doctorat, a rezultat că factorul limitativ al randamentului în această etapă constă atât în rearanjarea incompletă a fosfitului mixt, cât și în izomerizarea prototropică inversă, alen-acetilenică a fosfonatului rezultat.

De asemenea, în urma încercărilor practice efectuate, a rezultat că în locul fosfiților micști se poate utiliza cu bune rezultate propargildiclorfosfitul, obținând în acest caz în urma izomerizării acetilen-alenice, clorura acidă a acidului propadienilfosfonic, care poate fi transformată apoi în sărurile corespunzătoare ale acidului metil-acetilenfosfonic prin simpla tratare cu hidroxizi alcalini a produsului de izomerizare. Din punct de vedere practic, avantajul acestui procedeu constă în aceea că, pe lângă simplificarea etapelor de sinteză (eliminând faza de esterificare și de hidroliză acidă), se evită formarea unor amestecuri complexe de alenfosfonați și acetilenfosfonați, greu de prelucrat, obținând un produs de izomerizare unitar, îmbunătățind astfel în mod substanțial randamentele totale.

Un alt obiectiv urmărit în cadrul prezentei lucrări a fost și studiul unor eventuale posibilități de înlocuire în sinteza Fosfomicinei, a alcoolului propargilic, deficitar, cu un alt compus mai ușor accesibil în condițiile țării noastre. În acest sens s-a încercat utilizarea în locul alcoolului-propargilic, a unui produs de hidroliză obținut din cis-1,3-diclor-prop-1-enă, sau chiar din amestecul celor doi izomeri cis-trans rezultat ca deșeu de la fabricarea glicerinei, stabilindu-se o tehnologie de laborator care permite obținerea antibioticului din materii prime indigene ieftine și valorificarea superioară a unor subproduse industriale printr-o prelucrare mai eficientă. (Până în prezent pentru valorificarea 1,3-diclor-propenelor s-a încercat numai utilizarea lor ca atare, în unele preparate nematocide relativ ieftine).

În sfârșit, ținând seamă de modul de acțiune probabil al antibioticului la nivelul biosistemelor celulare, s-a încercat și sinteza unor omologi fosfonați conținând diverși radicali alchil și aril legați de atomul de carbon din poziția β față de restul fosfonic, precum și sinteza unor reprezentanți 1,2-epoxifosfinici, unde una din grupările acide ale Fosfomicinei a fost substituită cu radicali alifatici inferiori.

Toate produsele finite sintetizate au fost testate sub aspectul acțiunii lor antibiotice in vitro și in vivo, al toxicității lor pe diverse specii de animale de laborator, precum și sub aspectul repartizării unora dintre omologi în diferite organe și eliminarea lor din organism, utilizând în acest scop preparate marcate cu izotopi radioactivi (P^{32}), sintetizate în laborator.

De asemenea, având în vedere structura organofosforică a compușilor sintetizați, care deși nu întrunesc condițiile structurale obligatorii ale inhibitorilor de colinesterază, conținând pe o eventuală posibilitate de transformări ale moleculelor în biosistemele animale, pentru toți compușii sintetizați și testați sub aspectul acțiunii antibiotice, a fost determinat și indicele de inhibare colinesterazică in vitro, în sânge integral, sau preparate eritrocitare.

Studiile întreprinse pentru sinteza Fosfomicinei și a substanțelor intermediare necesare, folosirea în acest scop a unor materii prime indigene, contribuțiile aduse la îmbunătățirea metodelor de sinteză cunoscute și descrise în literatură, sinteza unor omologi fosfonici și fosfinici noi, stabilirea unor metode de analiză fizico-chimice, discutarea unor aspecte stereochemice, determinarea activității antibiotice și a acțiunii toxice a produselor sintetizate, constituie subiectul prezentei lucrări.

I. ACIDUL (-)-cis-1,2-EPOXIPROPILFOSFONIC
(FOSFONOMICINA)

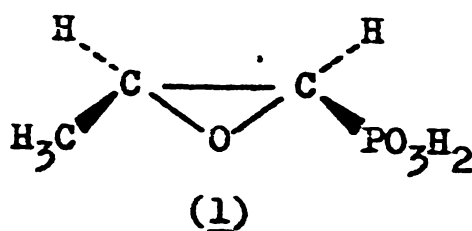
1.1. Descrierea Fosfonomicinei

Acidul (-)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic (Fosfonomicina), a fost descoperit în anul 1969 în culturile aerate, submerse ale unor tulpini de Streptomyces (Streptomyces Pradiae ATCC-21096, Streptomyces viridochromogenes ATCC-2140 și Streptomyces wedmorensis ATCC-21239) [9].

Produsul, cu proprietăți antibiotice remarcabile, a fost izolat din mediile de fermentare sub formă cristalină ca sare de calciu.

Purificarea produsului natural izolat a fost urmărită printr-un procedeu de difuzie pe disc de agar-agar in vitro, utilizând ca organism indicator Proteus vulgaris, precum și in vivo, printr-un test de protecție la șoarece [19] infectat cu Salmonella schottmuelleri-3010, o tulpină deosebit de sensibilă la acțiunea Fosfonomicinei.

Structura chimică și configurația sterică absolută a Fosfonomicinei au fost stabilite, apoi verificate printr-o sinteză totală originală de către Christensen și colab. [10], ca fiind acidul (-)-(1R, 2S)-1,2-epoxipropilfosfonic (1):



Sub formă de acid liber, Fosfonomicina se prezintă ca o substanță cu greutate moleculară mică, puternic polară și optic activă. Denumirea de Fosfonomicina a fost dată acidului liber, antibioticul poate însă exista și sub formă de sare neutră sau acidă, în funcție de pH-ul mediului.

În literatura de specialitate, Fosfonomicina a fost caracterizată numai sub formă de săruri:

- sare de (+)- α -feniletilamoniu [13]:

$$P_t = 132-134^{\circ}\text{C}; [\alpha]_{405}^{28} = -2,6^{\circ} (\text{C}_5, \text{H}_2\text{O});$$

$$[\alpha]_{405}^{28} = +18,7^{\circ} (\text{C}_3, \text{DMF});$$

$$P_t = 137-140^{\circ}\text{C} [27]$$

- sare de monobenzilamoniu [10] :

$P_t = 170-174$ (tub capilar, încălzire rapidă)

$$[\alpha]_{405}^{28} = -9,1^\circ \text{ (C5, H}_2\text{O)}$$

- sare de (+)-amfetamină [27]

$P_t = 163-165^\circ\text{C.}$

Ca activitate, Fosfomicina este bactericida, interferînd cu unele etape cheie în biosinteza pereților celulari bacterieni. Efectul antibioticului asupra integrității pereților celulari bacterieni rezulta în mod evident din apariția sferoblaștilor la un număr mare de specii bacteriene expuse la acțiunea Fosfomicinei în medii cu osmolaritate ridicată. Mai mult, din unele studii biochimice rezultă că Fosfomicina s-ar atașa covalent la Piruvat-uridin-difosfo-N-acetilglucoșamin-transferază, pe care ar inhiba-o în mod ireversibil, în extractele unor microorganisme Gram-pozitive și Gram-negative.

Această enzimă catalizează prima etapă a succesiunii de biosinteze a muramil-peptid nucleotidului, care are un rol de precursor al pereților celulari la toate bacteriile.

În literatura de specialitate [16] se menționează că Fosfomicina este deosebit de activă in vitro față de un număr mare de germeni patogeni (inclusiv tulpinile rezistente ale acestora) ca de exemplu: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella schottmuelleri*, *Salmonella gallinarium*, *Salmonella pullorum*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morgani*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* etc.

Administrată pe cale orală, Fosfomicina este eficace în protecția șoarecelui față de un număr mare de infecții cu germeni Gram-pozitivi și Gram-negativi. De asemenea, Fosfomicina constituie un agent chimioterapeutic eficace într-un număr mare de infecții sistemice, putînd fi comparată favorabil cu Tetraciclina și Cloramfenicolul (tabelul nr.1).

T a b e l u l nr.1

Eficacitatea comparativă a Fosfomicinei, Tetraciclinei și Cloramfenicolului la șoarecii infectați experimental cu diverși germeni patogeni [9] .

Agentul patogen	DE ₅₀ (μg/doză)		
	Fosfomicina	Tetraciclina	Cloramfenicolul
<i>Escherichia coli</i> 2017	330	125	160
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	760	2020	160
<i>Proteus vulgaris</i>	220	5000	320
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1110	10000	5000
<i>Salmonella schottmuelleri</i> 1814	80	1110	510
<i>Salmonella schottmuelleri</i> 3010	4	690	275
<i>Staphylococcus aureus</i> 2949	90	250	570
<i>Streptococcus pyogenes</i> 3009	1130	130	675

N O T A : DE₅₀ menționat în tabel (doza eficace 50%) reprezintă doza de antibiotic μg/kg.corp, necesară pentru a proteja 50% din șoarecii infectați experimental.

Fosfomicina prezintă o toxicitate foarte redusă față de animalele de experiență. Astfel, valoarea DL₅₀ pentru sarea disodică a Fosfomicinei, administrată intraperitoneală la șoarece, este de aproximativ 4.000 mg/kg. (De fapt în acest caz, toxicitatea se poate atribui conținutului de sodiu al medicamentului, la doza administrată).

Sub formă de sare de calciu, Fosfomicina este absorbită din traiectul gastro-intestinal la om, iar concentrațiile antibacteriene adecvate apar în ser după mai puțin de

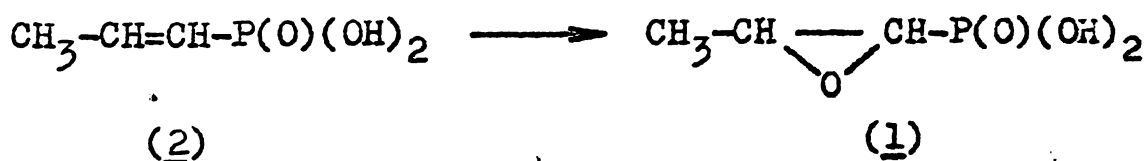
două ore. Medicamentul este eliminat prin rinichi în formă nemodificată și apare într-o concentrație ridicată în urină. De asemenea, Fosfonomicina poate fi administrată intravenos cu apariția unei concentrații sanguine apreciabil mai ridicate în ser și cu un efect iritant local foarte redus.

Datorită faptului că Fosfonomicina prezintă proprietățile unui antibiotic cu spectru larg de acțiune, avînd o toxicitate foarte redusă și eficacitate terapeutică ridicată, ea este considerată în general ca un agent chimioterapeutic cu mari perspective.

1.2. Metode generale de sinteză a Fosfonomicinei, descrise în literatură

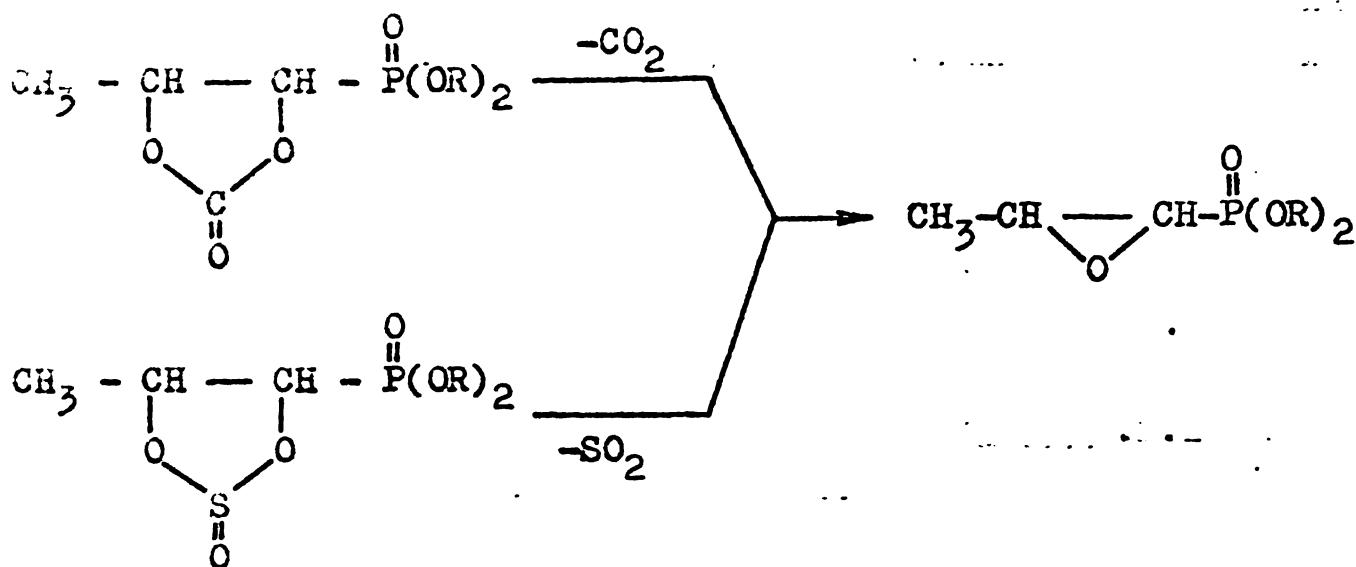
Cu toate că în special sub aspectul acțiunii biochimice și al studiului eficacității terapeutice se acordă un interes crescînd Fosfonomicinei, pînă în prezent au fost publicate relativ puține metode pentru obținerea acestui produs.

În esență, aproape toate metodele de sinteză descrise în literatura de specialitate pornesc de la acidul cis-1,2-propenilfosfonic (2), care este epoxidat cu diverși agenți de epoxidare la acidul cis-1,2-epoxipropilfosfonic (1):

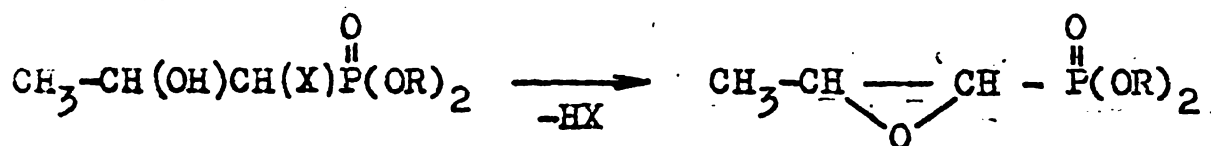


Astfel, principala etapă și din punct de vedere al randamentului total, determinantă, constă în obținerea în stare suficient de pură a acidului (2). Metodele descrise în literatură pentru obținerea acestui intermediar, se rezumă practic la realizarea legăturii P-C prin reacții Grignard, izomerizarea acetilen-alenică a esterilor fosfiți micști, conținînd cel puțin un radical propinic, precum și aplicarea în unele cazuri limitate a transpoziției Michaelis-Arbuzov la obținerea propinilfosfonaților. În toate cazurile se obține mai întîi un ester fosfonat (propinilfosfonat sau propadienilfosfonat), care este apoi transformat prin hidrogenare catalitică - utilizînd un catalizator adecvat - în esterul corespunzător al acidului (2). Acidul liber se obține prin hidroliza cu acizi minerali diluați a esterilor respectivi.

În literatura de specialitate există o singură indica-
 ție privind sinteza directă a epoxidului fosfonic (1) prin des-
 compunerea termică a unor dioxolan- și dioxatiol-fosfonați [14] .



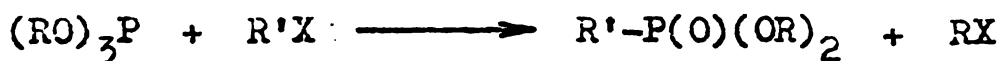
De asemenea, literatura de brevete [56, 57] menționează
 și unele indicații sumare cu privire la dehidrohalogenarea trans-
 1-halo-2-hidroxi-propilfosfonaților, sau reacții de 1,2-eliminare
 în cazul unor compuși similari :



Cum însă în toate aceste cazuri din urmă, produsele inițiale se
 obțin de regulă prin reacții de adiție la dubla legătură a aci-
 dului (2), sau esterilor acestuia, metodele de eliminare nu pot
 fi privite în ultima instanță decât ca o variantă bine cunoscută
 a metodelor generale de obținere a epoxizilor.

1.2.1. Obținerea acidului cis-1,2-propenilfosfonic (2)

De la început se remarcă faptul că nu toate metodele
 generale de sinteză a alchilfosfonaților sînt aplicabile în ca-
 zul preparării acidului 1,2-propenilfosfonic sau a esterilor aces-
 tuia. Astfel, transpoziția Michaelis-Becker a dialchilfosfiți-
 lor, sau transpoziția Michaelis-Arbuzov a esterilor fosfiți,
 bine cunoscute și larg aplicate la obținerea alchilfosfonați-
 lor, nu pot fi utilizate în acest caz, datorită reactivității
 reduse a atomului de halogen legat de un atom de carbon olefinic:

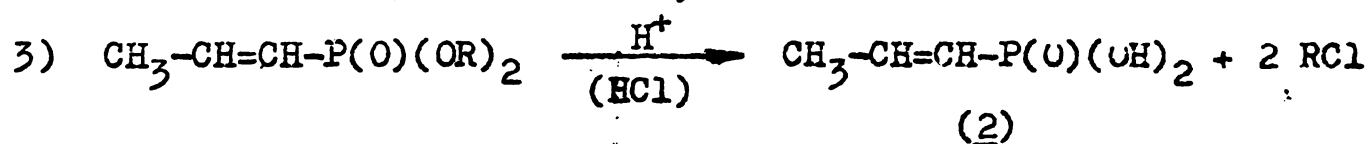
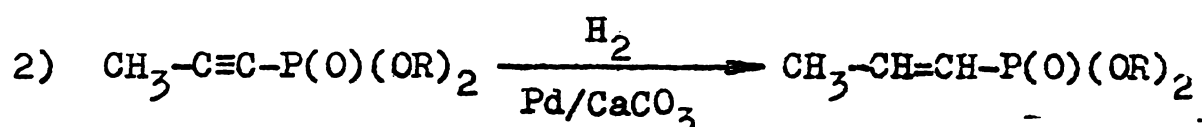
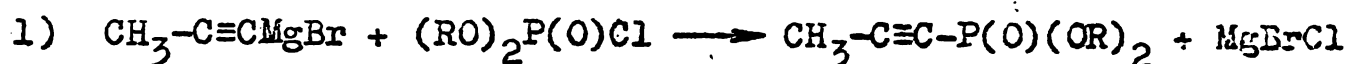


Excluzînd cele mai generale și mai convenabile metode de sinteză a fosfonațiilor, posibilitățile rămase pentru obținerea acidului (2), sau a esterilor acestuia, sînt destul de limitate.

1.2.1.1. Realizarea legăturii R-C prin reacții Grignard

Pe aplicarea acestei metode se bazează sinteza totală a Fosfonomiceinei, descrisă de Christiensen și colab. [10] .

Bromura de propinilmagneziu reacționează cu un dialchil-halogenfosfat în soluție de benzen-tetrahidrofuran, conducînd la dialchil-propinilfosfonatul corespunzător, care prin hidrogenare în prezență de catalizator Lindlar este transformat apoi în dialchil-cis-propenilfosfonat. În continuare, fosfonatul astfel obținut, este hidrolizat la acidul (2) :



Deși toate etapele de reacție sînt relativ ușor controlabile, randamentele realizate în reacțiile 1) și 2) sînt în general scăzute. De asemenea, cu toată specificitatea catalizatorului Lindlar, în diverse condiții de hidrogenare se obțin amestecuri de izomeri cis-trans de compoziții variabile, separarea cărora este o operațiune destul de dificilă.

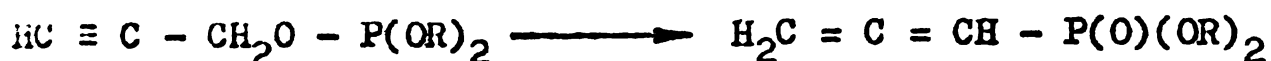
Datorită acestor dezavantaje, dar în primul rînd datorită condițiilor speciale necesare pentru efectuarea reacțiilor cu compuși organomagnezieni, metoda în ansamblu nu poate depăși limitele unor aplicații de laborator.

1.2.1.2. Izomerizarea acetilen-alenică a esterilor fosfiți

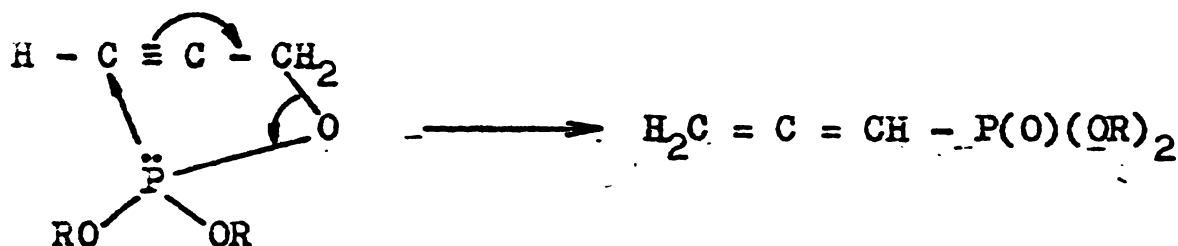
Cu toate că în literatura de specialitate este descrisă obținerea 2-propin-1-fosfonațiilor prin transpoziția Michaelis-Arbuzov a triesterilor fosfiți în prezența halogenurilor de propargil [22, 23, 24] , precum și posibilitatea de migrare în anumite condiții a triplei legături cu formarea de propinil-1-fosfonați, sau izomerizarea în alenfosfonați, din cauza unor inconveniente majore și în primul rînd datorită

tendinței accentuate de polimerizare a propinilfosfonatului la temperatura relativ ridicată la care are loc transpoziția (190-200°C), precum și datorită incidenței altor reacții secundare nedorite, acestea nu au putut deveni metode preparative suficient de atractive. În schimb se poate aplica cu rezultate mai bune pentru sinteza propadienilfosfonaților, metoda izomerizării termice a propinil-2-fosfonaților.

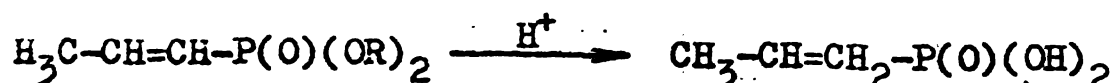
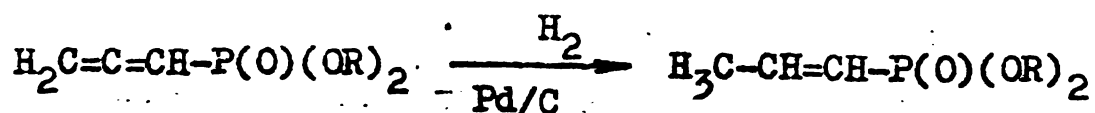
Rearanjarea termică a 2-alchinilfosfonaților la 1,2-alcadienilfosfonați a constituit subiectul a numeroase studii efectuate în ultimii ani [25] :



Această reacție, care urmează o schemă intramoleculara de tip SN1, are loc la încălzirea fosfiților micști conținând un radical propargilic, cu o viteză determinată în primul rând de caracterul nucleofil al atomului de fosfor trivalent:

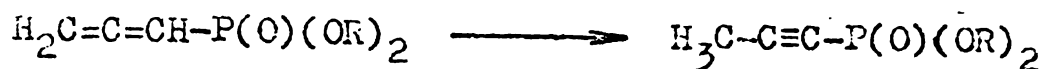


Practic, reacția se realizează prin încălzirea la reflux a unei soluții benzenice conținând fosfitul mixt (unde R = Pr, Bu etc.) produsul fiind izolat după eliminarea solventului, prin distilare fracționată la presiune redusă (0,1-0,25 mm Hg). Propadienilfosfonatul este apoi hidrogenat selectiv în pozițiile 2, 3, obținând diesterul corespunzător al acidului (2), care prin hidroliză cu un acid mineral diluat, conduce la acidul fosforic liber :



Metoda, deși permite realizarea unor randamente acceptabile, implică izolarea produsului la presiuni relativ scăzute, pentru a evita pierderile datorite izomerizării alen-acetilenice inverse, ce are loc la încălzirea substanței la temperaturi ri-

dicat, cu formarea de propinil-1-fosfonați :



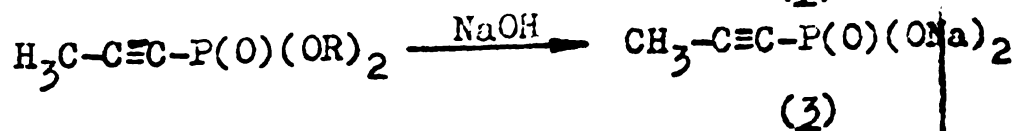
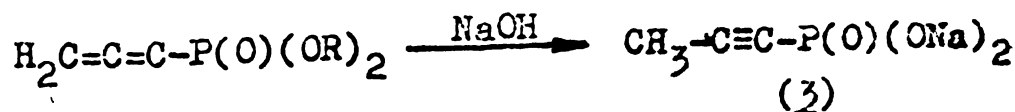
1.2.1.3. Hidrogenarea catalitică a acizilor propinil-1-fosfonic și propadienilfosfonic, precum și a esterilor și sărurilor acestora.

Obținerea cis-1,2-propenilfosfonaților se bazează în general pe hidrogenarea catalitică selectivă a propinil-1 și propadienilfosfonaților.

În cazul hidrogenării triplei legături se utilizează un catalizator de tip Lindlar și o ușoară suprapresiune de Hidrogen obținând cu preponderență izomerul cis. Totuși practic produsul va fi întotdeauna impurificat cu proporții variabile de izomer trans, greu de separat în această fază.

Pentru hidrogenarea propadienilfosfonaților literatura recomandă utilizarea unui catalizator de Pd/C sau Pd/CaCO₃ în mediu de solvent aprotonic, la presiune normală. După absorbția cantității de Hidrogen teoretic necesare, hidrogenarea se oprește. În aceste condiții se realizează o selectivitate foarte bună a hidrogenării. Astfel, această selectivitate a fost verificată printr-o reducere utilizând D₂, când s-a observat că 96% din Deuteriul absorbit, a intrat în pozițiile β, γ. [13, 26].

O altă variantă prezentată în literatură [15] recomandă transformarea esterilor propinil-1-fosfonați și propadienilfosfonați în săruri de sodiu ale acidului izomer (acidul metilacetilenfosfonic), care pot fi apoi hidrogenate în prezență de catalizator Lindlar sau a unui catalizator de Ni Raney. Saponificarea esterilor, concomitent cu izomerizarea în propinil-2-fosfonați, se realizează prin refluxarea esterilor într-un amestec de NaOH apos-toluen, sau benzen. Este interesant de remarcat faptul, că în aceste condiții și propadienilfosfonații suferă o izomerizare alen-acetilenică, astfel că în final indiferent de tipul esterului fosfonat de la care se pornește (propinil-1 sau propadienil), se obține sarea disodică a acidului metilacetilenfosfonic (3) :



Volumul 333229
Dubu 200 LR F

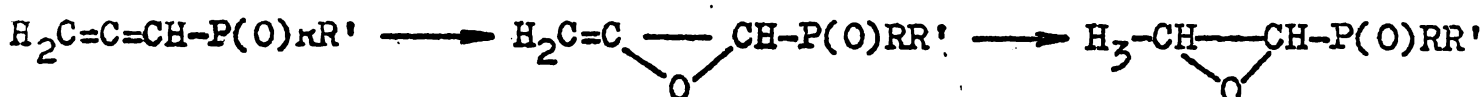
În sfârșit, același brevet [15] pretinde obținerea acidului metil-acetilfosfonic prin încălzirea propinil-2-fosfonaților sau propadienilfosfonaților la 70-80°C în prezența unei rășini schimbătoare de ioni de tip $C_6H_5-CH_2-N(CH_3)_3OH^-$ -polistiren.

1.2.2. Epoxidarea acidului cis-1,2-propenilfosfonic (2)

Pentru obținerea epoxiacidului (1), literatura recomandă utilizarea ca agenți de epoxidare a acidului perftalic, perbenzoic și a altor peracizi organici, precum și folosirea apei oxigenate în exces, în prezența tungstatului de sodiu [27].

În toate cazurile se supun reacției de epoxidare diferitele săruri ale acidului (2), ca săruri de Na, K, Ca, Mg, Ba, NH_4 etc., sau săruri formate cu amine optice active, în care caz scindarea și separarea antipozilor optici se realizează concomitent cu reacția de epoxidare.

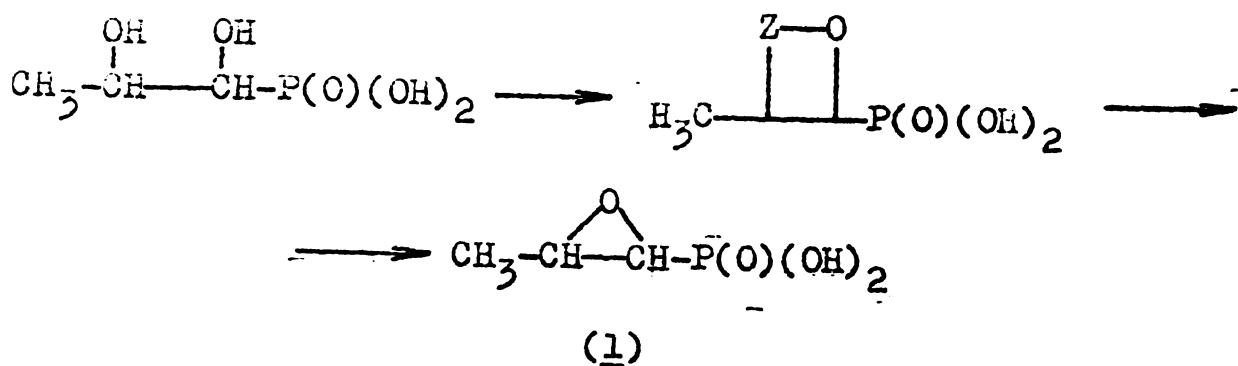
Un singur brevet [17] recomandă o metodă care realizează epoxidarea alenfosfonatului în pozițiile 1-2, urmată apoi de hidrogenarea catalitică a epoxidului în pozițiile 2-3 :



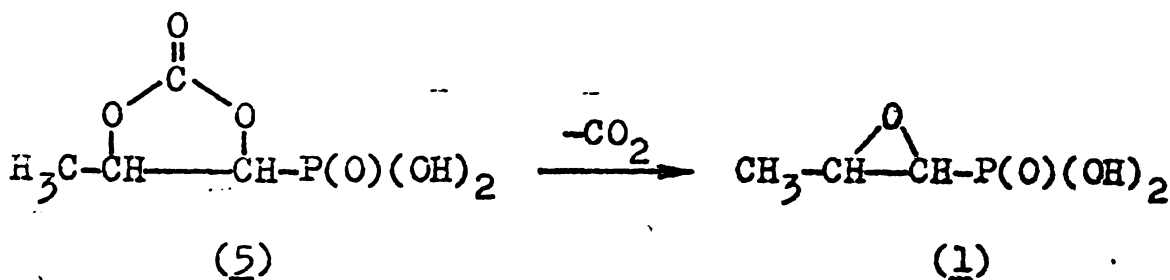
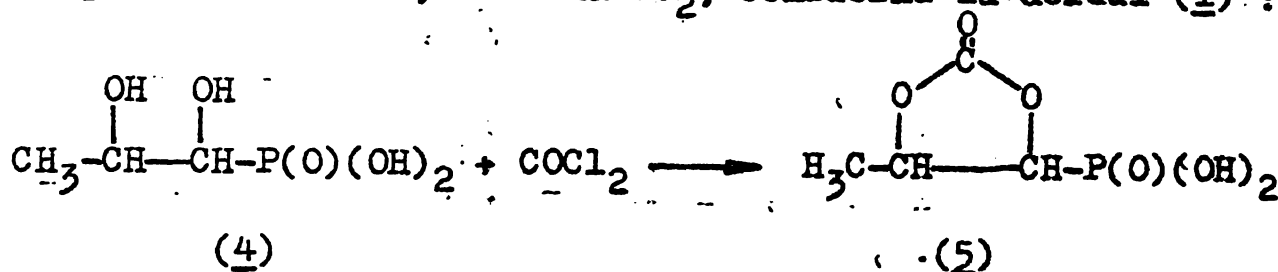
Reacția de epoxidare are loc în acest caz în mediu de benzen la reflux, utilizând ca agent de epoxidare acidul monoperftalic în prezență de Na_2HPO_4 . Alenfosfonatul supus epoxidării este o sare ($R=R'=PhCH_2NH_2$, $MeCH_2PhNH_2$), sau un ester ($R=R'=MeO$, EtO , PrO etc.).

1.2.3. Metode directe de obținere a acidului cis-1,2-epoxipropilfosfonic (1)

Un procedeu descris în literatura de brevete [14], conduce direct la acidul (1), pornind de la acidul cis-1,2-dihidroxipropilfosfonic, (4), care tratat cu o clorură acidă de tipul $COCl_2$, $SOCl_2$, SO_2Cl_2 sau cu N_2O , formează o combinație ciclică intermediară. Această combinație, pierde la încălzire o moleculă "Z" conducând la acidul (1); ($Z=CO_2$, SO_2 , SO_3 , N_2) :

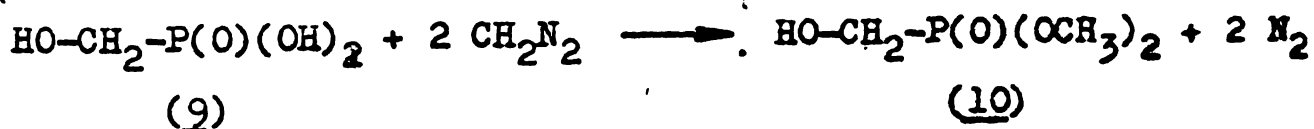


De exemplu, prin tratarea acidului (4) cu COCl_2 în mediu de toluen și în prezența unei amine terțiare acceptoare de HCl (piridină, trietilamină), se obține acidul cis-(5-metil-2-oxo-1,3-dioxolan-4-il)-fosfonic (5). Acesta prin încălzire într-un evaporator rotativ, elimină CO_2 , conducând la acidul (1):

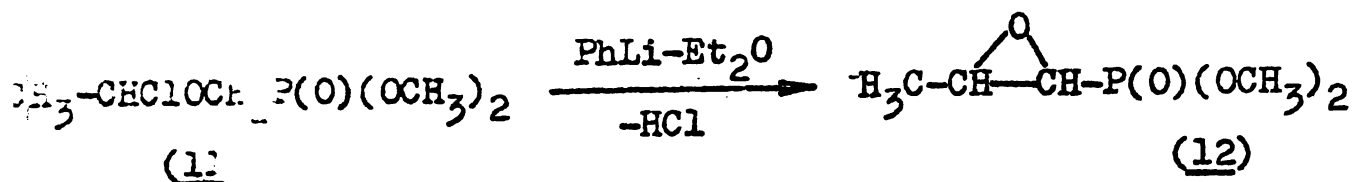
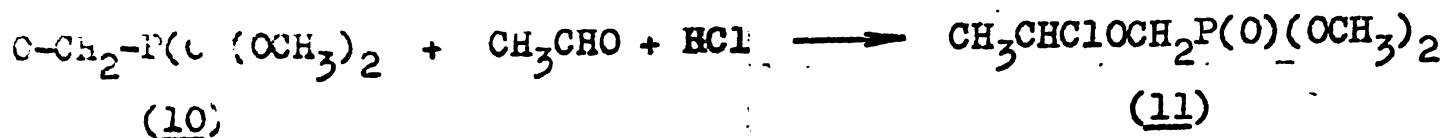


În mod similar, tratarea acidului (4) cu SOCl_2 conduce la acidul cis-(5-metil-1,3,2-dioxatiol-4-il)-fosfonic (6) ($\text{Z}=\text{SO}_2$), cu SO_2Cl_2 la acidul cis-(5-metil-1,3,2-dioxatiol-S,S-dioxid-4-il)-fosfonic (7), ($\text{Z}=\text{SO}_3$), sau cu N_2O la acidul cis-(5-metil-1,3,2-oxadiazolin-4-il)-fosfonic (8) ($\text{Z}=\text{N}_2$).

O altă metodă [16] care conduce la acidul (1), pornește de la acidul hidroximetilfosfonic (9), obținând în prima etapă dimetilesterul acestuia (10) prin tratare cu diazometan:



Dimetilesterul (10) este apoi transformat cu acetaldehidă în prezența unui acid hidrohalogenat (printr-o reacție de condensare) în 2-haloetoximetilfosfonatul corespunzător, care prin dehidrohalogenare cu PhLi la 25°C , conduce la compusul (12) reprezentând dimetilesterul acidului (1):



După refluxarea esterului (12) cu Me_3SiCl , urmată de hidroliză, se obține acidul (1) liber.

Deși metoda permite obținerea unui produs de o puritate avansată, aceasta nu poate constitui decât o metodă de laborator cu aplicații limitate.

O variantă a acestei metode [27], recomandă pentru obținerea antibioticului, dehalogenarea acidului 2-halo-cis(sau trans)-1,2-epoxipropilfosfonic și a esterilor sau sărurilor acestuia, cu metale alcaline, alcalino-pămîntoase sau alte metale (Zn, Cu, Al etc.), precum și prin reducere electrochimică sau hidrogenare catalitică :



Dehalogenarea are loc cu retenția sau inversia configurației în funcție de natura compusului halogenat inițial, a agentului de dehalogenare și a condițiilor de reacție.

1.2.4. Separarea izomerilor optici ai acidului (1)

Pentru izolarea antipozilor optici din racematul rezultat în urma sintezei, în vederea obținerii izomerului (-), identic cu antibioticul natural, acidul (1) este tratat cu o baza optic activă (+), obținând o sare de tip (-) acid - (+) bază, care scindată apoi hidrolitic în condiții blânde pentru a evita o nouă racemizare, sau deschidere ciclului epoxidic, conduce la acidul (-) pur.

Astfel, literatura prevede izolarea formei active a antibioticului sintetic sub formă de săruri de chinină [10, 15], α feniletilamoniu [13, 27], precum și sub formă de sare de amfetamină [27].

În literatură nu există date privind activitatea fiziologică sau efectul antimicrobian al izomerului (+) al Fosfonicinei, având în vedere însă toxicitatea foarte redusă

a substanței, unii autori [27, 56, 57] recomandă folosirea racematului pentru prepararea formelor de administrare condiționate, existînd și în acest caz posibilitatea realizării in vivo a unor concentrații sanguine suficient de ridicate pentru a obține efecte terapeutice sigure, fără nici un risc de supradozare.

x .. x -

- Sumarizînd principalele metode de sinteză descrise în literatură pentru obținerea Fosfomicinei, acestea pot fi redăte prin schema reprezentată în fig. 1.

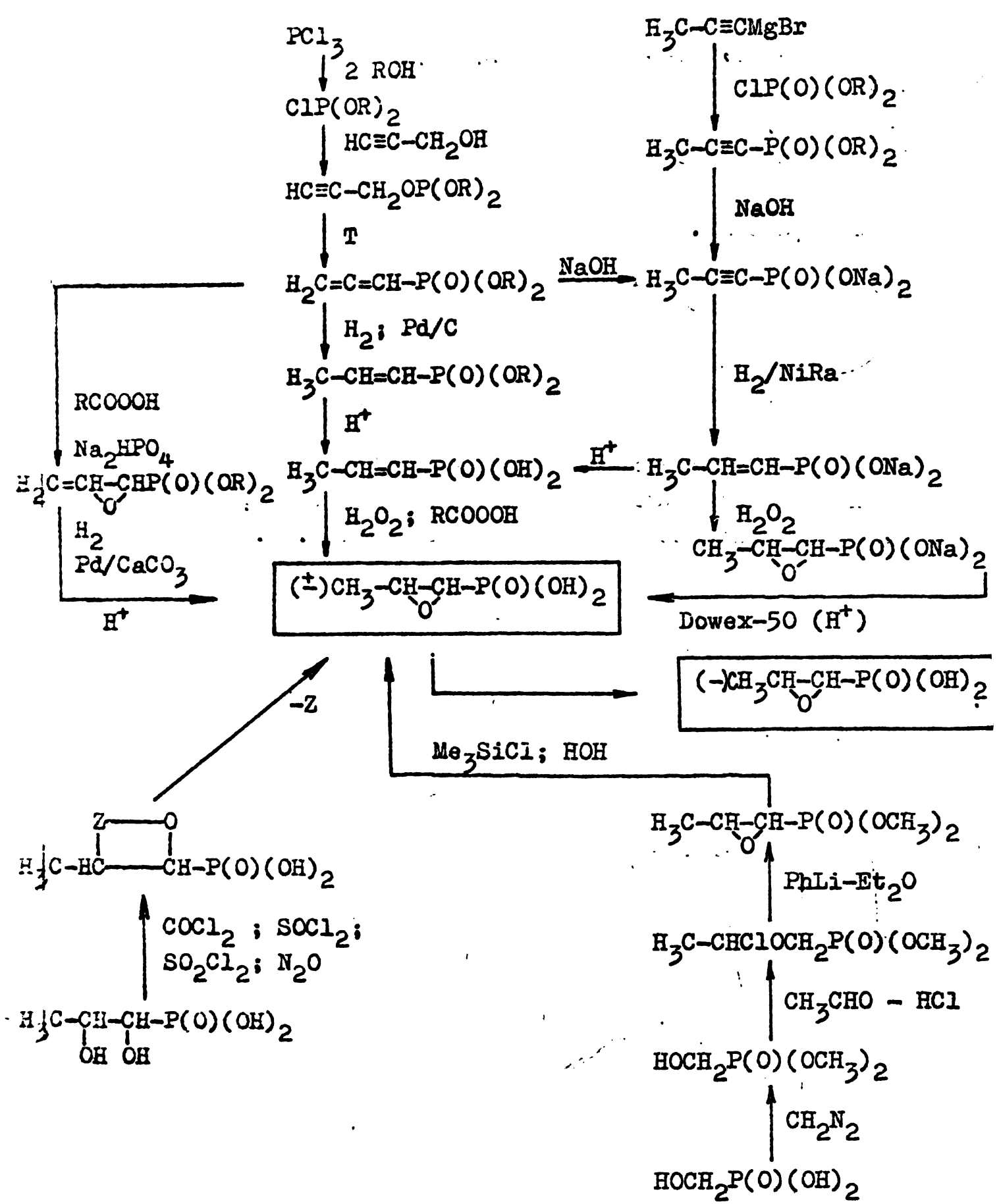


Fig.1.- Reprezentarea schematică a principalelor metode de sinteză descrise în literatură pentru obținerea Fosfomicinei.

II. LUCRARI ORIGINALE : - DESCRIEREA METODELOR NOI
ELABORATE IN CADRUL PREZENTEI LUCRARI PENTRU OBTI-
NEREA FOSFONOMICINEI, A UNOR OMOLOGI FOSFONICI SI
FOSFINICI AI ACESTEIA, PRECUM SI A SUBSTANTELOR
INTERMEDIARE NECESARE

In cadrul prezentei lucrări, în afară de aplicarea unor metode descrise în literatură pentru sinteza Fosfomicinei în vederea studierii parametrilor optimi de sinteză și obținerea unui etalon pentru compararea omologilor noi sub aspectul activității antimicrobiene, au fost elaborate mai multe metode și variante noi vizând prepararea acestui antibiotic, precum și a unor substanțe intermediare necesare.

De asemenea, a fost sintetizat un număr de omologi fosfonici și fosfinici noi ai acidului (1), cu structuri apropiate de cea a Fosfomicinei, dintre care unii compuși au arătat în experiențele in vitro o activitate antimicrobiană remarcabilă.

Din studiul relațiilor dintre structura și activitatea biologică a compușilor din seria acizilor fosfonici și fosfinici sintetizați, au rezultat unele concluzii interesante cu privire la mecanismul de acțiune probabil al acestor compuși la nivelul biosistemelor celulare. Astfel, au putut fi stabilite unele condiții de configurație sferică limită pentru inhibitorii competi-tivi potențiali din seria compușilor organofosforici, ai Piruvat-uridin-difosfo-N-acetil-glucosamintransferazei, ceea ce în ultimă instanță oferă indicații destul de precise asupra posibilităților și limitelor de sinteză a unor compuși epoxipropilfosfonici și fosfinici care pot prezenta acțiune antibiotică.

2.1. Sinteza Fosfomicinei

Dintre metodele descrise în literatură, a fost aplicată schema de sinteză a Fosfomicinei prin izomerizarea acetilen-alenică a propargilfosfiților micști. Având în vedere indicațiile cu totul sumare și practic insuficiente în literatura de brevete pentru obținerea acestor compuși, a fost efectuat un studiu general asupra condițiilor de sinteză, urmărind în special îmbunătățirea randamentelor în etapele de preparare a fosfiților și izomerizarea acestora în alenfosfonați.

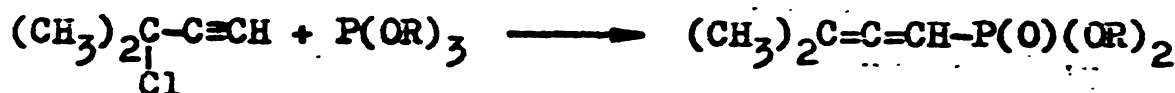
Sub acest aspect au fost studiate următoarele elemente principale :

- influența radicalului alchil asupra randamentelor de sinteză a fosfiților mici;
- influența solventului și a temperaturii asupra vitezei de izomerizare acetilen-alenică;
- posibilitatea eliminării izomerizării prototropice inverse a alenfosfonaților în propinil-1-fosfonați;
- determinarea condițiilor optime de hidrogenare a alenfosfonaților și de hidroliza a cis-propenil-1-fosfonaților.

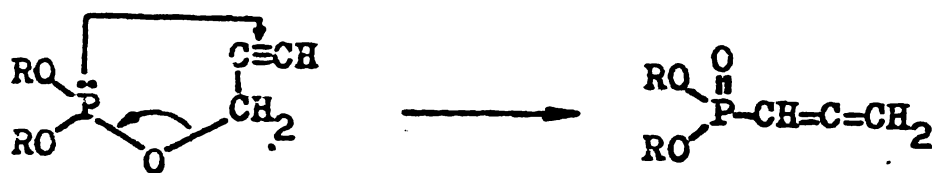
2.1.1. Izomerizarea acetilen-alenică a propargil-fosfiților

Rearanjarea acetilen-alenică a propargilfosfiților a constituit în ultimii ani una dintre problemele mult studiate și în același timp controversate în literatura din ce în ce mai bogată a chimiei fosforului.

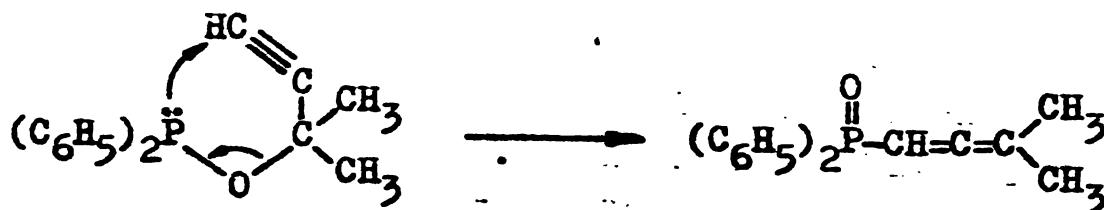
Pudovik A.N. a observat pentru prima dată [39] formarea unor cantități mici de compuși alenici în cursul unor reacții Arbuzov între alchinilhalogenuri și esterii fosfiți :



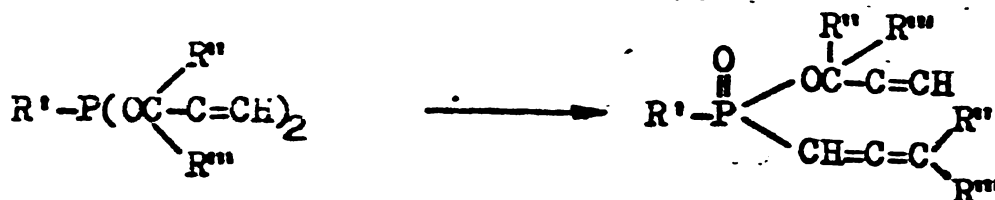
Mai târziu, același autor [40] independent de V. Mark [41] , A. Boiselle și N. Meinhardt [42] , studiază în diverse cazuri mecanismul acestui nou tip de rearanjament al fosfiților:



A.N. Pudovik [40]

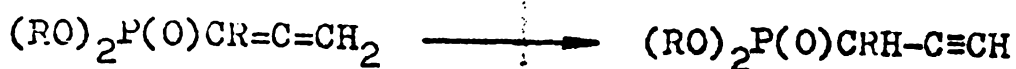


A. Boiselle, N. Meinhardt [42]

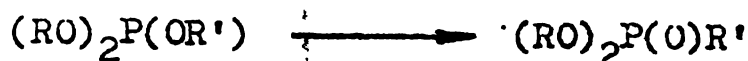


V. Mark [42]

Spre deosebire însă de A.Boiselle și V. Mark, Rudovik a reușit să observe și cea de a doua fază a rearanjării moleculare, izomerizarea prototropică inversă alen-acetilenică [43, 44]:



Sub aspectul mecanismului de reacție, rearanjările de acest tip sînt în general clasificate ca o variantă particulară a reacției Michaelis-Arbuzov :



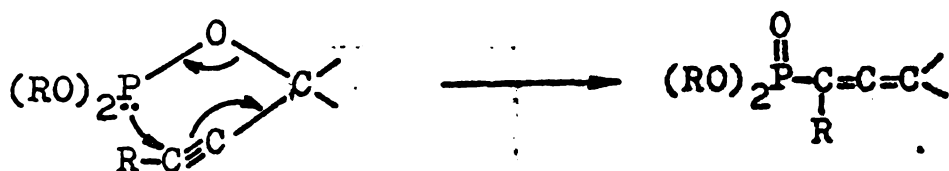
În reacțiile neavățalitate, rearanjarea are loc cu atomul de fosfor necesitînd un al patrulea substituent, într-un mod intramolecular, concomitent cu formarea unei legături P-C. Cînd porțiunea de hidrocarbură a moleculei migratoare este predispusă la o astfel de rearanjare, ea va fi supusă de asemenea și unei modificări de schelet.

Prin analize termogravimetrice diferențiale, s-a putut demonstra că ușurința cu care se produc rearanjările de acest tip, variază în funcție de natura radicalilor astfel [25, 45, 46] :



În ultimul caz (R = alchil), reacția a fost demonstrată ca fiind intermoleculară și ea este catalizată de halogenuri de alchil, reprezentînd de fapt transpoziția Michaelis-Arbuzov în forma sa clasică.

În cazul esterilor fosfiți conținînd radicali acetilenici, rearanjarea termică poate fi concepută ca avînd loc după o schemă intramoleculară S_N1, inițiată de atacul nucleofil al atomului de fosfor asupra atomului de carbon acetilenic terminal, conducînd la ruperea legăturii carbon-oxigen :

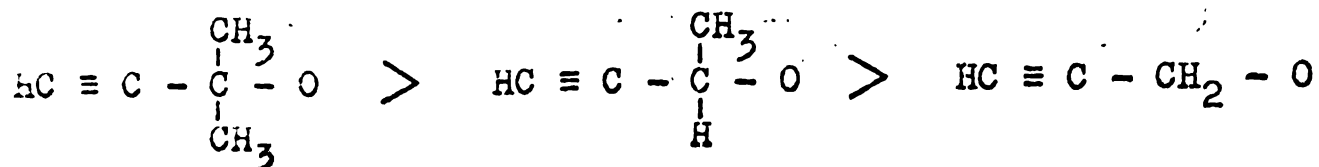


Din studiile efectuate și concluziile prezentate de diverși autori, ca parametri importanți ai reacției, se pot reține :

- substituenții alchil la atomul de carbon acetilenic terminal, descresc viteza de reacție. (Probabil făcînd acest atom mai puțin susceptibil la atacul nucleofil de către perechea

de electroni neparticipanți ai atomului de fosfor);

- substituenții alchil la atomul de carbon (față de oxigen, cresc viteza de rearanjare în ordinea :



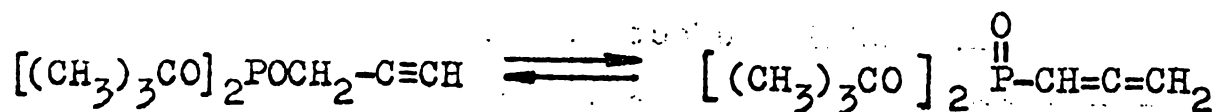
(Se poate observa că această ordine a reactivității corespunde în același timp și ușurinței de formare a ionilor de carboniu);

- diluarea cu solvenți nu are efect asupra rearanjării moleculare; de asemenea, nu se observă formarea de produși derivați când se supun rearanjării diverse amestecuri;

- din produșii optic activi, supuși rearanjării, rezultă compuși alenici optic activi, iar din perechi epimere de derivați acetilenici, rezultă alenfosfonați stereoizomeri.

Din studiul efectuat în cadrul prezentei lucrări, a rezultat că în cazul tuturor alchil-alchinilfosfiților micști, conținând cel puțin un radical propargilic, rearanjarea acetilen-alenică se produce relativ ușor la temperaturi de 50 - 70°C. În același timp însă, în majoritatea cazurilor are loc și izomerizarea prototropică inversă alen-acetilenică, în mod mai mult sau mai puțin lent, în funcție de natura radicalilor alchili și de condițiile de reacție, pînă la atingerea unui echilibru între alenfosfonații și metil-acetilenfosfonații respectivi, rezultînd un amestec greu de separat.

Efectuînd un studiu sistematic asupra condițiilor de izomerizare în funcție de natura radicalilor alchil (C₂-C₆), s-a putut constata că în cazul fosfiților micști conținînd radicali alchil ramificați (R = izopropil, izobutil, tert butil, izocamil etc.), caracterul nucleofil al atomului de fosfor se accentuează, astfel că de exemplu în cazul cînd R = tert butil, rearanjarea termică se produce la temperaturi relativ joase (45 - 50°C), iar izomerizarea prototropică inversă devine practic neglijabilă.



(13)

În cadrul tezei, studiile privind condițiile de izomerizare acetilen-alenică au fost extinse și la două cazuri limită

(R = Cl ; sau R = N(CH₃)₂), concluziile rezultate, bazate pe analiza spectrelor I.R. și R.M.N. ale produșilor de reacție, constituind o contribuție la studiul general al acestor sisteme.

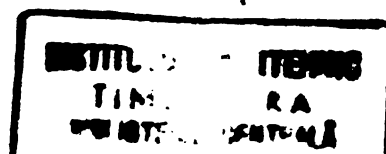
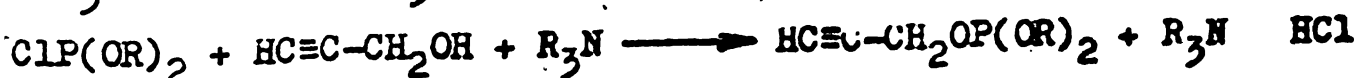
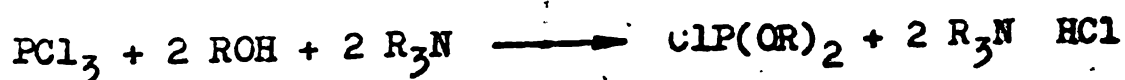
2.1.1.1. Sinteza propargilfosfiților micști

Deși propargilfosfitul terțiar (tri-propargilfosfitul), poate suferi rearanjarea acetilen-alenică, transformându-se cu randamente bune în propadienilfosfonatul corespunzător, datorită incidenței unor reacții secundare nedorite în etapele următoare de sinteză, în practică se evită în general utilizarea ca materie primă a acestei substanțe. Aceste reacții secundare se datoresc în primul rând structurii acetilenice a celor doi radicali ai esterului fosfonic, cu anumite implicații în etapa de reducere selectivă a lanțului alenic, unde în funcție de condițiile de hidrogenare, pot participa și cele două legături triple, făcând mai dificil controlul cantitativ al procesului.

De asemenea, gradul de nesaturare avansat al propadienilfosfonatului de dipropargil imprimă moleculei o tendință remarcabilă spre polimerizare, în special în etapa de deblocare a esterului, unde în mod inevitabil compusul este supus încălzirii la temperaturi relativ ridicate.

Pentru motivele arătate, este preferabil a se utiliza drept materie primă un fosfit mixt, conținând un singur radical propargil, necesar realizării structurii alenice, ceilalți doi radicali fiind alchili inferiori.

Alchil-alchinilfosfiții micști au fost sintetizați prin metoda generală de preparare a fosfiților terțiari [62, 63, 64, 65, 66], constând din tratarea unei soluții de PCl₃ într-un solvent inert, anhidru (eter, benzen, toluen, eter de petrol etc.), la temperaturi de 5 - 10°C și în prezența unei amine terțiare acceptoare de HCl, mai întâi cu 2 echivalenți de alcool alifatic, apoi cu un echivalent de alcool propargilic [28]. Clorhidratul aminei terțiare ce se formează în reacție, se îndepărtează prin filtrare, sau eventual izomerizarea acetilen-alenică se realizează în prezența clorhidratului, după care acesta poate fi îndepărtat prin simplă spălare cu apă :



Fosfitul mixt astfel obținut nu se izolează, ci se supune izomerizării in situ. Din lucrările efectuate a rezultat că solventul cel mai corespunzător în această etapă, este benzenul, deoarece permite realizarea rearanjării termice cu randamente bune printr-o simplă fierbere la reflux a soluției, timp de 1-3 ore (în funcție de natura radicalilor alchil din grupele esterice). De asemenea, utilizarea ca solvent a benzenui este justificată și prin aceea că raza de hidrogenare a alenfosfonatului poate fi realizată în condiții corespunzătoare în aceeași soluție, fără a izola propadienilfosfonatul rezultat

2.1.1.2. Obținerea propadienilfosfonaților

Condițiile de izomerizare acetilen-alenică recomandate de literatură sînt foarte variate atît ca temperatură, cît și ca durată a perioadei de încălzire. De asemenea, părerile exprimate de diverși autori privind utilitatea sau influența negativă a solventului în această etapă, sînt contradictorii [25, 29, 30, 31] .

Lucrările experimentale efectuate au arătat că în lipsa solventului, după o încălzire chiar moderată, timp de 1 oră, apare o tendință netă de polimerizare a produsului. Practic, izomerizarea a fost realizată prin încălzirea amestecului de reacție după obținerea fosfitului, la temperaturi de 45-60⁰Q timp de 4-6 ore, sau la reflux a soluției benzenice, timp de 1-2 ore. Sfîrșitul reacției de izomerizare s-a determinat prin dispariția în spectrele I.R. a benzilor caracteristice grupelor $\equiv\text{CH}$ (3320 cm^{-1}) și $\text{HC}\equiv\text{C}$ - (2140 cm^{-1}).

2.1.1.3. Obținerea cis-propenil-1-fosfonaților

Hidrogenarea catalitică selectivă a propadienilfosfonaților a fost efectuată sub formă de esteri în mediu de benzen, folosind catalizatori de Pd/C. După hidrogenare, cis-propenil-1-fosfonatul obținut a fost trecut direct la etapa de hidroliză.

Intr-una din variantele studiate, produsul de reacție conținînd un amestec de alenfosfonați și metil-acetilenfosfonați, în benzen sau toluen, a fost tratat cu o soluție de NaOH sau KOH apos la fierbere, transformînd ambii izomeri în sărurile corespunzătoare ale acidului metil-acetilenfosfonic, care după îndepărtarea solventului, au fost supuse hidro

generării în prezența unui catalizator de tip Lindlar, obținând cu randamente bune (70 - 80%) acidul (2) sub forma unui produs unitar.

Puritatea produsului obținut în ambele variante, exprimată prin conținutul procentual de componentă etilenică, a variat între 80 - 90%.

2.1.1.4. Obținerea acidului cis-propenil-1-fosfonic (2)

Acidul (2) a fost obținut prin fierberea la reflux a esterilor în mediu de HCl apos. Întrucât prezența acidului mineral este necesară numai la începutul reacției de hidroliză, pînă la generarea unei cantități suficiente de acid fosfonic liber, a fost studiată și stabilită o metodă practică, care permite utilizarea numai a unor cantități catalitice de HCl (1-3% în greutate față de cantitatea de ester supusă hidrolizei). Indicația cuprinsă în literatura de brevete, referitoare la această fază [57], care recomandă fierberea la reflux a esterilor propenilfosfonici într-un exces mare de HCl concentrat (12,4 N), timp de 15 ore, într-o baie de ulei la 110-120°C, s-a dovedit cu totul neadecvată, întrucât în aceste condiții a fost afectată nu numai dubla legătură a acidului propenilfosfonic, ci chiar legătura P-C, fapt demonstrat prin izolarea din amestecul de reacție a acidului fosforic sub formă de fosfați minerali. De asemenea, scăderea apreciabilă a conținutului în componentă etilenică (pînă la 15 - 25%), sugerează incidența unor reacții secundare ce afectează dubla legătură.

Acidul liber a fost caracterizat sub formă de diverse săruri, banda olefinică caracteristică în spectrul I.R. (1639 cm^{-1}) precum și prin spectrele R.M.N. Conținutul de componentă olefinică în produsul brut a variat între 80 - 85%. Literatura de specialitate [13], prevede utilizarea unui acid cu un conținut de componentă olefinică în jur de 75 - 80%, fără alte operațiuni de purificare. De altfel, printr-o operațiune de purificare relativ simplă, constînd în spălări și extracții succesive cu eter și respectiv apă, gradul de puritate al produsului a putut fi ridicat pînă la 92 - 96% componentă etilenică.

În cazul variantei care folosește sărurile alcaline ale acidului metil-acetilenfosfonic, acidul liber a fost obținut prin trecerea produsului rezultat de la hidrogenare, printr-o coloană schimbătoare de ioni de tip Dowex-50 (forma H^+).

2.1.1.5. Obținerea acizilor (+) și (-)-1,2-epoxipropilfosfonic (1) -

Pentru realizarea ultimei faze a sintezei antibioticului, diverși autori [10, 13, 17, 27] recomandă utilizarea diferiților agenți de epoxidare (în general peracizi organici).

În lucrările efectuate am utilizat metoda de epoxidare recomandată de Payne [47] ca metoda generală de realizare a inelului oxiranic în cazul acizilor α, β -nesaturați, folosind apă oxigenată în prezență de tungstat de sodiu, în mediu apos.

Această metodă oferă posibilitatea realizării unor randamente bune și obținerea unui produs pur, cu condiția menținerii riguroase a pH-ului mediului și la nevoie chiar corectarea acestuia pe timpul efectuării operațiunii de epoxidare.

Având în vedere faptul că reacția de epoxidare are loc la un pH la care acidul fosfonic se găsește sub formă de sare monobazică (pH = 5,5 - 5,8), la unele experiențe care porneau de la acidul liber, am utilizat pentru corectarea pH-ului la valoarea optimă, o bază optic activă (+), în general (+)- α -feniletilamina, ceea ce a făcut posibilă izolarea directă după epoxidare a Fosfomicinei sub formă de sare (-) acid (+) bază. În acest fel se evită efectuarea operațiilor de scindare a antipozilor optici la epoxidul relativ sensibil.

În cazul utilizării sării disodice a acidului fosfonic, corectarea pH-ului s-a făcut cu HCl diluat, obținând după epoxidare sarea monosodică a acidului (+)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic.

Produsul obținut în toate cazurile a fost caracterizat atât sub formă de acid liber, cât și sub formă de diverse săruri, precum și prin determinarea spectrului antimicrobian in vitro.

2.2. METODE NOI ELABORATE PENTRU SINTEZA FOSFOMICINEI

A). Metode bazate pe rearanjări acetilenice și alen-acetilenice a fosfiturilor

2.2.1. Rearanjarea acetilen-alenică a propargildiclorfosfitului și a bis(dimetilamido)-propargilfosfitului

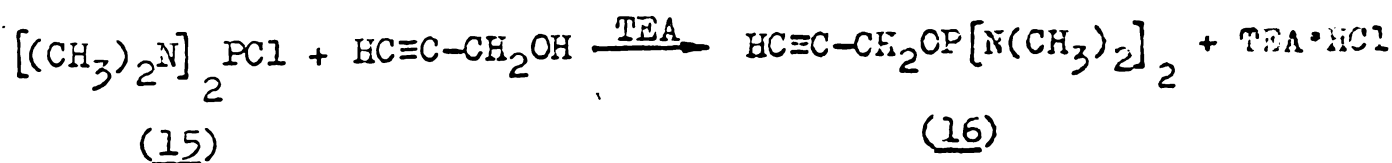
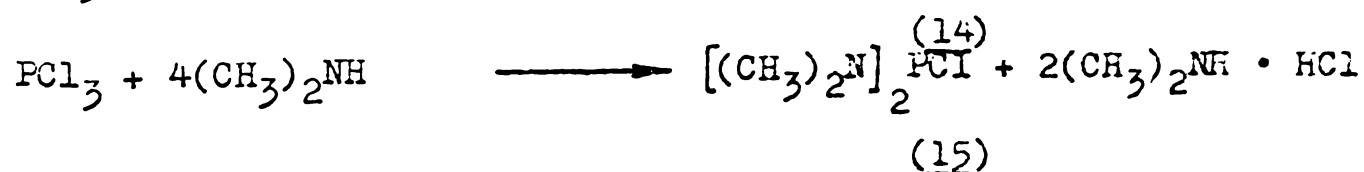
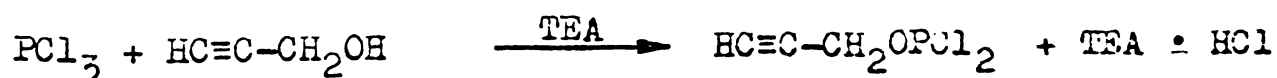
Sinteza propargildiclorfosfitului și a bis(dimetilamido)-propargilfosfitului au fost descrise relativ recent [33], fără a li se acorda însă pînă în prezent vreo aplicație practică.

Una din contribuțiile aduse prin prezenta lucrare la sinteza Fosfomicinei, constă în utilizarea acestor compuși prin metode noi, nedescrise în literatură. Sub acest aspect, lucrările efectuate au urmărit în primul rând simplificarea etapelor de sinteză, precum și folosirea unor materii prime mai ieftine și mai ușor accesibile. De asemenea, a fost efectuat un studiu mai detaliat privind condițiile de rearanjare termică pentru acești compuși, folosind ca instrumentar de urmărire a procesului, spectroscopia I.R. și R.M.N.

Metodele de sinteză prezentate în acest capitol, constituie obiectul unei cereri de brevet R.S.R. pentru obținerea Fosfomicinei.

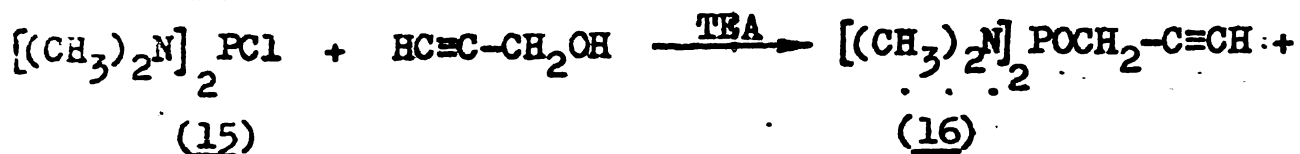
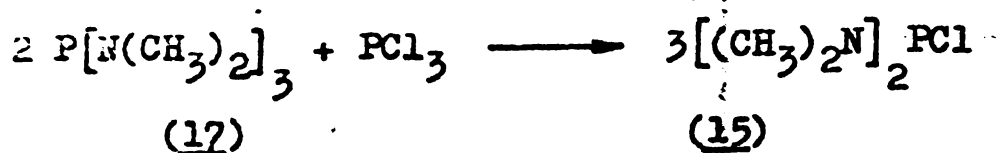
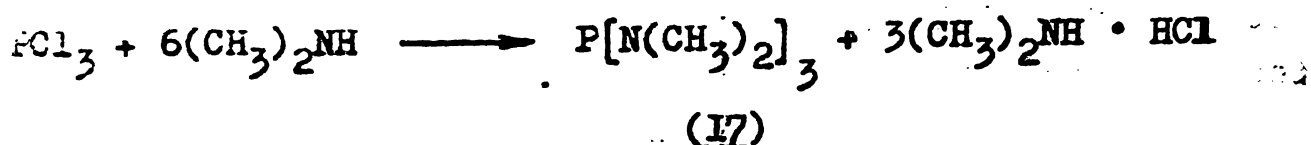
2.2.1.1. Sinteza propargildiclorfosfitului (14) și a bis(dimetilamido)-propargilfosfitului (15), (16)

Sintezele au fost efectuate prin tratarea unei soluții eterice sau benzenice de PCl_3 la temperaturi de $5-10^\circ\text{C}$, cu un echivalent de alcool propargilic, iar în cazul bis(dimetilamido)-derivatului, diclorfosfătul (15) rezultat, a fost tratat în continuare cu 4 echivalenți de dimetilamină. În prima fază a reacției, drept acceptori de HCl , s-au utilizat amine terțiare ca piridină, trietilamină și dietilamilină. În cazul amidofosfitului, rolul de acceptor de HCl a fost îndeplinit chiar de dimetilamina adăugată în cantitate dublă față de cea teoretic necesară:



Datorită randamentelor relativ scăzute în bis(dimetilamido)-propargilfosfit (16) și incidența reacțiilor secundare nedorite, care au condus la impurificarea produsului obținut în etapa de izomerizare termică, metoda de preparare a fost modificată, obținând mai întâi bis-(dimetilamido)-diclorfosfătul (15) printr-o reacție de coproporționare între un mol de PCl_3 și doi moli de tris-(dimetilamido)-fosfit (17), care după purificare prin distilare la presiune scăzută, a fost tratat cu

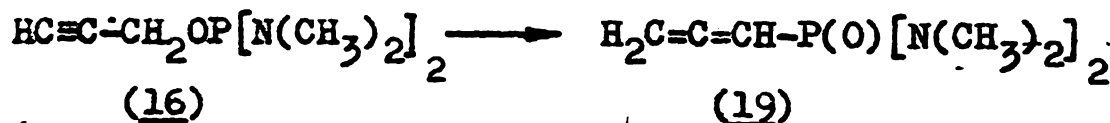
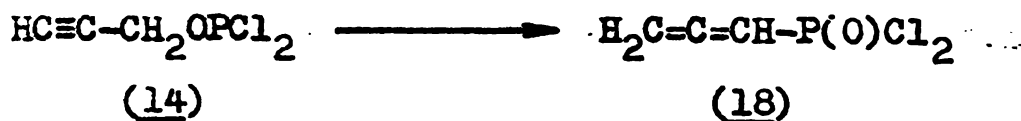
echivalent de alcool propargilic :



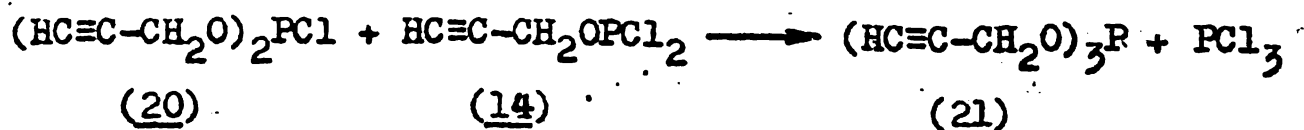
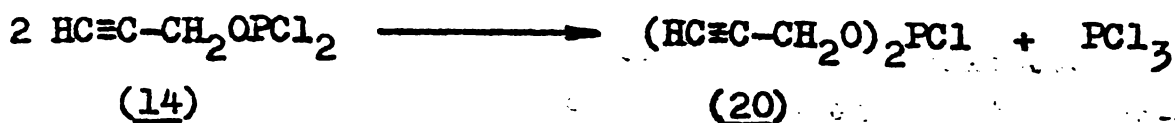
Pentru a evita, sau a limita izomerizarea prototropică inversă, care se produce la temperaturi mai ridicate, fosfiții micști sintetizați nu au mai fost izolați prin distilare, ci au fost supuși rearanjării acetilen-alenice in situ.

2.2.1.2. Obținerea propadienilfosfonildiclorurii (18)
și a bis-(dimetilamido)-propadienilfosfonatului (19)

Ambii fosfiți (14) și (16) suferă (cu viteze diferite) rearanjarea acetilen-alenică cu formarea propadienilfosfonatilor corespunzători :

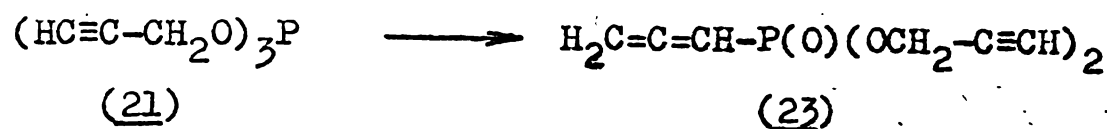
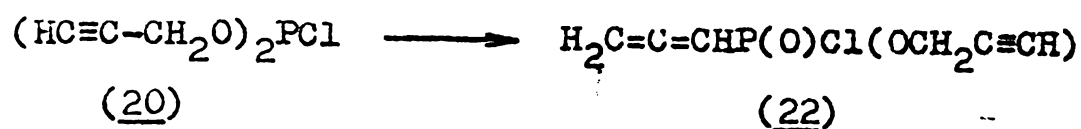


In cazul propargildiclorfosfitului s-a constatat că viteza acestei rearanjări este ceva mai mică, probabil datorită și reacțiilor de disproportionare și coproporționare, caracteristice tuturor halogenfosfiților, ce au loc chiar pe timpul sintezei :



Din punct de vedere practic, dacă nu se urmărește izolarea în stare pură a diclorfosfitului, aceste reacții secundare nu prezintă un dezavantaj deosebit, deoarece atât clor-

fosfiții, cât și fosfitul terțiar (în condiții ceva mai energice), suferă mai departe rearanjarea alenică, conducîndu după hidroliză alcalină la aceeași sare a acidului metil-acetilenfosfonic, ceea ce se traduce printr-o îmbunătățire substanțială a randamentelor în această fază :

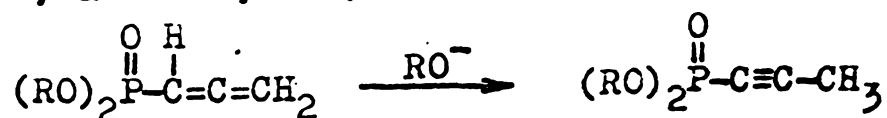


În cazul clorurilor acide ale acidului propadienilfosfonic, s-a constatat însă o tendință accentuată de izomerizare prototropică alen-acetilenică. Pentru a evita sau a limita această izomerizare, s-a procedat la spălarea fosfonatului cu o soluție apoasă, diluată, rece, de HCl, prin care se îndepărtează urmele de fosfiți și de amine terțiare, impurități care favorizează această izomerizare.

În cazul bis-(dimetilamido)-propargilfosfitului, s-a observat că izomerizarea alenică are loc foarte rapid, astfel că după terminarea sintezei și încălzirea amestecului de reacție la temperatura mediului ambiant, în soluția eterică nu se mai pune în evidență (prin spectrele I.R. și R.M.N.) prezența formei acetilenice. De asemenea, s-a constatat că bis-(dimetilamido)-propadienilfosfonatul (19) atât în soluție, cât și în stare pură, practic nu suferă izomerizarea prototropică inversă nici chiar la încălziri îndelungate.

2.2.1.3. Obținerea sării de sodiu a acidului propinil-acetilenfosfonic (3)

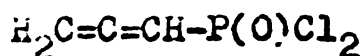
Așa cum s-a arătat mai înainte, izomerizarea prototropică alen-acetilenică a tuturor alenfosfonaților are loc mai mult sau mai puțin lent chiar la temperatura normală și ea se desfășoară în direcția formării configurației mai stabile din punct de vedere termodinamic. Totodată, s-a constatat că această izomerizare se produce cu o viteză mai mare în prezența aminelor terțiare, a fosfiților, alcoolatilor sau alcaliilor [43] :



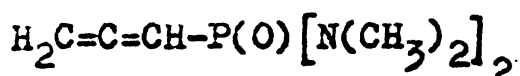
Stabilitatea metilacetilenfosfonatului (3) astfel format se datorește probabil prezenței triplei legături la atomul

de carbon fosfonic, precum și a unui grad apreciabil de hiperconjugare cu radicalul metil terminal.

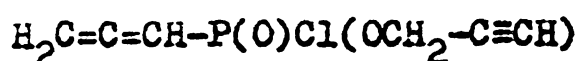
Prin hidroliză alcalină, toți compușii propadienilfosfonați, rezultați din reacțiile de mai sus, trec în sărurile corespunzătoare ale acidului propinil-1-fosfonic (metilacetiленfosfonic) :



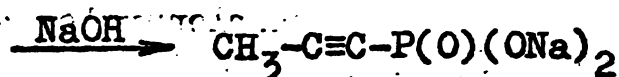
(18)



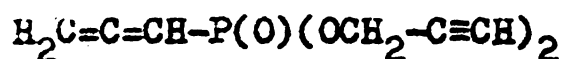
(19)



(22)



(3)



(23)

În cazul clorurii de acide, sau al ester-clorurilor, amestecul de reacție, imediat după rearanjarea alenică, a fost tratat mai întâi la rece cu o soluție apoasă diluată de NaOH pentru hidroliza legăturilor P-Cl, apoi tratamentul s-a continuat prin fierbere la reflux într-un amestec de benzen (sau toluen) - NaOH apos, pentru hidroliza grupelor esterice și desăvârșirea izomerizării alen-acetilenice.

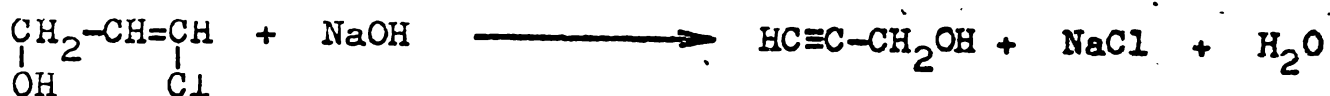
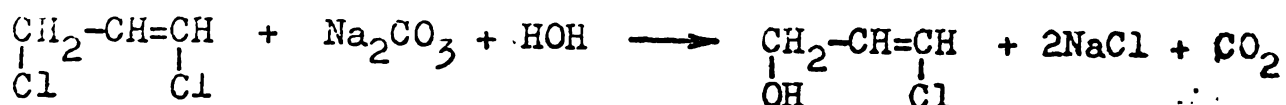
Hidroliza și izomerizarea prototropică inversă a bis(dimetileamido)-propadienilfosfonatului s-a realizat prin fierberea la reflux în amestecul de benzen-NaOH apos, fără vreun alt tratament prealabil.

2.2.1.4. Transpoziția fosfit-fosfonat și izomerizarea alen-acetilenică a cis-3-clorpropenil-2-(1)-fosfiților

O altă contribuție adusă prin prezenta lucrare la sinteza fosfomicinei, constă în elaborarea unei metode pentru obținerea sărurilor acidului cis-1,2-propenilfosfonic (2), fiind drept materie primă un amestec brut de alcooli nesaturați, rezultați din prelucrarea unor deșeuri de la fabricarea industrială a glicerinei (fracțiunea de diclorpropene).

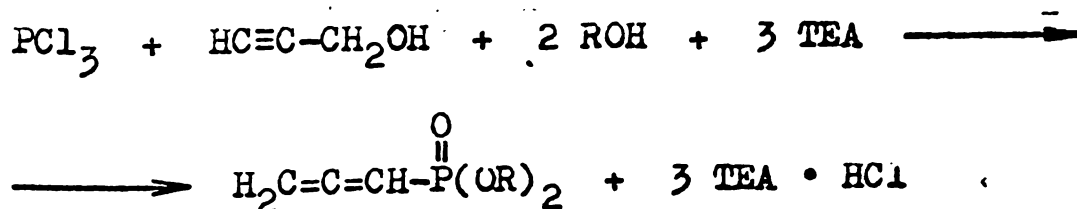
Această metodă a avut în vedere un procedeu mai vechi, propus de Hatch și Moore în 1944, pentru obținerea alcoolului propargilic prin hidroliza alcalină a clorurii de γ -cloralil

(1,3-diclorpropenă-1) la alcoolul γ -cloralilic (3-clorprop-2-en-1-ol), urmată de dehidroclorurarea acestuia prin tratarea cu NaOH [51].



Deși randamentele în alcool propargilic, obținut prin acest procedeu, sînt în general scăzute (45 - 50%), datorită faptului că dehidroclorurarea nu este posibilă decît pentru izomerul cis al cloralcoolului, în cazul utilizării unui amestec complex de derivați cloralilici, produsul de hidroliza poate fi utilizat cu rezultate bune pentru obținerea propinil-1-fosfonaților.

Astfel, în cazul utilizării unui amestec de diclorpropene, practic toți izomerii iau parte în prima etapă la reacția de hidroliza cu formarea cloralcoolilor corespunzători. În cea de a doua etapă, deși numai alcoolul cis- γ -cloralilic suferă dehidroclorurarea cu generarea alcoolului propargilic, proporția de componentă propargilică din amestec este practic suficientă pentru ca prin tratarea amestecului de alcooli cu PCl_3 , să se obțină un amestec de fosfiți, conținînd în moleculă cel puțin un radical propargilic, apt pentru a participa la rearanjarea termică acetilen-alenică, cantitatea de cloralcooli nemodificați participînd la realizarea celorlalte două grupări esterice ale fosfitului :

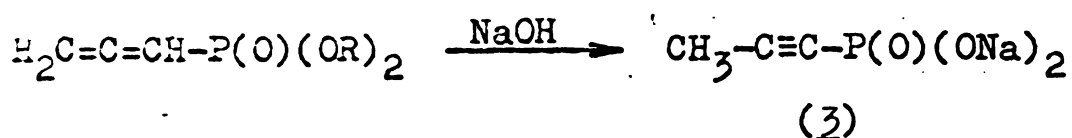


unde: R = alil și diverși izomeri de cloralil.

În continuare, amestecul de alenfosfonați a fost trecut la etapa de hidrogenare în pozițiile 2-3 ale lanțului alenic obținînd un amestec de esteri ai acidului cis-1,2-propenilfosfonic, care prin hidroliză acidă conduce la acidul fosfonic liber (2).

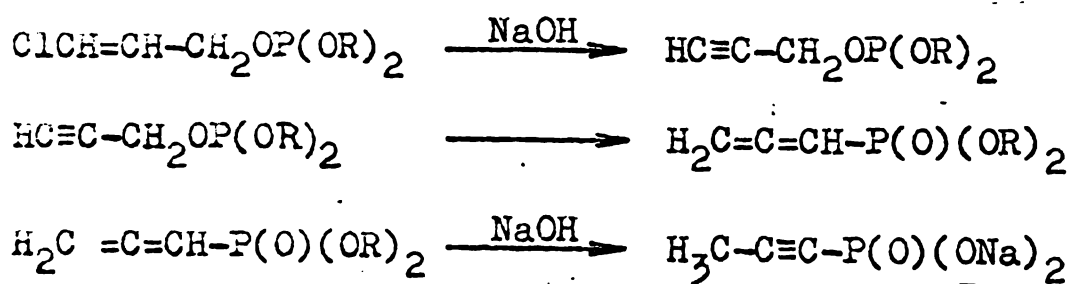
SECRET

Avînd în vedere însă prezența în grupele esterice ale alen-fosfonatului, a unor resturi de cloralil, care pot participa și ele la hidrogenare, făcînd mai dificil de controlat procesul din punct de vedere cantitativ, este de preferat ca amestecul de alenfosfonați să fie supus izomerizării prototropice alen-acetilenice, prin tratare cu hidroxizi alcalini, obținînd astfel ca produs unitar, sarea disodică a acidului 1-propenilfosfonic (3), indiferent de natura radicalilor din grupele esterice. Sarea astfel obținută poate fi apoi hidrogenată în prezența unui catalizator de tip Lindlar, la sarea corespunzătoare a acidului cis-1,2-propenilfosfonic :



De asemenea, din lucrările efectuate a rezultat că denidrociorurarea radicalului cis-3-clorpropenil-2, poate fi efectuată chiar și în molecula de fosfit, concomitent cu rearanjarea alenică, urmată apoi de izomerizarea prototropică alen-acetilenică, obținînd în cele din urmă sarea disodică a acidului motilacetilofosfonic.

În acest caz, reacția are loc probabil în trei faze succesive :



În ambele variante, se utilizează extracte eterice ale alcoolilor, după determinarea gaz-cromatografică a conținutului în componentă cis-olefinică, respectiv propargilică.

Teoretic, procedeul presupune drept condiție necesară pentru realizarea ambelor variante, o materie primă conținînd cel puțin 33% componentă cis-olefinică în amestecul inițial. În mod practic această condiție este îndeplinită cu prisosință de fracțiunea de diclorpropene rezultată de la fabricarea glicerinei, care conține o proporție de 42 - 50% cis-1,3-diclorpropenă.

Aceasta metodă, cu cele două variante ale ei, constituie obiectul unei cereri de brevet R.S.R. pentru obținerea acidului cis-1,2-propenilfosfonic.

2.2.1.5. Obținerea sărurilor acidului (\pm)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic

Sarea disodică a acidului cis-1,2-propenilfosfonic (3), obținut prin metoda de mai sus, în majoritatea experiențelor nu a fost transformată în acid liber, ci a fost utilizată ca atare în etapa de epoxidare, obținând sarea monobazică a acidului (\pm)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic (RPO_2HNa).

Agentul de epoxidare (H_2O_2) a fost adăugat în funcție de conținutul în componentă olefinică în acidul brut, determinat prin titrare bromometrică [48] .

Pentru transformarea sării monobazice în acid liber, soluția apoasă a sării de Na a fost trecută printr-o coloană cu schimbători de ioni de tip Dowex-50 sau I.R.C.-120 (forma H^+), răcită în exterior cu apă la $5 - 10^\circ\text{C}$, folosind ca eluent apă distilată.

Acidul liber a fost transformat apoi în diverse alte săruri (Ca^{++} , Mg^{++} , Ba^{++} , Li^+ , NH_4^+ , diverse amine etc.) prin tratarea soluției apoase cu hidroxizii corespunzători, sau soluțiile alcoolice ale aminelor respective, sărurile fiind izolate prin evaporarea apei la presiune scăzută și recristalizări repetate.

B). Metode bazate pe reacții de eliminare 1, 2 ale unor acizi halo-hidroxi-propilfosfonici și halo-etoxi-metilfosfonici sau ale esterilor și sărurilor acestora

În literatura de specialitate [14, 16] sînt menționate unele procedee pentru obținerea 1,2-epoxipropilfosfonaților prin reacții de eliminare 1,2, pornind de la combinații ciclice intermediare, obținute prin tratarea acizului cis-1,2-dihidroxi-propilfosfonic, sau esterilor acestuia cu diverse halogenuri acide (reacții descrise la cap. 1.2, pag. 14).

În cadrul prezentei lucrări au fost încercate unele metode de eliminare pornind de la intermediari mai simpli, în principiu derivați ai acizilor 1-halo-2-hidroxi-propilfosfonic și 1-halo-etoximetilfosfonic.

În ambele cazuri, eliminarea are loc cu inversie pură a configurației absolute, obținînd izomerii corespunzători în funcție de natura derivatului halogenat supus eliminării.

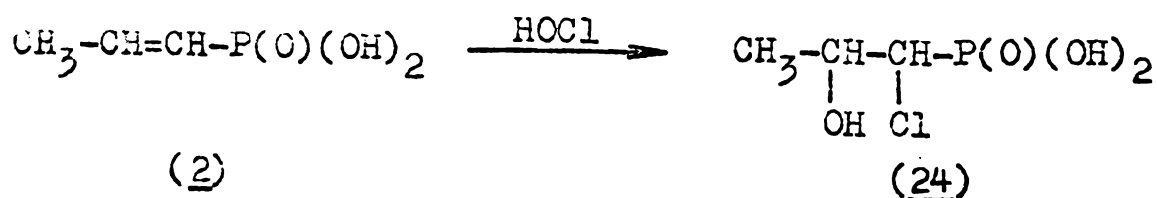
2.2.2. Dehidrohalogenarea acizilor (\pm)-threo-(1-halo-2-hidroxi-propilfosfonici și a esterilor acestora

În literatura de specialitate, reacțiile de eliminare de acest tip sînt descrise pentru alchilesterii inferiori ai acestor acizi ($R = CH_3, C_2H_5$), uelocarea grupelor esterice realizîndu-se la epoxifosfonat, prin fierberea la reflux în trimetilclorsilan și extracția în apă a acidului liber.

În prezenta lucrare am folosit ca materii prime atât acizii halo-hidroxi-fosfonici, cît și esterii lor, iar ca agenți de dehidrohalogenare am utilizat soluții apoase de hidroxizi alcalini: KOH, NaOH și $Ca(OH)_2$, obținînd direct sărurile corespunzătoare ale acidului 1,2-epoxi-propilfosfonic (1).

2.2.2.1. Acidul (\pm)-threo-(1-clor-2-hidroxi-propil)-fosfonic (24)

A fost obținut prin tratarea acidului cis-propenilfosfonic (2), în soluții apoase, la rece, cu hipoclorit de terț-butil sau hipoclorit de sodiu :

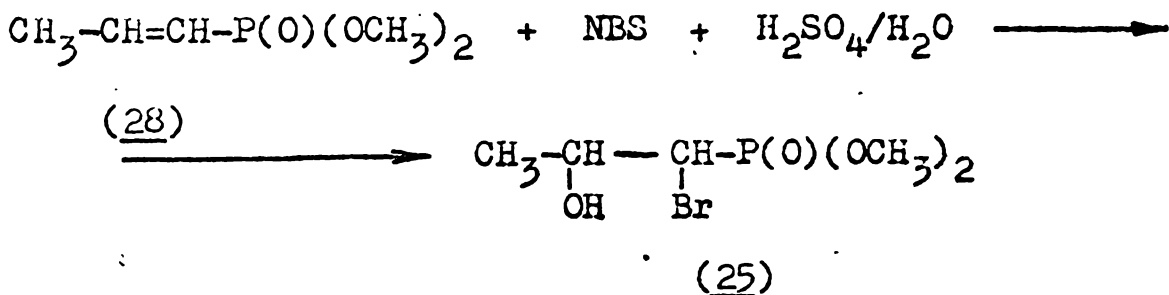
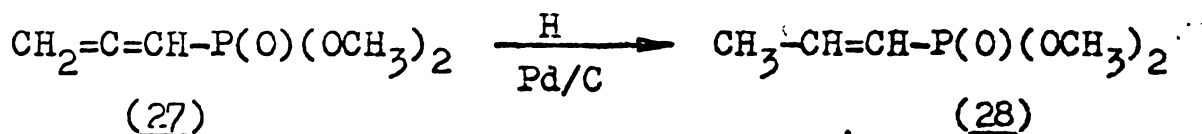
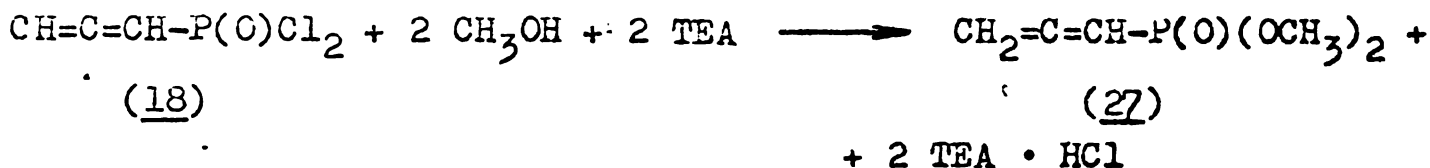


În cazul utilizării hipocloritului de sodiu, soluția a fost trecută printr-o coloană schimbătoare de ioni "Dowex-50" (H⁺) apoi eluată cu apă, pentru a obține acidul liber.

2.2.2.2. Dimetil și dietilesterii acidului (+)-threo-1-brom-2-hidroxi-propil)-fosfonic (25), (26)

Dimetilesterul (25), a fost obținut în trei etape, pornind de la propadienilfosfonildiclorura (18), care după esterificarea cu metanol conduce la dimetilpropadienilfosfonatul (27), iar acesta, prin hidrogenare catalitică, în prezență de catalizator Pd/C, la cis-propenil-1-fosfonatul de dimetil (28).

Acesta, tratat cu N-bromsuccinimidă, în mediu apos, acidulat cu acid sulfuric, conduce la dimetilesterul (25) :



În mod similar s-a obținut și dietilesterul (26) trecând prin succesiunea: dietil-propadienilfosfonat (29) - dietil-cis-propenil-1-fosfonat (30) - threo-dietil-(1-brom-2-hidroxi-propil)-fosfonat (26).

2.2.2.3. Acidul (+)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic (1)

În toate cazurile, dehidrohalogenarea compușilor 24, 25 și 26 s-a efectuat prin agitarea timp de 2-4 ore la temperatura camerei (în cazul esterilor), sau la rece (în cazul acizilor liberi), cu o soluție apoasă de hidroxizi alcalini, agentul de dehidrohalogenare fiind utilizat într-o proporție riguros stoechiometrică.

Dacă se utilizează drept materie primă, acidul liber, după dehidrohalogenare se obțin sărurile corespunzătoare ale acidului (1) sub formă de racemat, care pot fi izolate prin răcirea soluției la 0°C. Încercările de concentrare a soluțiilor apoase, chiar la presiuni reduse, au dus în mod invariabil la impurificarea produsului cu hidroxipropilfosfonați (fapt stabilit prin spectrele R.M.N.) datorită deschiderii ciclului oxiranic.

În cazul esterilor, epoxipropilfosfonatul a fost extras din soluțiile hidro-alcoolice, cu un solvent adecvat (cloroforn sau eter), iar după îndepărtarea solventului, grupele esterice au fost deblocate prin fierbere la reflux timp de 4-6 ore cu trimetilclorsilan, acidul liber (1) fiind apoi extras cu apă, de unde a fost izolat fie ca atare, fie sub formă de săruri, în ambele cazuri prin răcirea soluțiilor.

În toate cazurile au fost obținute amestecuri racemice, care uneori au fost scindate pentru izolarea formei active (-) a antibioticului, utilizând tehnici cunoscute de separare a antipozilor optici (de obicei sub formă de săruri cu (+)- α -feniletilamină).

Într-un singur caz am încercat scindarea în antipozii optici a intermediarului, izolând acidul (+)-three-(1-clor-2-hidroxipropil)-fosfonic sub formă de sare cu (-)- α -feniletilamina, din care apoi a fost regenerat acidul liber prin trecerea soluției apoase a sării printr-o coloană schimbătoare de ioni "Dewex-50" (H^+). După dehidrohalogenare, în condițiile arătate mai sus, s-au obținut sărurile corespunzătoare ale acidului (-)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic cu o puritate optică de peste 90%.

Consider că în cazul dehidrohalogenării acidului liber, dacă se urmărește izolarea în stare pură a izomerului (-) a epoxidului, este mai convenabil ca operațiunea de scindare a antipozilor să se efectueze asupra materiei prime, având în vedere sensibilitatea deosebită a inelului oxiranic. Astfel, s-a constatat că în cazul prelucrării soluțiilor apoase ale sării de (+)- α -feniletilamoniu a acidului (1), prin trecere pe o coloană cu schimbători de ioni (H^+), datorită caracterului acid relativ accentuat, al ampliturii, a fost necesară răcirea exterioară a coloanei și utilizarea unor soluții foarte diluate, pentru a evita pierderile în componență epoxidică.

2.2.3. Dehidrohalogenarea acizilor (1-halo-etoxi)-metilfosfonici și a esterilor acestora

Reacțiile de acest tip au loc atât cu acizii liberi, cât și cu esterii sau sărurile acestora utilizând ca agenți de dehidrohalogenare diverși compuși organometalici, sau hidruri și amiduri metalice.

Dehidrohalogenarea are loc la temperaturi moderate (50 - 60°C), într-un solvent inert de tipul esterilor (eter etilic, dioxan, 1,2-dimetoxietan etc.), cu inversia configurației la atomul de carbon 2 al catenei halo-eterice :

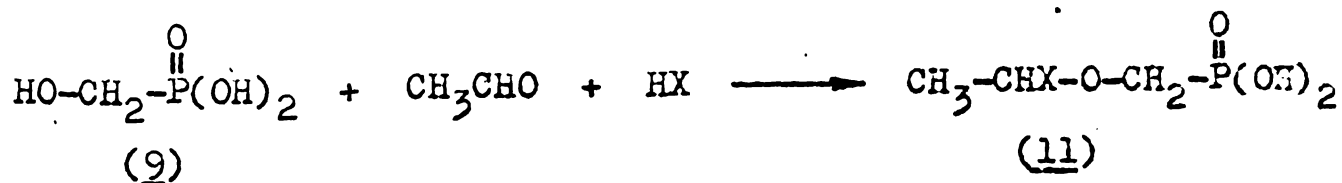


X = Cl, Br, I.

În cazul folosirii ca materie primă, a esterilor fosfonați, se obține esterul corespunzător al acidului epoxipropilfosfonic. Ca și în cazul prezentat anterior (cap. 2.2.2.3), epoxiacidul liber se obține prin tratarea cu trimetilclorsilan și extracția cu apă a acidului rezultat.

2.2.3.1. Acizii (1-haloetoxi)-metilfosfonici (11)

Acizii (1-cloretoxi)- și respectiv (1-brometoxi)-metilfosfonici au fost sintetizați prin condensarea acidului α-hidroximetilfosfonic (9) cu aldehydă acetică în prezența acidului hidrohalogenat corespunzător (HCl, sau HBr uscat), în mediu de benzen :



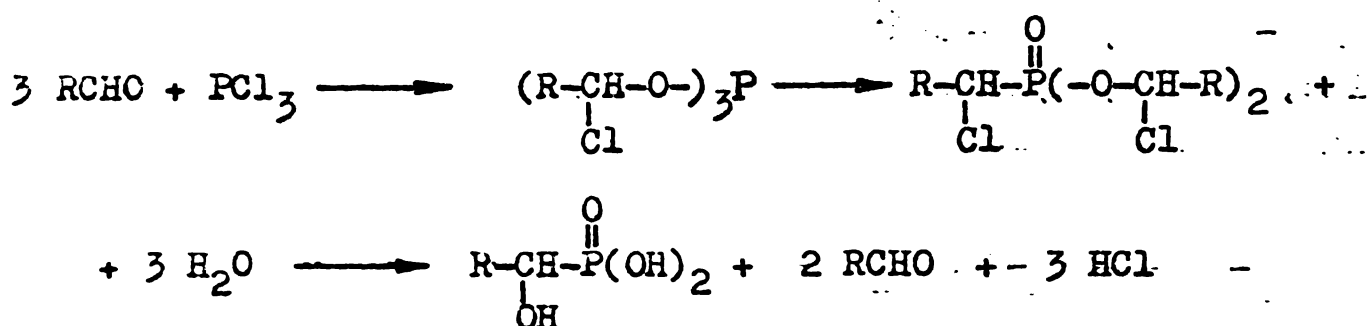
X = Cl, Br.

După îndepărtarea solventului și a excesului de acid hidrohalogenat, produsul a fost utilizat ca atare în etapa de dehidrohalogenare.

2.2.3.2. Acidul α-hidroximetilfosfonic (9)

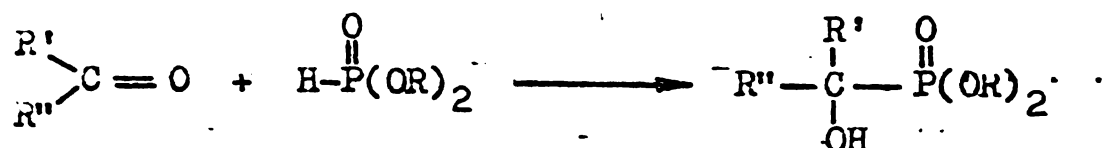
Acidul 9 a fost obținut prin metoda Fossek, studiată și îmbunătățită de Bannard [62] și Connant [63], constând din tratarea triclorurii de fosfor cu aldehydă formică în exces și

hidroliza aductului format. Deși mecanismul reacției, nu este perfect elucidat, foarte probabil în prima fază se formează un tris-(α -cloralchil)-fosfit care suferă în situ o rearanjare moleculară de tip Michaelis-Arbuzov la un bis-(α -cloralchil)ester al acidului α -cloralcan-fosfonic. Prin hidroliza, acesta este descompus la acidul α -hidroxialcan-fosfonic, cu regenerarea a 2 moli de compus carbonilic inițial [64, 65] :



2.2.3.3. Dimetil și dietilesterii acidului α -hidroximetilfosfonic (10)

Dialchilesterii (10) au fost sintetizați prin metoda generală de adădire a dialchilfosfiților la compușii carbonilici [66, 67; 68] :



Reacția a fost efectuată prin simpla încălzire a amestecului de dialchilfosfit-paraformaldehidă, fără solvent, în prezența unor cantități catalitice de trietil- sau trioutilamină.

Datorită randamentelor relativ scăzute, obținute la sinteza prin această metodă a dimetilesterului (R = 22%), produsul a fost sintetizat și printr-o altă metodă (introducerea grupelor metoxi prin tratarea acidului cu diazometan).

2.3. Sinteza unor omologi fosfonicici și fosfinici noi ai acidului cis-1,2-epoxipropilfosfonic

În vederea efectuării unui studiu sistematic, privind existența unor eventuale relații între structura și activitatea antibiotică a epoxifosfonaților, în cadrul prezentei lucrări am sintetizat un număr de compuși epoxidici, derivați ai unor acizi alchilfosfonici și fosfinici, avînd structuri relativ apropiate de cea a antibioticului natural (fosfomicina), considerat apriori ca fiind un posibil cap de serie.

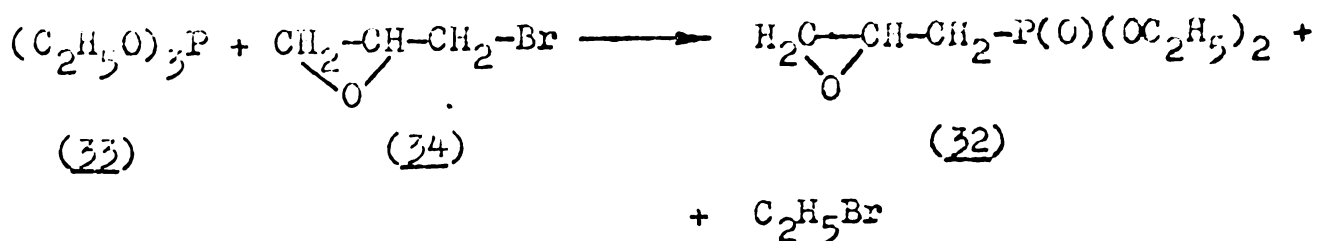
La sinteza acestor epoxifosfonați și fosfinați, am avut în vedere introducerea unor modificări structurale reprezentative, care să permită un studiu comparativ privind influența diversilor substituenți atât la atomul de fosfor, cât și în catena alchil, asupra acțiunii bactericide a substanțelor.

Compușii sintetizați în această idee, aparțin următoarelor tipuri structurale:

2.3.1. Acizi epoxifosfonici și derivați

2.3.1.1. Acidul 2,3-epoxipropilfosfonic (31)

Este un omolog apropiat al fosfomicinei, deosebit de aceasta prin poziția inelului oxiranic. Produsul a fost sintetizat prin tratarea cu trimetilclorsilan și hidroliza apoasă a dietilesterului (32), obținut la rîndul său printr-o rearanjare moleculară de tip Michaelis-Arbuzov a trietilfosfitului (33) în prezență de epibromhidrină (34) :



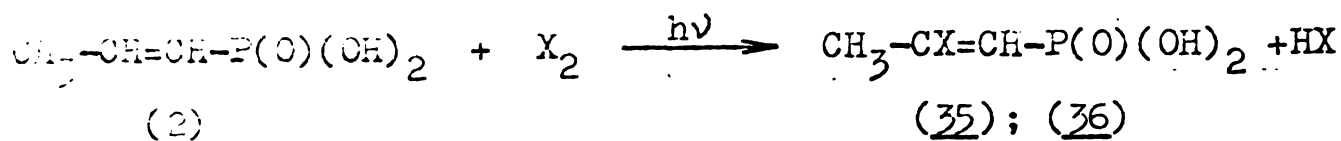
Acidul (31) a fost izolat și caracterizat sub formă de săruri de Na și Ca.

2.3.1.2. Acizii 2-halo-1,2-epoxipropilfosfonici

Compușii din această grupă au fost sintetizați în vederea studierii influenței ce ar putea exercita introducerea unui atom de halogen la atomul C 2, asupra proprietăților antimicrobiene ale acizilor epoxipropilfosfonici.

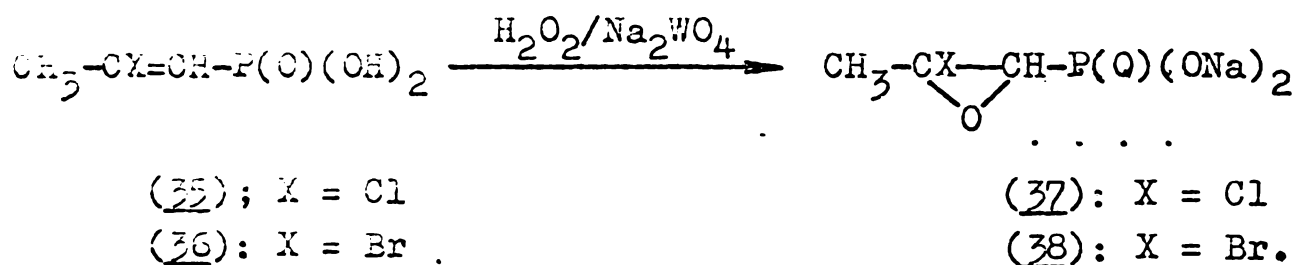
Sintezele au fost efectuate pornind de la acidul

propenilfosfonic (2), care tratat cu o cantitate echivalentă de halogen într-un solvent clorurat (cloroform sau tetraclo-
ura de carbon), printr-o reacție de substituție inițiată
fotochimic, conduce la acizii 2-halogenati corespunzatori (35)
X = Cl și (36) X = Br :



Olerinele halogensubstituite au fost apoi transfor-
mate în epoxizii corespunzatori, fie prin procedeul Payne [32]
cu apă oxigenată în prezență de tungstat de sodiu în mediu
apros, fie prin tratarea într-un solvent organic, cu peracizi
(acid perbenzoic sau acid perftalic).

În toate variantele, epoxizii rezultați au fost izo-
latați sub formă de săruri de Na.



Pornind de la izomerul cis al acidului propenilfos-
fonic, după tratarea cu halogen, se obțin acizi (Z)-2-halo-
propenilfosfonici din care în urma epoxidării rezultă (+)-
2-halo-trans-1,2-epoxipropilfosfonați.

În mod similar, din acidul trans-propenilfosfonic,
rezulta acidul (E)-2-halopropenilfosfonic, care conduce la
(-)-2-halo-cis-1,2-epoxipropilfosfonați.

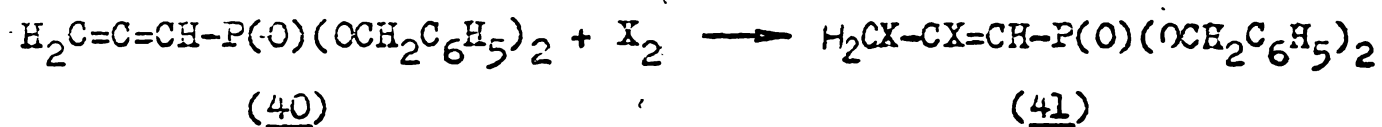
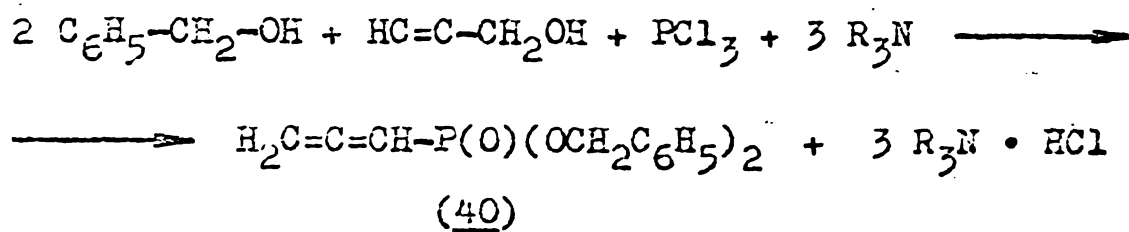
Atomul de halogen din molecula 2-haloepoxipropil-
fosfonaților poate fi substituit metatetic, cu inversia con-
figurației.

Astfel, sarea disodică a acidului (+)-2-iod-cis-
1,2-epoxipropilfosfonic (39), a fost obținută prin tratarea
cu iodură de sodiu în mediu de etanol, a (+)-2-clor-trans-1,2-
epoxipropilfosfonatului de sodiu (37).

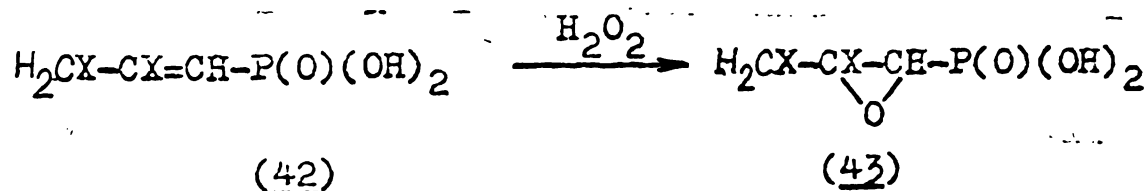
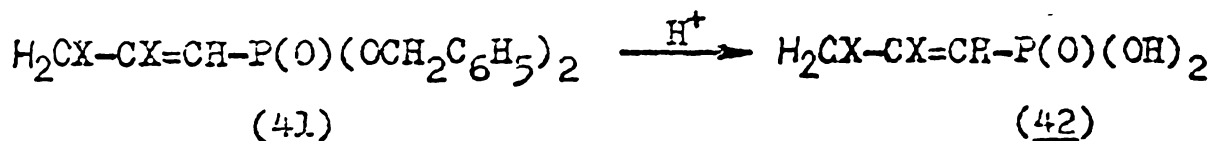
2.3.1.3. Acizi 2,3-dihalo-1,2-epoxipropilfosfonici

Acizii 2,3-dihalo-1,2-epoxipropilfosfonici au fost sintetizați pe două căi diferite :

a). prin adățiia unui halogen (Cl sau Br) la dubla legătură 2,3 a unui dibenzil-1,2-propadienilfosfonat, urmată de deblocarea grupelor esterice prin hidroliză acidă și epoxidarea acidului 2,3-dihalo-propenil-1-fosfonic, cu apă oxigenată. Dibenzil-propadienilfosfonatul la rîndul său a fost obținut prin izomerizarea acetilen-alenică a dibenzil-propargilfosfitului în condiții similare cu ceilalți esteri fosfiți micști :

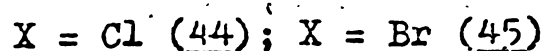
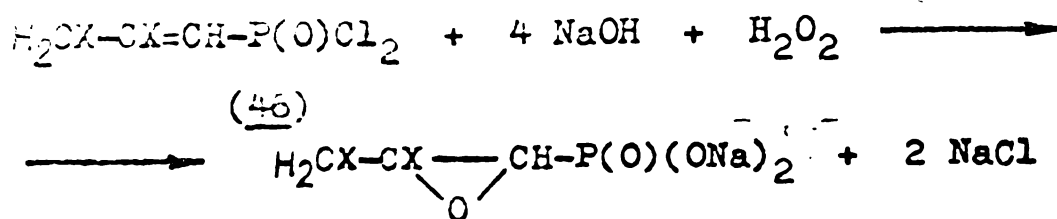
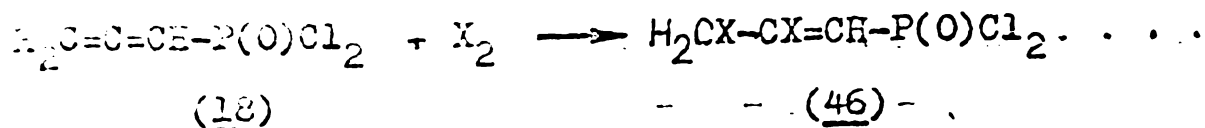


X = Cl, Br



Prin acest procedeu au fost sintetizați acizii (±)-2,3-diclor-1,2-epoxipropilfosfonic (44) și 2,3-dibrom-1,2-epoxipropilfosfonic (45).

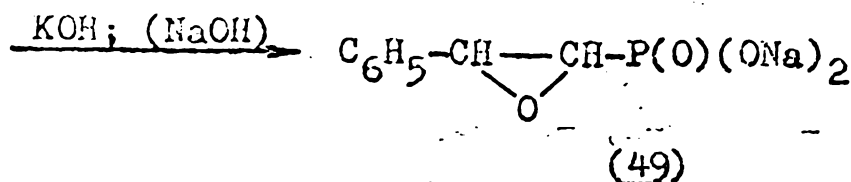
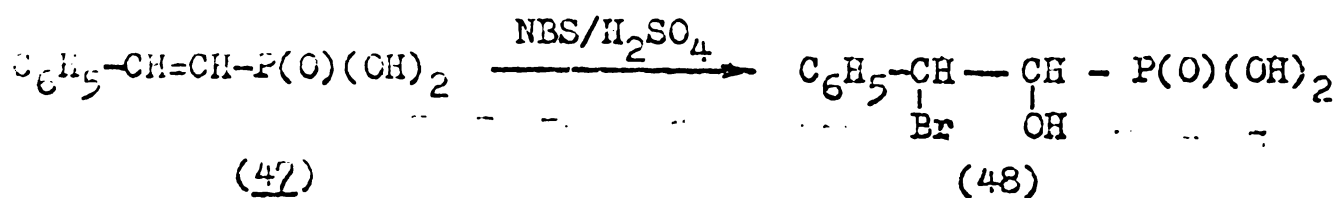
b). aceiași acizi epoxipropilfosfonici (44) și (45) au fost sintetizați și printr-o altă variantă, pornind de la propadienilfosfonildiclorura (18), care în mediu de tetraclorură de carbon adățiionează clor sau brom, conducînd la 2,3-dihalo-propenil-1-fosfonildiclorură (46). Aceasta, prin tratare cu apă oxigenată în soluție apoasă alcalină, conduce direct la epoxizii (44) și (45), sub formă de săruri neutre sau monobazice, în funcție de cantitatea de bază conținută în soluție :



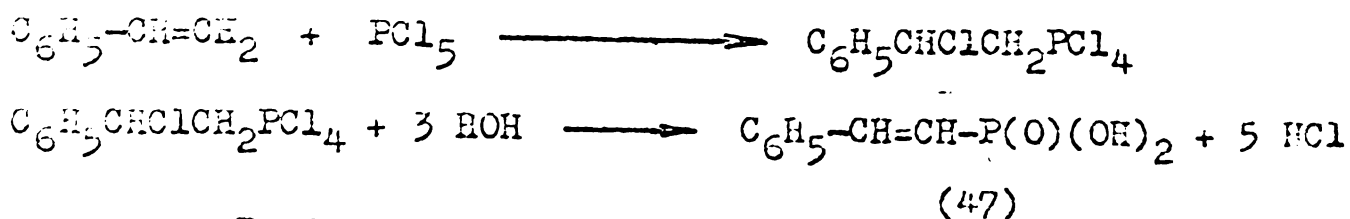
2.3.1.4. Acidul 2-fenil-1,2-epoxi-etilfosfonic (49)

Acest compus a fost sintetizat în vederea studierii influenței introducerii în molecula epoxifosfonatului a unui radical aromatic, asupra activității antibacteriene :

Epoxidul (49) a fost obținut printr-un procedeu similar cu cel descris pentru fosfomicină, pornind de la compușii (25) și (26), folosind în acest caz, drept componentă etilenică, acidul 2-fenil-etilenfosfonic (47), care tratat cu N-bromsuccinimidă în mediu de tetrahidrofuran, conduce la bromhidrina (48), iar aceasta, prin dehidrobromurare în prezență de alcalii, formează epoxidul (49) sub formă de săruri de Na sau K ale acidului fosfonic :



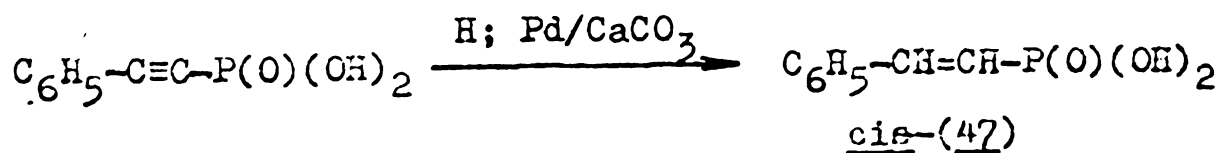
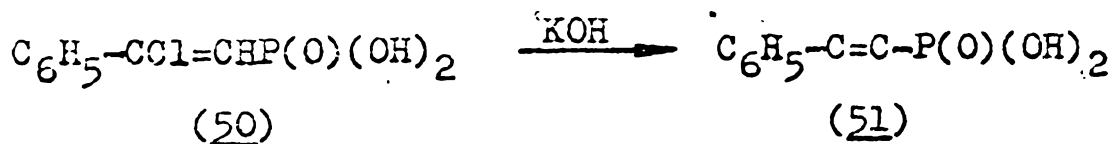
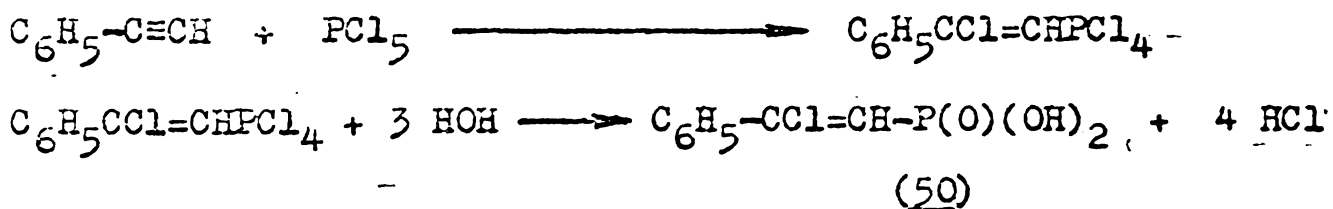
Acidul nesaturat (47) a fost obținut prin aplicarea reacției de adiție a pentaclorurii de fosfor la dubla legătură reactivă a stirenului și hidroliza tetraclorurii de fosfor rezultate. De fapt, în această reacție se realizează concomitent cu conversia tetraclorurii de fosfor în acid fosfonic și o dehidrohalogenare 1,2, cu regenerarea nesaturării inițiale [69, 70, 71, 72] :



Produsul obținut sub formă de cristale, este un amestec de izomeri cis-trans, care a fost separat manual și caracterizat prin constante fizice.

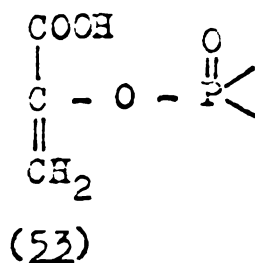
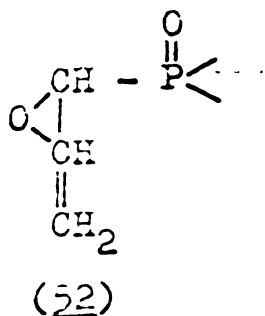
Pentru obținerea izomerului cis în stare pură, s-a sintetizat mai întâi acidul 2-fenil-etinofosfonic (51) prin adăugarea pentaclorurii de fosfor la fenilacetilenă și hidroliza-tetraclorurii de fosfor la acidul α -clor- β -stirenfosfonic (50). Acesta, prin dehidrohalogenare în soluție apoasă diluată de KOH, la fierbere, a condus la acidul fenilacetilenofosfonic (51), din care prin hidrogenare catalitică în, prezență de catalizator Lindlar s-a obținut acidul (47) pur, sub formă de izomer cis [73, 74].

În toate cazurile, compoziția izomerică cis-trans, a fost determinată prin tehnici uzuale, din spectrele R.M.N.

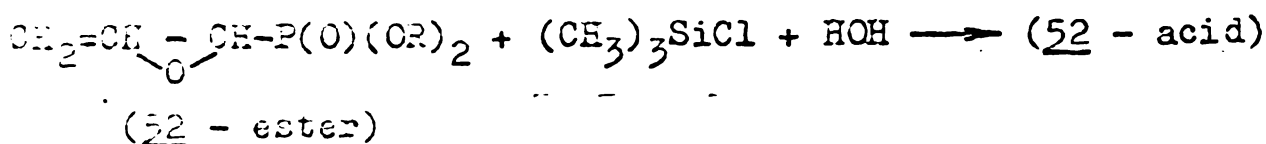
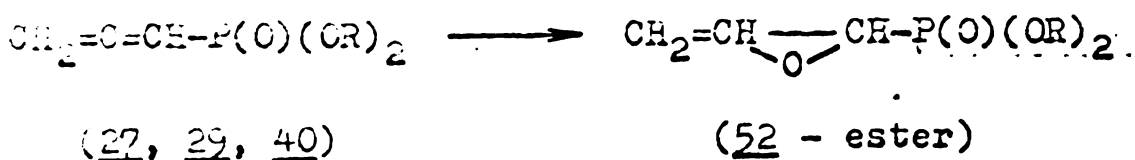


2.3.1.5. Acidul 1,2-epoxi-propilen-2-fosfonic (52)

Prin sinteza acestui compus, s-a urmărit efectul dublei legături 2,3 asupra activității antimicrobiene, prin realizarea unei structuri mai apropiate față de substratul natural - fosfoenolpiruvat (53):



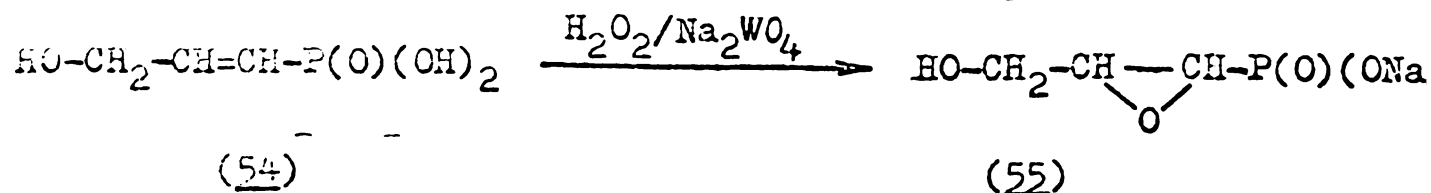
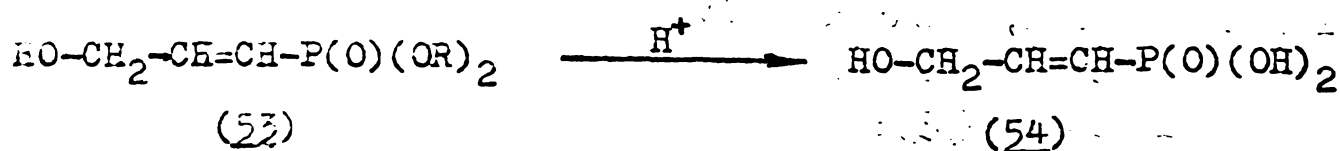
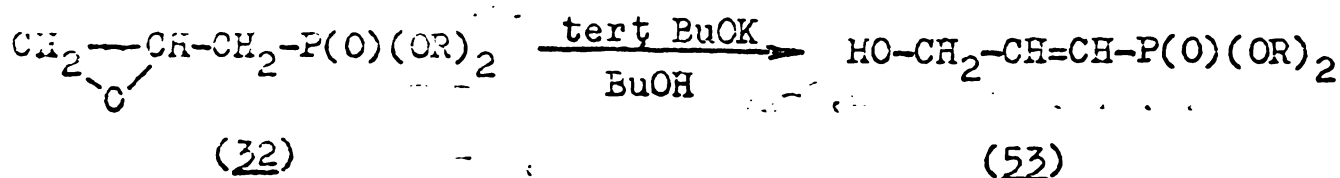
Acidul 1,2-epoxialilfosfonic (52) a fost sintetizat prin epoxidarea 1,2-propadienilfosfonaților (27), (29) și (40) cu acid perftalic, urmată de deblocarea grupelor esterice prin fierbere cu trimetilclorsilan și hidroliză în mediu apos :



2.3.1.6. Acidul 1,2-epoxi-3-hidroxi-propilfosfonic (55)

Rakov și Alekseev [75] au găsit că esterii acidului 1,2-epoxipropilfosfonic, în mediu de alcooli alifatici și în prezența unor catalizatori bazici, concomitent cu deschiderea ciclului oxiranic, suferă o izomerizare specifică, cu formarea fosfonoalcoolului corespunzător.

Epoxiacidul (55) a fost preparat pornind de la esterul (52), care în mediu de etanol absolut și în prezența de etoxid de sodiu, se izomerizează la trans-3-hidroxi-propenilfosfonatul corespunzător (53). Acesta, după deblocarea grupelor esterice, prin fierbere cu acid clorhidric diluat și epoxidarea acidului liber (54) astfel obținut, formează sarea de sodiu a acidului 1,2-epoxi-3-hidroxi-propilfosfonic. Epoxiacidul liber a fost obținut prin trecerea soluției apoase a sării de sodiu printr-o colcană cu schimbător de ion Dowex-50 (H⁺).

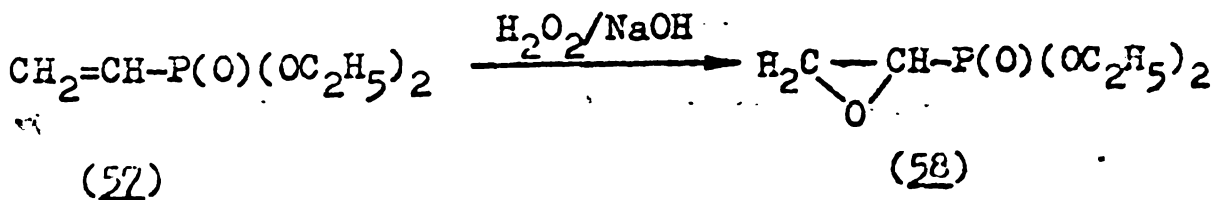
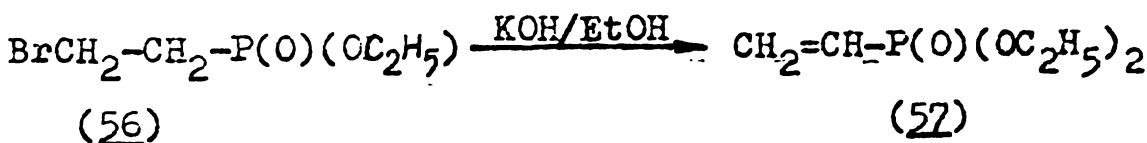
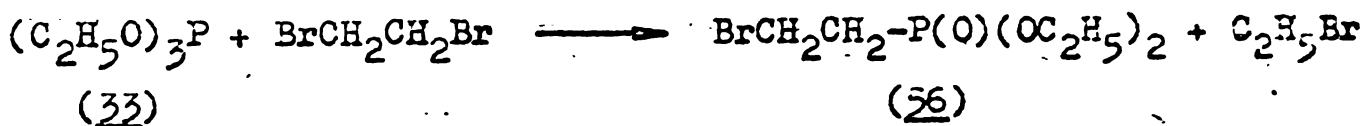


2.3.1.7. Acidul 1,2-epoxietilfosfonic (60)

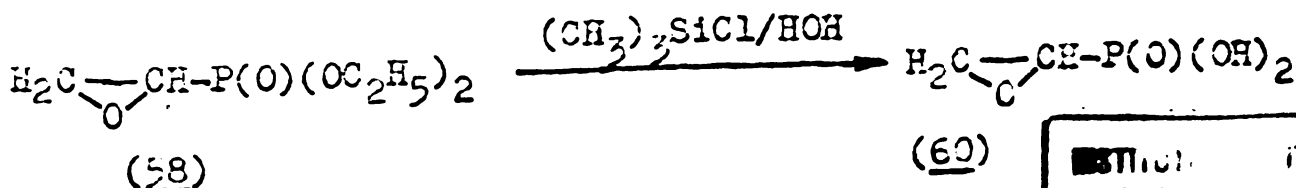
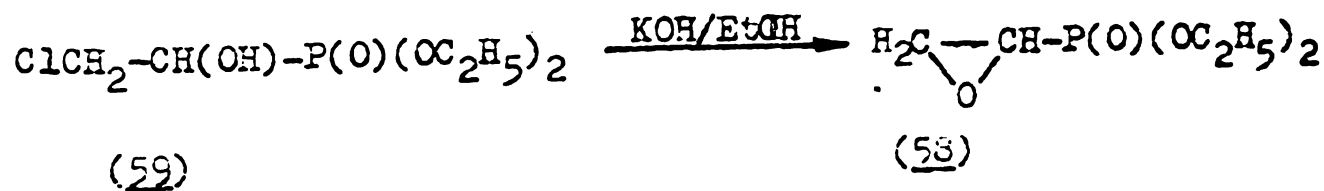
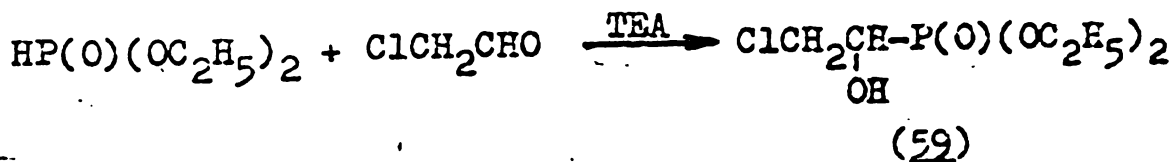
Acidul (60), omologul etilfosfonic al Fosfonomircin, a fost sintetizat în vederea studierii influenței ce o exercită micșorarea catenei de alchil la care este atașat inelul oxiranic, asupra proprietăților antimicrobiene ale epoxifosfonatului.

Compusul (58) a fost preparat atât prin epoxidarea dietilesterului acidului vinilfosfonic (57), cât și printr-o condensare Darzen [76, 77, 78, 79], obținând mai întâi dietil-2-clor-1-hidroxietilfosfonatul (59), care prin eliminare de acid hidrohalogenat în mediu de hidroxizi alcalini în soluție alcoolică, a condus apoi la dietilesterul acidului epoxietilfosfonic (58). În ambele cazuri, acidul liber a fost obținut prin refluxarea esterului cu trimetilclorsilan, urmată de hidroliză în mediu apos.

Metoda a)



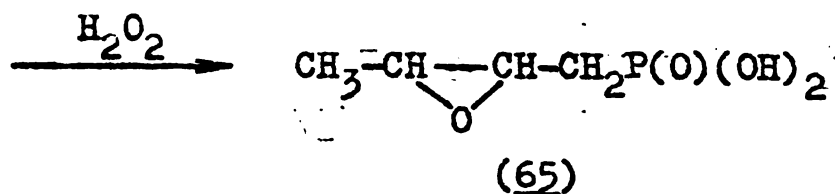
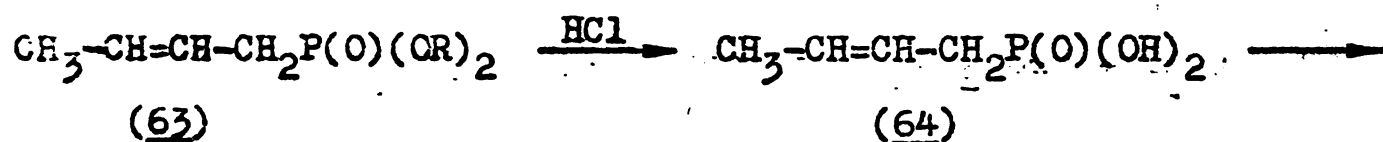
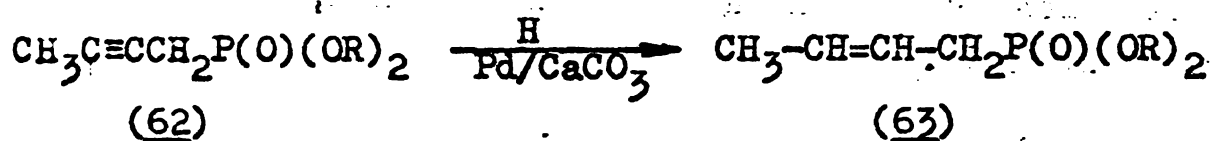
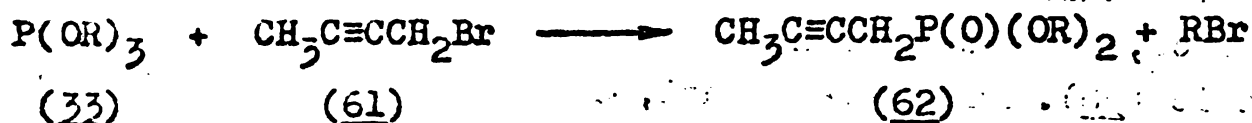
Metoda b)



ESTIPI	ITEMIC
TIMI	RA
INTECA	CENTRALI

2.3.1.8. Acidul 2,3-epoxibutilfosfonic (65)

Acidul (65), omologul superior al Fosfomicinei a fost obținut prin aplicarea metodelor generale de sinteză a 1,2-epoxipropilfosfonaților [80, 81, 82], pornind de la un trialchilfosfit (33), care printr-o rearanjare moleculară, de tip Michaelis-Arbuzov, cu 2,3-butenilbromură (61), conduce la un 2-butenil-1-fosfonat (62). Acesta, prin hidrogenare catalitică și deblocarea grupelor esterice în mediu de acid mineral, la fierbere, formează acidul cis-2-butenil-1-fosfonic (64), care apoi prin epoxidare conduce la acidul (65).

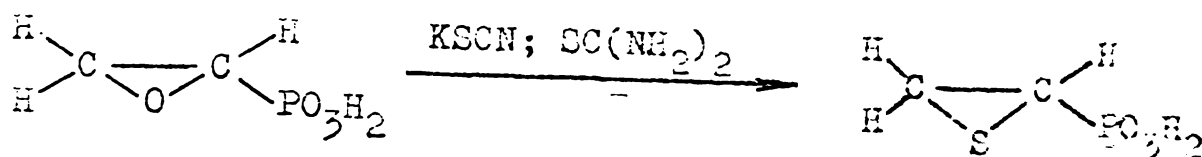


Compusul (65) a fost izolat și caracterizat sub formă de săruri.

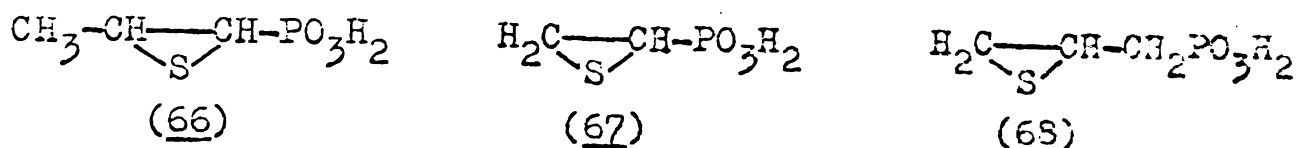
2.3.1.9. Epitio-analogi ai Fosfomicinei (66, 67, 68)

În vederea studierii influenței substituției atomului de oxigen din ciclul oxiranic cu un atom de sulf, asupra proprietăților antimicrobiene ale compuşilor, s-a studiat conversia inelului epoxidic în alchilensulfurii corespunzătoare, atât în cazul Fosfomicinei, cât și în cazul unor omologi ai acestuia.

Epitioderivații corespunzători au fost obținuți prin aplicarea metodei generale propuse de Culvenor [83, 84, 85], folosind ca donor de sulf tiocianat de potasiu și tiourea în soluții apoase ale sărurilor acizilor epoxifosfonică.



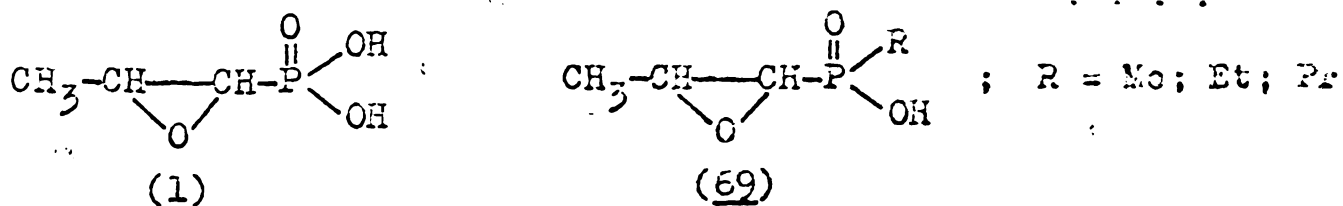
Prin acest procedeu au fost preparați epitioanalogi ai fosfomicinei (66), acidului 1,2-epoxietilfosfonic (67) și acidului 2,3-epoxipropilfosfonic (68) :



În toate cazurile, reacția de obținere a epitioderivaților a fost însoțită de inversia configurației geometrice.

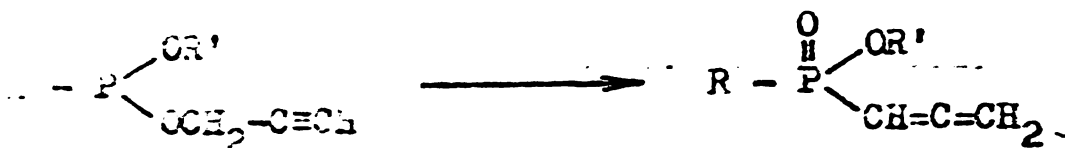
2.3.2. Acizi epoxifosfinici și derivați

Tinând seama, pe de o parte, de mecanismul de acțiune probabil al Fosfomicinei asupra microorganismelor, ca inhibitor al primelor secvențe de biosinteză a pereților celulari bacterieni [86, 87, 88, 89, 90], iar pe de altă parte de structura relativ simplă a acestui antibiotic, în prezenta lucrare s-a încercat sintetizarea unor omologi fosfinici ai antibioticului natural (1), unde una din grupările acide a fost substituită cu un radical alchil inferior (69) :



Prin prepararea acestor compuși, s-a urmărit culegerea unor date suplimentare cu privire la relația structură-activitate antimicrobiană, în seria omologilor fosfomicinei, de această dată prin alterarea porțiunii acide a moleculei și introducerea unor noi factori sterici și electricsi (polarizabilitatea atomului de P, constanta de disociere, realizarea a două legături P - C etc.).

Pentru obținerea acizilor 1,2-epoxifosfinici și a esterilor acestora, a fost aplicată schema generală de sinteză a derivaților 1,2-epoxifosfinici, descrisă în capitoul 2.1, bazată pe izomerizarea acetilen-alenică a propargilfosfiniilor micști :



unde R = Me; Et; Pr, iar R' = Et; Bu; tert-Bu.

În continuare, alchil, O-alchil-propadienilfosfinatul obținut a fost supus în mod succesiv operațiilor de hidrogenare catalitică, deblocarea grupelor esterice și epoxidarea acidului propenilfosfinic, în mod similar cu procedeele descrise anterior pentru obținerea Fosfomicinei și omologilor acesteia.

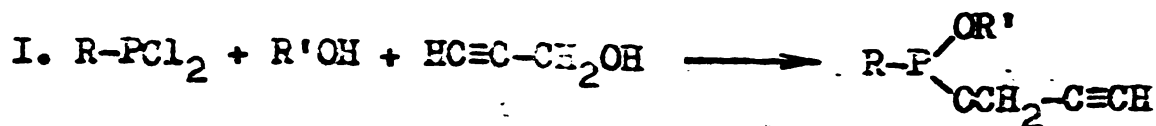
De asemenea, în unele cazuri a fost încercată și metoda descrisă la capitolul 2.2.1.3, bazată pe hidroliza alcalină a alenfosfinaților, cu producerea concomitentă a izomerizării prototropice inverse, conducând la alchil-alchilfosfinații corespunzători, sub formă de săruri :

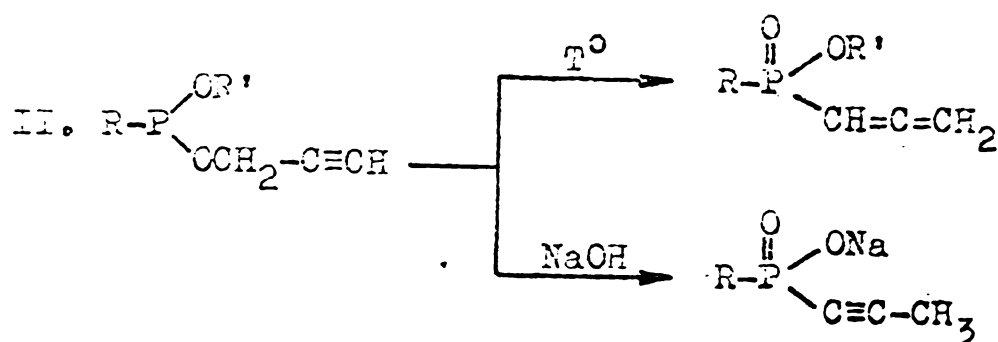


Intermediarul astfel obținut, după hidrogenare catalitică și epoxidare, a condus la epoxifosfinații corespunzători (69).

2.3.2.1. Alchildiclorfosfinele (70, 71)

În cazul compușilor epoxifosfinați, conținând două legături P-C, drept materie primă s-au utilizat halogenurile acide ale acizilor alchilfosfoși corespunzători, care prin esterificare succesivă cu un alcool alifatic și apoi cu alcool propargilic, au condus la un fosfonit mixt. Cea de a doua legătură P-C a fost realizată fie prin izomerizarea acetică a fosfonitului, fie prin izomerizarea prototropică a alenfosfinatului, care în acest caz a constituit un intermediar neizolat, reacția realizându-se practic prin tratarea cu alcalii la fierbere, a alchil-propargilfosfonitului mixt:





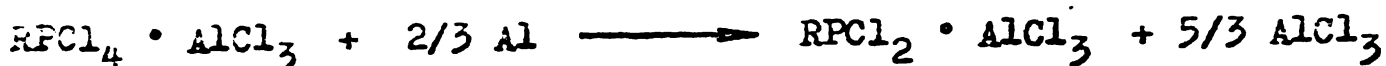
Dintre halogenurile acide ale acizilor alchilfosfo-
noși (denumite în literatură și dihalogenfosfine), în prezenta
lucrării au fost utilizate în exclusivitate diclorfosfinele, pre-
pararea cărora a prezentat interes și pentru institutul nostru
în vederea sintezei altor produse.

Pentru obținerea alchildiclorfosfinelor, în litera-
tura de specialitate sînt menționate mai multe posibilități,
dintre care mai accesibile sînt: încălzirea în tub închis la
200-250°C a unui amestec de tricolorură de fosfor și derivați
dialchilmercurici [91, 92] ; încălzirea în atmosferă inertă a
unui amestec de trialchilaluminii și tricolorură de fosfor [93] ;
reacția compușilor organici ai cadmiului sau zincului cu tri-
clorură de fosfor [94] ; încălzirea tetrametil-, sau tetraetil-
plumbului cu tricolorură de fosfor [95, 96] ; reducerea com-
plecșilor formați între halogenurile de alchil, tricolorură de
fosfor și tricolorură de aluminiu în diverse proporții molare
[97, 98] ; reacția la temperaturi ridicate, cu sau fără cata-
lizatori, între tricolorura de fosfor și alcanii inferiori
[99, 100] ; reacția dintre fosforul elementar și halogenuri de
n-alkil, la temperaturi de 300-400°C [101, 102] ; reducerea
clorurilor acide ale acizilor alchilfosfonici și alchiltio-
fosfonici [103, 104] , precum și clorurarea cu clor gazos a
fosfinelor primare, sau halogenarea acizilor, esterilor și
amidelor acizilor alchilfosfonoși, folosind tricolorură de fosfor
sau acid clorhidric uscat [105] .

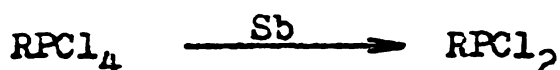
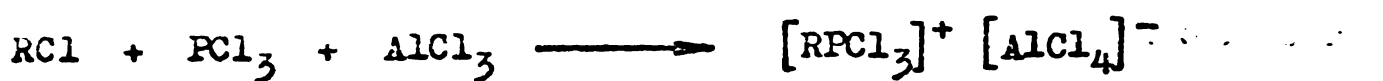
În fig. 2 sînt reprezentate schematic principalele
căi de sinteză, menționate în literatură, pentru obținerea
clorurilor acide ale acizilor alchilfosfonoși.

Practic, pentru obținerea acestor cloruri acide, în
cadru prezentei lucrări au fost selecționate două metode, por-
nind de la complecșii de tip $\text{P}(\text{Cl})_4 \cdot n \text{AlCl}_3$ (unde $n = 1-2$).

Intr-o primă variantă, complexul a fost redus cu pulbere sau strunjitură de aluminiu, extragerea produsului de reacție în dicitormetan și decomplexarea acestuia cu clorură de sodiu, după îndepărtarea solventului :



Intr-o altă variantă, complexul ionic inițial a fost decomplexat cu dietilftalat, iar tetrahalogenfosforanul astfel obținut, redus cu pulbere de antimoniu :

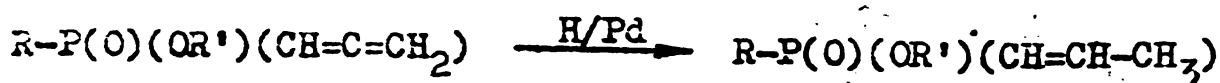
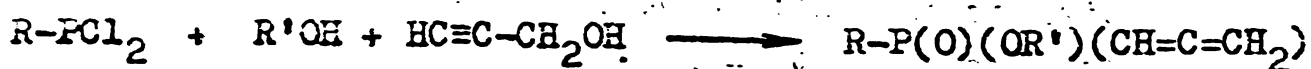


In ambele variante, după distilarea și rectificarea produselor, au fost obținute substanțe pure, unitare, practic lipsite de dialchil-clorfosfine.

Prin procedeul descris, au fost sintetizați și caracterizați primii doi termeni ai seriei: $\text{R} = \text{CH}_3$ (70) și $\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5$ (71).

2.3.2.2. Alchil-propenilfosfinații (72, 73)

Pentru obținerea alchil-propenilfosfinaților, au fost aplicate metodele generale de sinteză folosite și în cazul propenilfosfonaților, constând din esterificarea succesivă a alchildiclorfosfinelor mai întâi cu un alcool alifatic inferior (etanol, propanol, butanol), apoi cu alcool propargilic, urmată de izomerizarea acetilen-alenică a fosfiților micști și reducerea catalitică a alenilfosfinatului astfel obținut, la alchil-propenilfosfinatul corespunzător :



Din această serie au fost sintetizați propenilfosfinații acidului metilfosfinic (72) și ai acidului etilfosfinic (73).

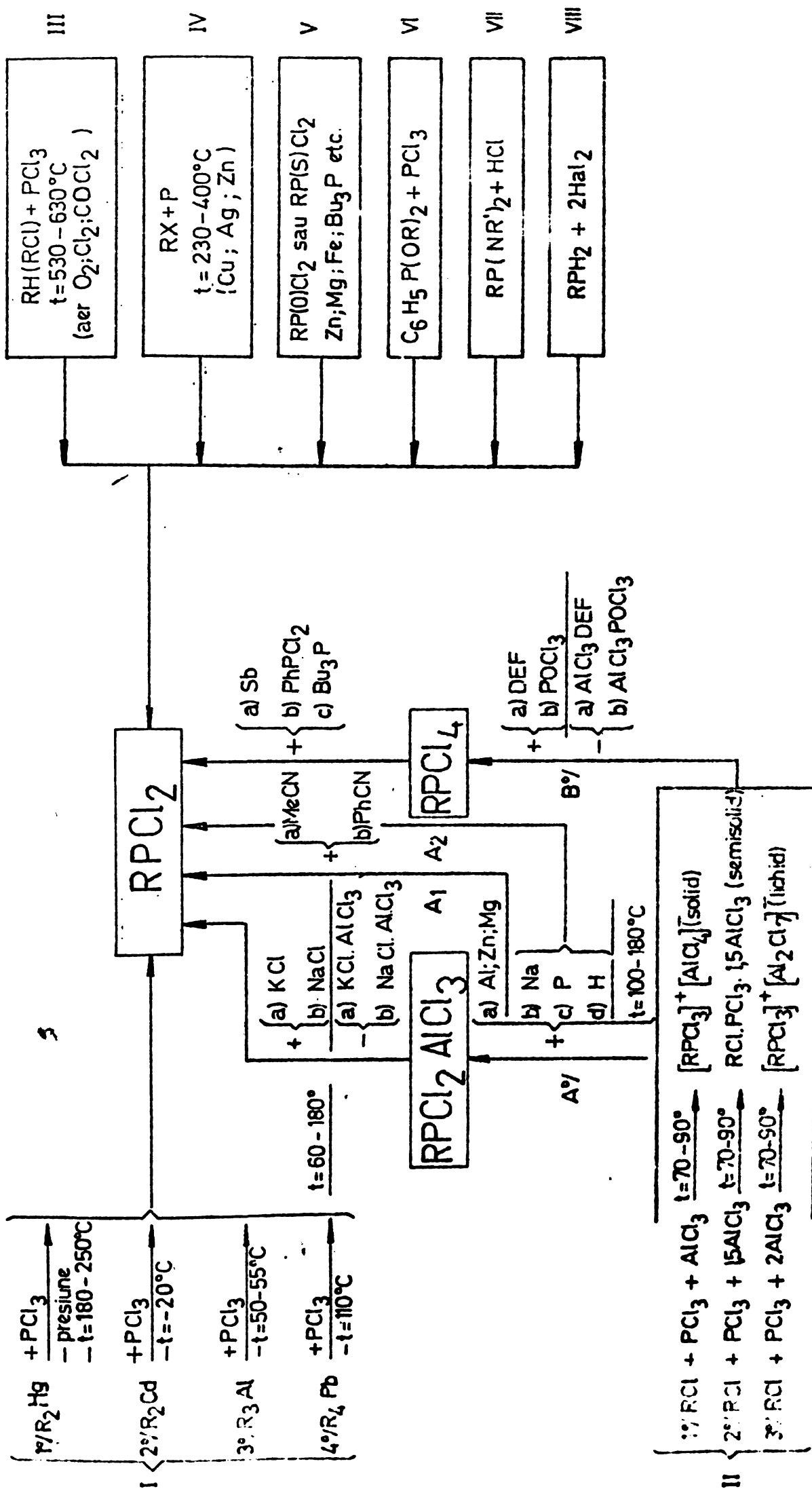
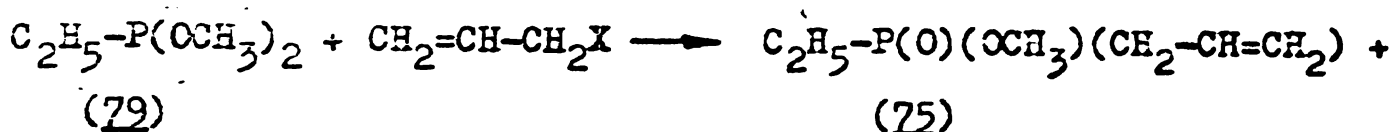
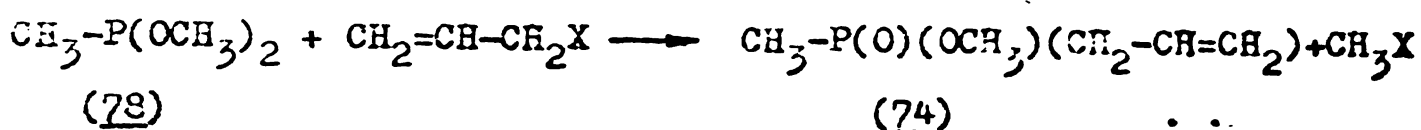


Fig. 2.- Principalele cai de sinteza pentru organofosforici elaborator acide ale acizilor alchilfosforici (a) (b) (c) (d)

2.3.2.3. Alchil-alenilfosfinații (74, 75)

În vederea studierii 2,3-epoxipropilfosfinaților, au fost sintetizați metil-(2,3-epoxipropil)-etilfosfinatul (77), prin epoxidarea alenilfosfinaților corespunzători (74) și respectiv (75).

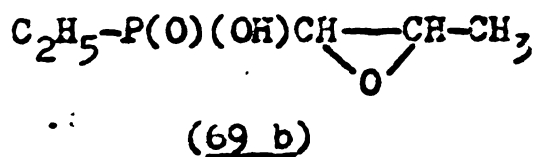
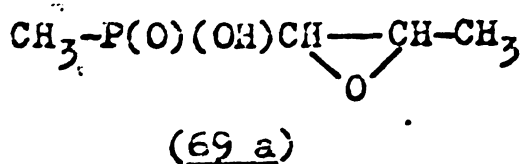
Alenilfosfinații (74) și (75) au fost sintetizați printr-o reacție de rearanjare moleculară Michaelis-Arbuzov, pornind de la dimetilfosfoniții corespunzători (78 și respectiv 79), în prezență de bromură, sau iodură de alil :



2.3.2.4. 1,2-epoxipropilfosfinații (69)

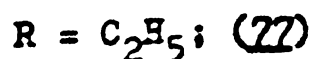
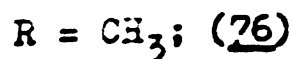
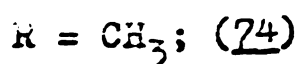
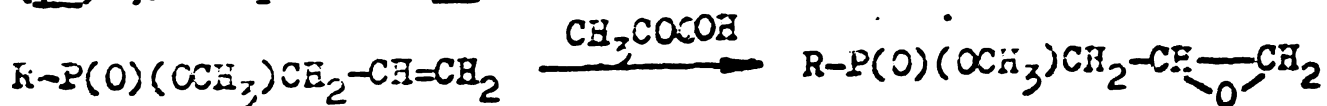
Omologii fosfinați ai Fosfomicinei au fost sintetizați prin epoxidarea propenilfosfonaților corespunzători (72) și (73), cu apă oxigenată, în modul descris anterior, pentru obținerea 1,2-epoxipropilfosfonaților.

Dintre compușii sintetizați, au fost izolați ca acizi liberi și săruri, caracterizați fizico-chimic și testați sub aspectul activității antimicrobiene, derivații acizilor: metilfosfinic (69 a) și etilfosfinic (69 b) :

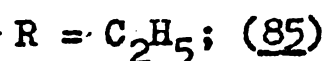
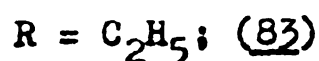
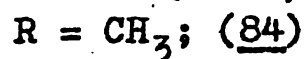
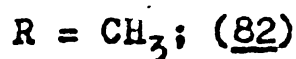
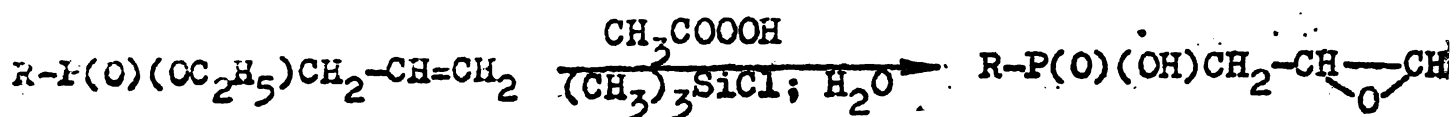


2.3.2.5. 2,3-epoxipropilfosfinații (76, 77, 84, 85)

2,3-epoxipropilfosfinații au fost sintetizați prin epoxidarea cu acid peracetic a alilfosfinaților corespunzători (74) și respectiv (75).



Pentru obținerea acizilor liberi, în locul compușilor (74) și (75) au fost utilizați etilesterii (82) și respectiv (83) care au permis deblocarea grupelor esterice prin fierbere cu tri-etilclorsilan și extracție în mediu apos.



2.4. SINTEZA FOSFONOMICINEI ȘI A UNOR OMOLOGI FOSFINICI AI ACESTEIA, CONTININD ATOMI MARCAȚI (P³²)

În vederea studierii unor proprietăți fizico-chimice ale produselor sintetizate și testate (cinetica de hidroliză, stabilitatea antibioticelor în diferite condiții de pH și temperatura mediului), precum și a comportării farmacocinetice (absorbția, difuzia și repartiția în diferite țesuturi; nivelurile de antibiotic realizate în funcție de căile de administrare, reținerea și eliminarea produselor active etc.), s-a considerat utilă elaborarea unor metode de sinteză accesibile pentru obținerea unor reprezentanți epoxifosfonați și fosfinați, conținând ca atom marcat P³² radioactiv.

Utilizarea metodelor radiochimice pentru astfel de studii, deși pînă în prezent nu este larg răspîndită, se consideră a fi superioară metodelor clasice, utilizate în mod curent în studiile de laborator privind comportarea antibioticelor in vivo (recuperarea antibioticelor din singe, ser, urină, extracte de organe etc.) [106, 107] .

Sinteza acestor compuși, precum și unele studii privind cinetica lor de hidroliză, au fost realizate în cadrul laboratorului de radiochimie al Universității Leicester-Anglia, Departamentul de chimie organică, iar studiile farmacocinetice, în cadrul laboratoarelor de specialitate ale Ministerului Apărării Naționale.

2.4.1. Sinteza Fosfomicinei marcate cu izotop P^{32} (85)

Pentru sinteza acidului cis-1,2-epoxipropilfosfonic marcat, am utilizat metoda generală de sinteză, bazată pe re-aranjarea moleculară acetilen-alenică, hidrogenarea catalitică a alenfosfonatului și epoxidarea cu apă oxigenată.

Izotopul P^{32} a fost introdus în prima etapă de esterificare, prin utilizarea unui preparat de $P^{32}Cl_3$, cu o activitate specifică inițială de 10 mCi/g, care a fost diluat cu o cantitate egală de PCl_3 imediat înainte de efectuarea reacției^{x)}.

După parcurgerea tuturor etapelor de sinteză, a fost obținut un produs cu o activitate specifică inițială de 1 mCi/g.

Intrucât prin sinteza preparatului marcat nu s-a urmărit utilizarea acestuia în studii privind efectul antimicrobian, ci numai stabilirea unor caracteristici cantitative globale, epoxifosfonatul racemic nu a mai fost scindat în antipozii optici, fiind utilizat ca atare, sub formă de sare de sodiu.

2.4.2. Sinteza acidului cis-1,2-epoxipropil,-metilfosfinic marcat cu izotop P^{32}

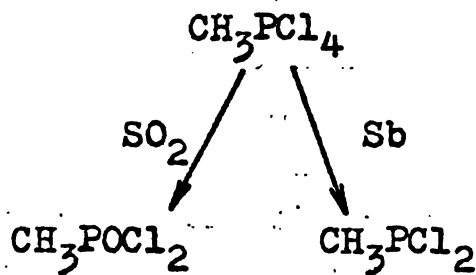
Dintre omologii fosfinați ai antibioticului natural, a fost sintetizat cu izotop P^{32} , un singur reprezentant - acidul cis-1,2-epoxipropil,-metilfosfinic - care în studiile anterioare în vitro s-a dovedit a fi cel mai apropiat de Fosfomicină, sub aspectul spectrului antimicrobian.

Pentru sinteza produsului, a fost adaptată în principiu, metoda propusă de Reesor și Perry [108], aplicată la sinteza metilfluorfosfonatului de izopropil, radioactiv.

Modificarea adusă metodei, constă în aceea, că după obținerea complexului $CH_3PCl_3^+AlCl_4^-$ și decomplexarea acestuia cu dietilftalat, în mod similar cu cel descris la cap. 2.3.2.1.

^{x)} Preparatul radioactiv utilizat, a fost obținut de la firma Amersham, Buckinghamshire, Anglia.

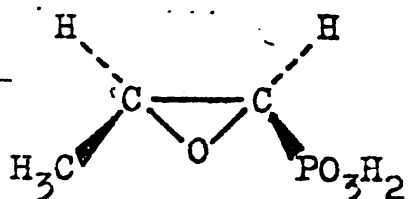
(compusul 70), tetrahalogenfosforanul este redus cu stibiu metalic la metildiclorfosfină, spre deosebire de autorii citați, care realizând această reducere cu bioxid de sulf, obțin metilfosfonildiclorura (marcată radioactiv) :



In continuare, sinteza compusului a fost realizată în mod similar cu cea a compusului (69 a). Ca și în cazul precedent, produsul a fost izolat sub formă de sare de sodiu, avînd o activitate specifică inițială, de 0,8 mCi/g.

3. STEREOCHIMIA ACIDULUI EPOXIPROPILFOSFONIC (1)

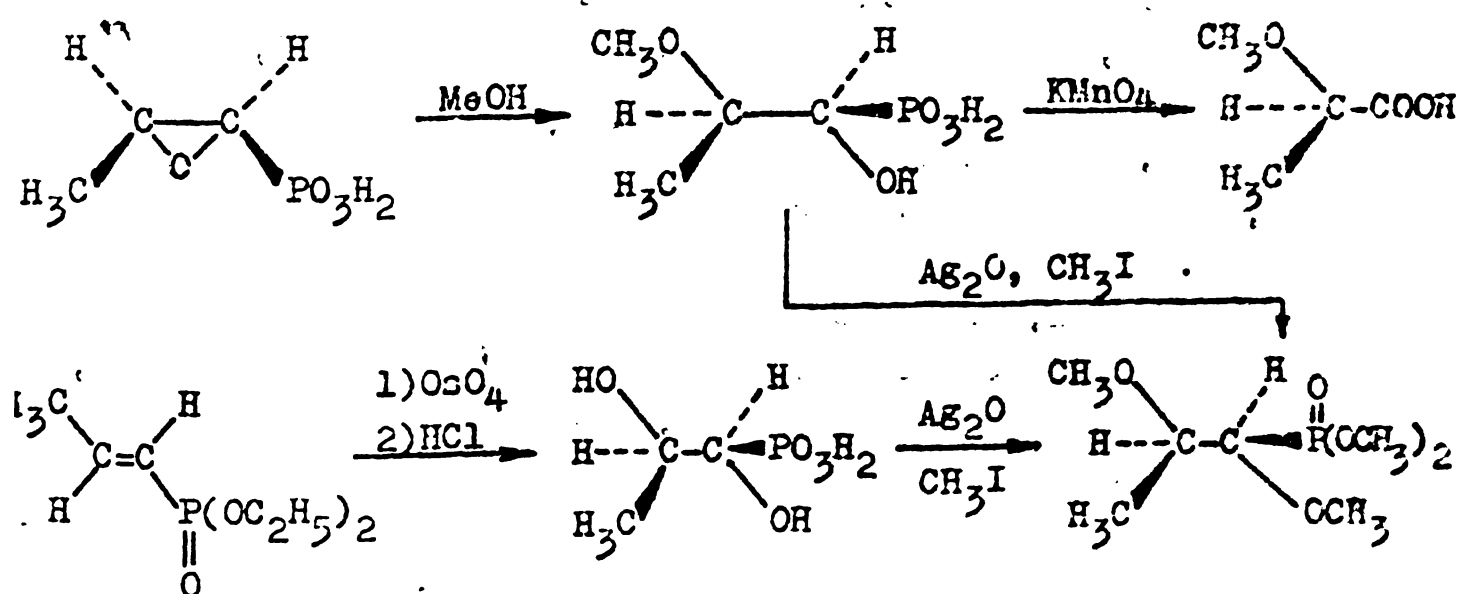
Configurația absolută a acidului cis-1,2-epoxipropilfosfonic natural a fost determinată de Chrisitensen și Girotra [10, 109] ca fiind acidul (-)-(1 R, 2 S)-1,2-epoxipropilfosfonic:



Astfel, prin metanoliza acidului liber, timp de 18 ore la 40°C, se obține acidul threo-1-hidroxi-2-metoxipropilfosfonic, care oxidat apoi sub formă de sare de sodiu, în soluție apoasă, neutră, cu KMnO_4 , conduce la acidul D-2-metoxipropionic.

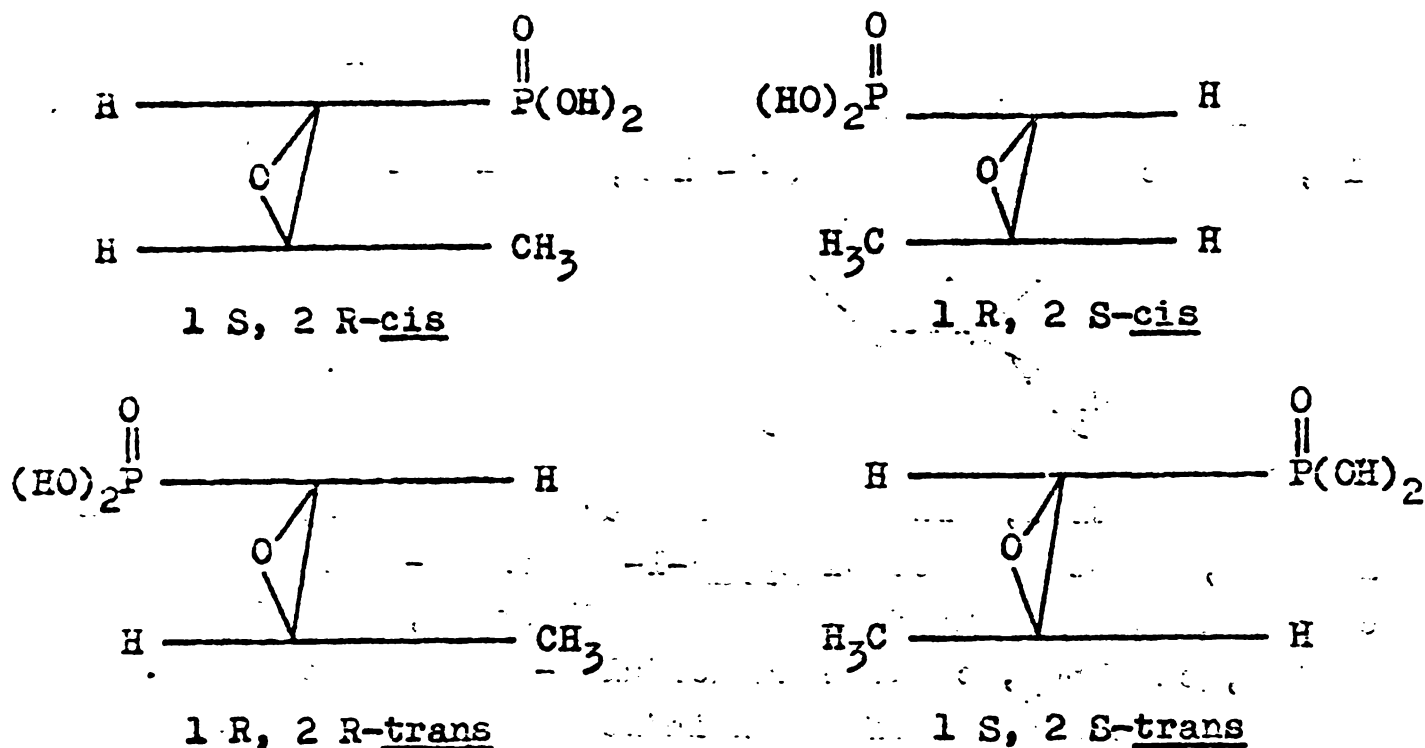
Aceste transformări indică faptul că atomul de carbon β al Fosfomicinei se aseamănă configurațional cu atomul de carbon corespunzător al acidului L-lactic (la deschiderea ciclului prin metanoliză, inversia are loc la atomul de carbon din poziția β).

Natura inversiei a fost demonstrată prin metilarea completă a acidului (1) cu iodură de metil și oxid de argint, obținându-se threo-1,2-dimetoxipropilfosfonatul, identic cu o probă preparată prin hidroxilarea cu tetroxid de osmiu, hidroliza și metilarea dietil-trans-1-propenilfosfonatului :



Acidul (1) obținut prin sinteză, reprezintă deci amestecul a 4 izomeri optic activi, reprezentați schematic

prin urmatoarele structuri :

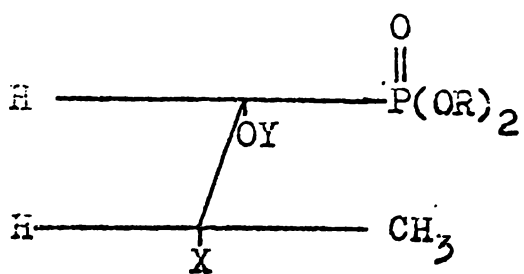


Din cei 4 izomeri, forma 1 R, 2 S-cis prezintă activitatea antibiotică maximă, astfel că obținerea unui produs cu eficiență terapeutică impune fie scindarea racematului cis, în cazul folosirii metodelor bazate pe epoxidarea derivaților cis-1,2-apoxi-propilfosfonici, fie realizarea unei sinteze stereospecifice în cazul aplicării metodelor de eliminare-1,2, din derivații corespunzători ai acidului n-propilfosfonic 1,2 substituit.

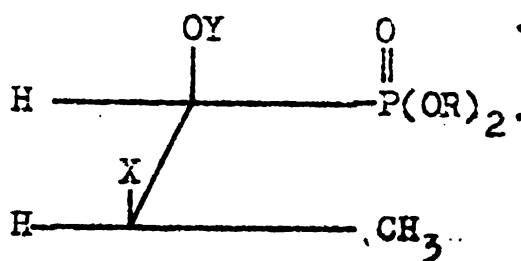
În cazul aplicării metodelor de eliminare, în funcție de atomul de carbon de care este legat radicalul conținând atomul de oxigen, se pot distinge două serii de compuși, fiecare serie fiind alcătuită din câte două perechi de diastereoizomeri enantiomeri, care în urma eliminării și prin inversia configurației, generează un număr corespunzător de diastereoizomeri epoxidici.

Astfel, notînd cu X și respectiv OY cei doi radicali legați de atomii de carbon 1,2 ai derivatului propilfosfonic, din care se elimină o moleculă XY, prin formulele structurale simplificate, unde cei doi atomi de carbon se găsesc în planul de proiecție, iar atomii de hidrogen și substituenții X respectiv OY, deasupra sau dedesubtul acestui plan, cele două serii de diastereoizomeri pot fi reprezentate astfel :

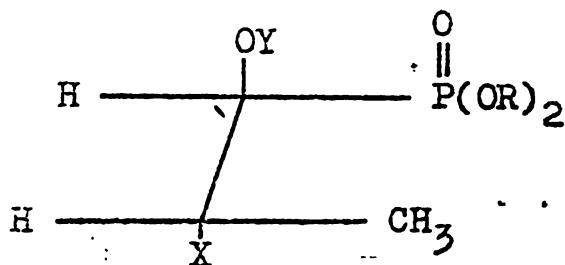
Seria A - radicalul OY legat de atomul de carbon 1.



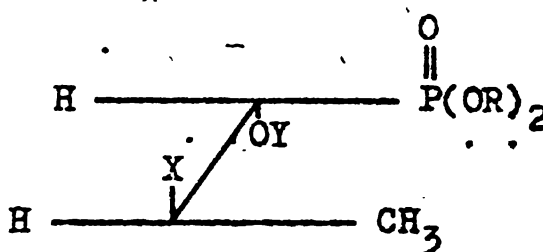
1 R, 2 S-eritro



1 S, 2 R-eritro

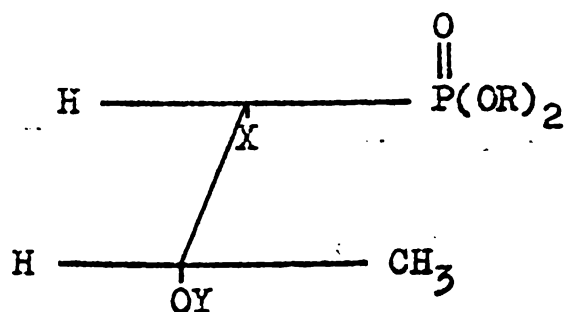


1 S, 2 S-threo

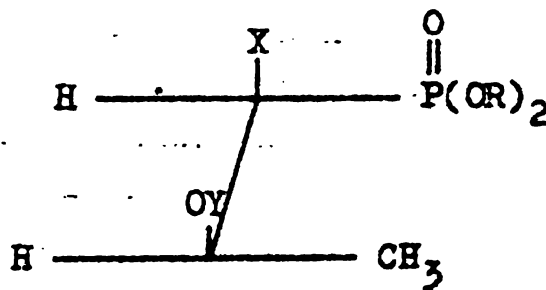


1 R, 2 R-threo

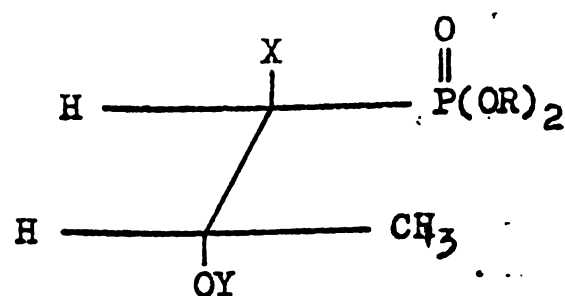
Seria B - radicalul OY legat de atomul de carbon 2.



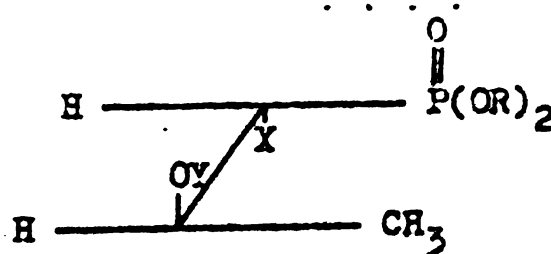
1 R, 2 S-eritro



1 S, 2 R-eritro



1 S, 2 S-threo



1 R, 2 R-threo

4. METODE DE ANALIZA A COMPUSILOR SINTETIZATI

4.1. Analize elementare

Analiza elementară a tuturor compușilor sintetizați (materii prime, compuși intermediari și produse finite), a fost efectuată folosind un aparat de analiză elementală automată tip Carlo-Erba Model 1102, determinând direct elementele C, H, N și O, iar prin diferență P, cu o eroare medie, specifică aparatului, de $\pm 0,3\%$.

4.2. Spectre I.R.

Spectrele de absorbție în I.R. au fost determinate cu ajutorul unui spectrofotometru automat Carl Zeiss-Jena, tip U R-20, folosind tehnici obișnuite.

În anumite cazuri, în special la studiul izomerizării acetilen-alenice și a izomerizării prototropice inverse, produsele de reacție nu au fost izolate, studiul spectroscopic efectuându-se fie în solventul mediu de reacție, fie prin reluarea reziduului după evaporarea solventului inițial, în tetraclorură de carbon.

Produsele finite sub formă de săruri au fost analizate sub formă de pastile în KBr, sau în cazul unor săruri cuaternare de amoniu, deosebit de higroscopice, în emulsie cu Nujol.

4.2.1. Materii prime și intermediare

4.2.1.2. Propargilfosfiții micști.

Analiza spectrală în I.R. a tuturor fosfiților micști, conținând cel puțin un radical propargilic, implică anumite dificultăți sub aspectul atribuirii benzilor de absorbție caracteristice, datorită tendinței lor accentuate de izomerizare în propadienilfosfonații corespunzători.

În tabelul nr.2 sînt menționați principalii parametri spectrali ai unor propargilfosfiți sintetizați, iar în fig. 3 este reprodus spectrul de absorbție în I.R. a propargildi clorfosfitului (14), care manifestă o tendință mai puțin accentuată spre izomerizare spontană.

Principali parametri spectrali în I.R. ai unor propargilfosfite sintetizate

R	ν (cm ⁻¹)		
	-C≡C-	≡CH	P-O-C
OC ₂ H ₅	2124	3305	1030
OC ₃ H ₇	2130	3300	1020
O _i C ₃ H ₇	2138	3312	1030
OC ₄ H ₉	2120	3315	1032
O _t C ₄ H ₉	2140	3320	980-1050
H ₂ C=CCH ₂ O	2122	3308	1020
Cl	2147	3320	-
N(CH ₃) ₂	2112	3280	-

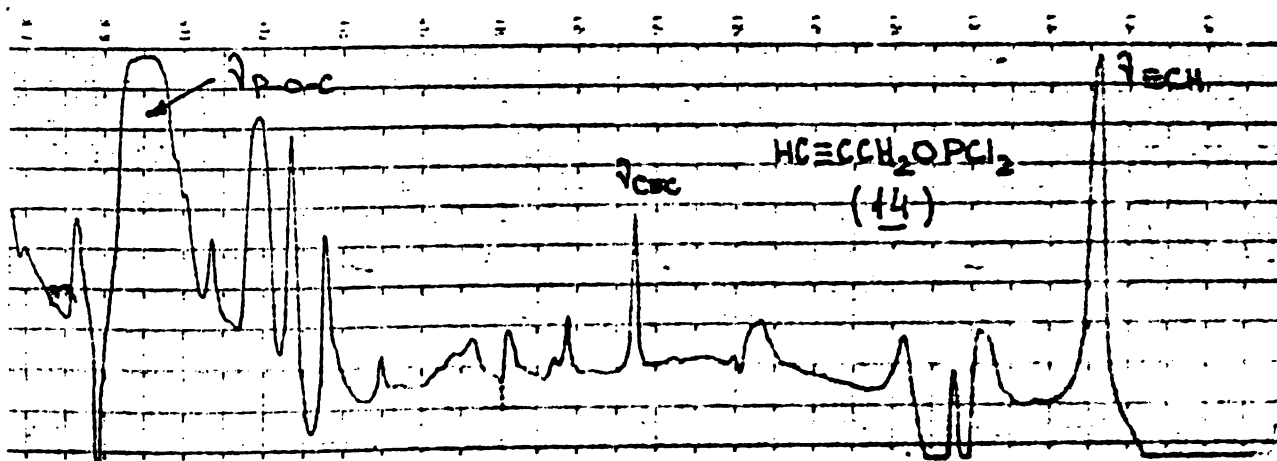


Fig. 3 - Spectrul I.R. al propargildiclorofosfitului (14) (sol. 5% CHCl₃; l = 0,252 mm).

4.2.1.3. Propadienilfosfonații

Spectrele I.R. ale propadienilfosfonațiilor sînt mult mai complexe decît cele ale propargilfosfiților, pe de o parte datorită apariției lanțului alenic, pe de altă parte, prezenței

apropo toate cazurile, atât a unor benzi caracteristice grupului propargilic al fosfiților inițiali, cât și a celor aparținând metil-acetilenfosfonaților rezultați din izomerizarea prototropică inversă.

Principalii parametri spectrali ai unor propadienilfosfonați sintetizați și studiați sînt menționați în tabelul nr.3, iar în figurile 4, 5 și 6 sînt reproduse spectrele I.R. caracteristice pentru compușii (13), (18) și (19), alenilfosfonați rezultați din izomerizarea unor fosfiți inițiali cu structuri neobșbite.

T a b e l u l nr.3

Principalii parametri spectrali în I.R. ai unor propadienilfosfonați sintetizați



R	$\nu(\text{cm}^{-1})$					
	C=C=C	P=O	P-O-C	=CH ₂	H-CH=C	CH ₃ -C≡
OC ₂ H ₅	1950;1980	1260	980;1020	850	3060	2180
OC ₃ H ₇	1960;1990	1250	1000;1180	860	3060	2160
O _i C ₃ H ₇	1950;1970	1260	980;1120	850	3030	2160
OC ₄ H ₉	1960;1980	1250	990;1060	850	3020	2180
O _t C ₄ H ₉	1955;1980	1270	980;1050	850	3050	2140
H ₂ C=CH ₂ O	1950;1980	1260	1030	840	3060	2200
Cl	1928;1960	1285	-	850	3050	2150
N(CH ₃) ₂	1950-1980	1230	-	840	3020	2220

Discuții - Interpretare

În spectrele tuturor alenfosfonaților cu o grupă alenică terminală, se observă o puternică absorbție în domeniul 1900-2000 cm^{-1} , datorită vibrației de deformare asimetrică a sistemului C=C=C.

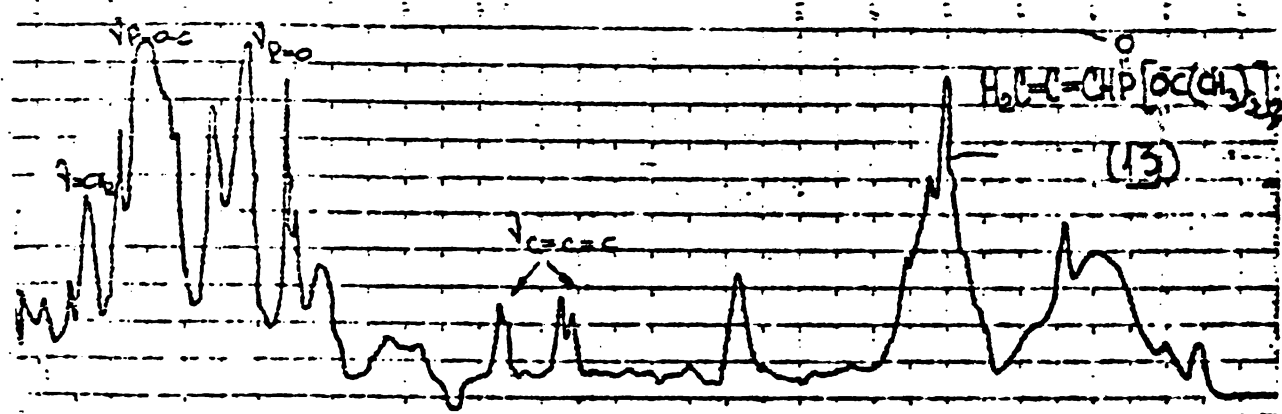


Fig. 4 - Spectrul I.R. al propadienilfosforatului de di(tert-butil) (13). Sol. 5% CCl₄; l = 0,108 mm.

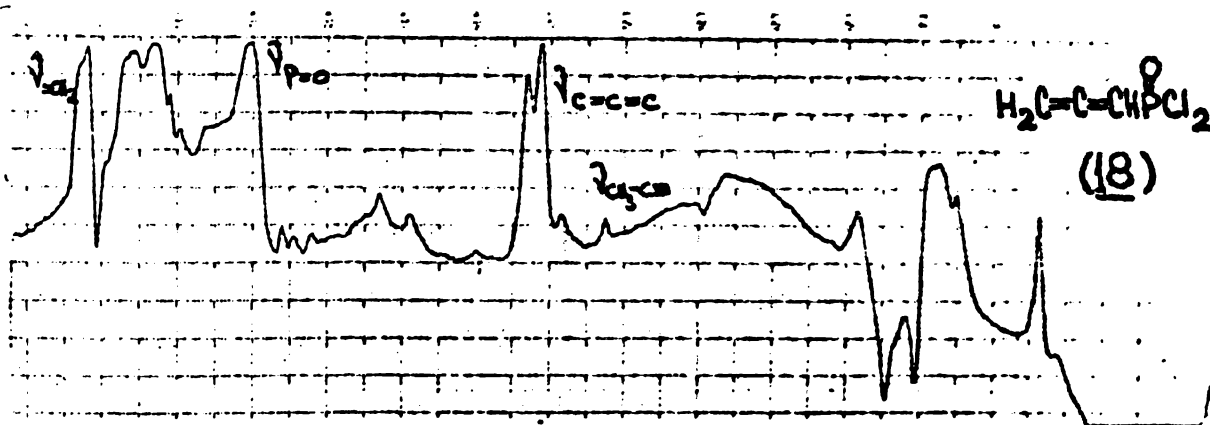


Fig. 5 - Spectrul I.R. al propadienilfosfonildiclorurii (18) (sol. 5% CCl₄; l = 0,108 mm).

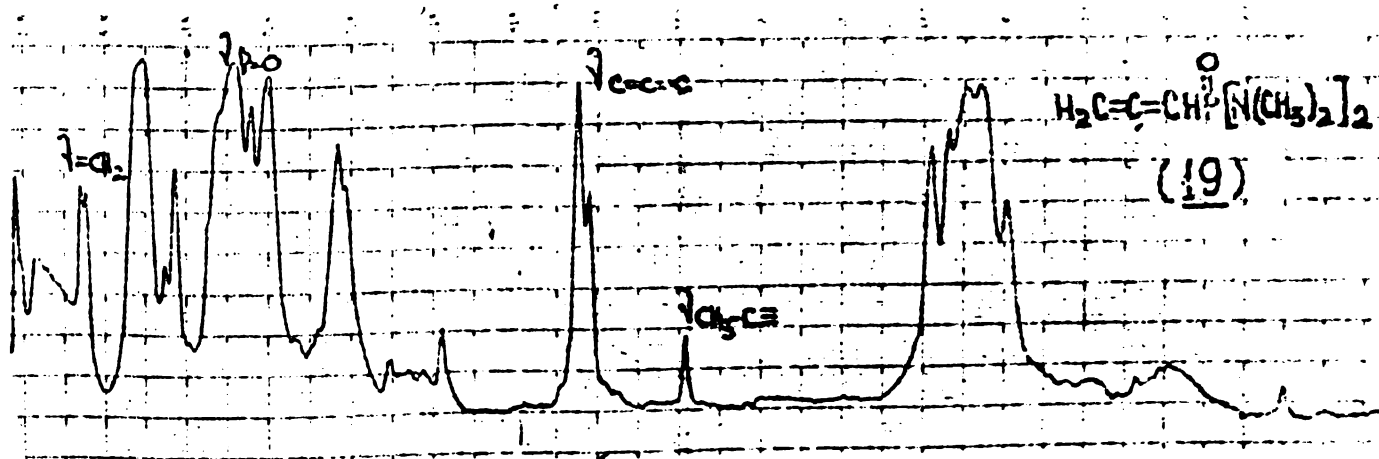


Fig. 6 - Spectrul I.R. al bis-(dimetilamido)-propadienilfosfonatului (19). Sol. 5% CCl₄; l = 0,108 mm.

Benzile de absorbție caracteristice în acest domeniu se prezintă de obicei sub forma unui dublet mai mult sau mai puțin accentuat, în funcție de caracterul electrofil al restului fosfonic [110]. Este interesant de remarcat faptul că o dedublare similară a frecvențelor de deformare asimetrică se întâlnește și în cazul alenelor substituie prin grupări carbonil, nitril, sau trifluormetil [111].

În cazul amidofosfonatului (19), datorită faptului că gruparea dimetilamino scade apreciabil caracterul electrofil al restului fosfonic, această dedublare este mai puțin evidentă, decât în cazul propadienilfosfonildiclorurii (18).

De asemenea, pentru alenfosfonați este caracteristică și banda corespunzătoare grupei terminale $=CH_2$, din regiunea 850 cm^{-1} , atribuirea precisă a acestei benzi însă este dificilă în cazul tuturor esterilor fosfonați, datorită absorbției intense în același domeniu a grupei fosfonil.

Este interesant de remarcat în cazul dicloranhidridei (18), prezența a două benzi în domeniul $3000-3085\text{ cm}^{-1}$, care pot fi atribuite vibrației de valență C-H a grupei alenice.

În cazul amidofosfonatului (19), aceste benzi sînt deplasate spre domeniul frecvențelor mai mici și probabil se suprapun cu vibrațiile de valență C-H ale grupelor metilice.

În spectrele dialchil-propadienilfosfonaților menționați în tabelul nr.3, se observă de asemenea, un număr mare de benzi intense la $1270, 1266, 1180, 1162\text{ cm}^{-1}$, precum și la frecvențe mai mici, care pot fi atribuite vibrațiilor de valență și vibrațiilor de deformare ale grupelor metilice și metilenice din lanțurile de alchil [112].

În ceea ce privește poziția benzilor corespunzătoare vibrației de valență P=O, frecvența acestora depinde de caracterul electrofil al substituenților legați direct de atomul de fosfor. Astfel, în cazul compusului (18) cu substituenți puternic electrofili ($R=Cl$), această bandă se găsește în domeniul $1280-1290\text{ cm}^{-1}$ și se deplasează în mod evident spre domeniul undelor mai lungi, în cazul esterilor.

În cazul dimetilamidofosfonatului (19), spectrul prezintă în domeniul $1200-1300\text{ cm}^{-1}$, mai multe benzi, aproximativ de aceeași intensitate, fiind astfel mai dificil a se atribui cu precizie o bandă caracteristică vibrației de valență P=O.

Conform însă principiilor enunțate mai sus, se poate presupune că banda caracteristică ν P=O în acest caz, se găsește în domeniul frecvențelor mai mici ($1210-1230 \text{ cm}^{-1}$).

Banda intensă de la 1300 cm^{-1} ar corespunde astfel mai probabil vibrației de deformare δ CH₃ din grupa dimetilamino.

Benzile de absorbție în domeniul $2150-2220 \text{ cm}^{-1}$, de intensitate mică, prezente în unele spectre, pot fi atribuite grupei CH₃-C≡ din urmele de metilacetilenfosfonați, rezultați din procesul lent de izomerizare prototropică inversă.

4.2.1.4. Acizi alchenfosfonici și derivați

Spectrele de absorbție în I.R. ale acizilor alchenfosfonici se caracterizează atât prin vibrațiile de valență C=C, de intensitate slabă și deplasate spre lungimi de undă mai mari în comparație cu alchenele simple, (în cazul compușilor sintetizați, între $1620-1640 \text{ cm}^{-1}$), cât și prin vibrația de valență =C-H. Această din urmă bandă, apare în domeniul obișnuit ($3000-3100 \text{ cm}^{-1}$) și permite o distincție între izomerii cis și trans.

De asemenea, în cazul acizilor liberi este caracteristică apariția unei benzi lățite în domeniul $2560-2700 \text{ cm}^{-1}$, caracteristică vibrației de valență P-OH. Frecvența vibrației de deformare la acești compuși este mai puțin caracteristică și mai greu de atribuit.

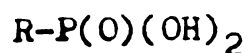
În cazul tuturor acizilor fosfonici, banda largă din regiunea $2560-2700 \text{ cm}^{-1}$, care persistă și în solvenții nepolari, reflectă implicarea unor puternice legături de hidrogen din grupele -P(O)(OH)₂.

În cazul esterilor și sărurilor acestor acizi, modificările spectrale ce apar, sînt în general ne semnificative asupra frecvențelor caracteristice radicalului alchenil, sau grupărilor P=O și P-OH.

În tabelul nr. 4, sînt reprezentate principalele benzi de absorbție în I.R., caracteristice compușilor alchenfosfonici sintetizați.

T a b e l u l nr.4

Principalii parametri spectrali în I.R. ai unor acizi
alchenfosfonici



R	ν (cm ⁻¹)			
	C=C	=C-H	P=O	P-OH
H ₂ C=CH-CH ₂ -	1640	3040	1260	2500-2700
CH ₃ -CH=CH-	1629	3080	1253	2560-2800
H ₂ C=CH-	1620	3058	1240	2600-2800
C ₆ H ₅ -CH=CH-	1580;1620	3060	1130	2500-2800
C ₆ H ₅ -CCl=CH-	1630	3060	1130	2550-2800
ClCH=CH-CH ₂ -	1638	3048	1150	2660-2800
CH ₂ =CCl-CH ₂ -	1620	3030	1120	2600-2800

4.2.1.5. Alchilfosfoniți și derivați

În cazul clorurilor acide ale acizilor alchilfosfoniți, spectrele I.R. ale compușilor, sînt relativ simple. Astfel, în afara frecvențelor caracteristice vibrațiilor de valență ale grupelor metilice și metilenice din catena de alchil legată de atomul de fosfor, singurele benzi utile pentru identificarea compușilor, rămîn cele corespunzătoare vibrației de valență a legăturii P-C (695 cm⁻¹), precum și o bandă puternică în domeniul 470-490 cm⁻¹ datorită vibrațiilor de valență asimetrică și simetrică a legăturilor P-C.

În cazul alchilesterilor inferiori (compușii 78, 79, 80 și 81), singurele benzi ce apar în plus, sînt cele din domeniul 900-1080 cm⁻¹, datorate vibrației de valență P-O-C din grupele esterice.

Spectre mai complexe prezintă esterii fosfoniți miciști, conținînd în grupele esterice atît un radical alchil inferior, cît și un radical propinil, care în soluție se izomerizează rapid în propadienilfosfinații corespunzători, astfel că în spectrele acestor intermediari (care de altfel nu au fost izolați ca atare), vor apare pe lîngă frecvențele caracteristice

legăturilor P-C; P=O; P-O-C și cele datorate vibrațiilor de valență ale grupelor C=C=C; =CH₂; -C≡C-; -C=C- și =CH.

În figura 7 este reprezentat spectrul I.R. al unui asemenea amestec în echilibru, obținut prin izomerizarea metil-propargilfosfonitului, după evaporarea solventului și reluarea rezidului în CCl₄.



Fig. 7 - Spectrul I.R. al metil-propargilfosfonitului în echilibru cu forma propadienilfosfinat. (Sol. 5% CCl₄; l = 0,108 mm).

4.2.2. Produse finite

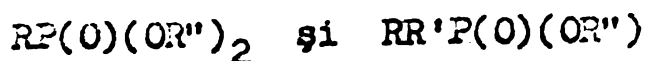
4.2.2.1. Acizi epoxifosfonici, fosfinici și derivați.

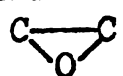
În cazul tuturor epoxifosfonaților și fosfinaților se găsesc două benzi caracteristice în regiunea 830-880 cm⁻¹, în concordanță cu frecvențele de absorbție indicate în literatură pentru inelul oxiranic [113, 114, 115]. Cea de a doua regiune indicată de aceleași surse (1230-1280 cm⁻¹), este însă mai puțin utilă în cazul tuturor compușilor organofosforici, datorită absorbției intense a grupei P=O în același domeniu de frecvențe [116].

În afară de o ușoară deplasare a benzilor caracteristice inelului oxiranic spre lungimi de undă mai mari în cazul fenil-1,2-epoxietilfosfonaților, la ceilalți compuși epoxifosfonați sau fosfinați, nu se observă deplasări semnificative ale frecvențelor P=O; P-O-C; P-C și P-OH față de regiunile de absorbție comune compușilor organofosforici.

În tabelul nr.5 sînt redată principalele caracteristici spectrale ale unor epoxifosfonați și fosfinați sintetizați, considerați mai reprezentativi.

Principali parametri spectrali în I.R. ai unor
epoxifosfonați și fosfinați sintetizați



R	R'	R''	ν (cm ⁻¹)				
				P=O	P-C	P-O-C	P-OR
$H_2C-O-CH-$	-	C ₂ H ₅	840;880	1250	1030	1162	-
$H_2C-O-CH-$	-	OH	848;877	1200	1030	-	2580-2700
$H_2C-O-CH-CH_2-$	-	C ₂ H ₅	840;868	1158	1020	1150	-
$H_2C-O-CH-CH_2-$	-	OH	850;860	1250	1020	-	2610-2680
$CH_3-CH-O-CH-$	-	C ₂ H ₅	830;860	1240	1030	1160	-
$CH_3-CH-O-CH-$	-	OH	848;870	1244	1034	-	2560-2660
$C_6H_5-CH-O-CH-$	-	C ₂ H ₅	810;820	1250	1440	1154	-
$C_6H_5-CH-O-CH-$	-	OH	838;870	1220	1436	-	2400-2700
$H_2C-O-CH-CH_2$	CH ₃	C ₂ H ₅	834;846	1246	1020 1280	1158	-
$H_2C-O-CH-CH_2-$	CH ₃	OH	848;876	1240	1020 1280	-	2560-2680
$H_2C-O-CH-CH_2-$	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	830;850	1260	1020	1160	-
$H_2C-O-CH-CH_2$	C ₂ H ₅	OH	848;872	1230	1020	-	2600-2720
$CH_3-CH-O-CH-$	CH ₃	C ₂ H ₅	830;862	1240	1020	1156	-
$CH_3-CH-O-CH-$	CH ₃	OH	842;870	1210	1020	-	2520-2680
$CH_3-CH-O-CH-$	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	834;860	1270	1030	1166	-
$CH_3-CH-O-CH-$	C ₂ H ₅	OH	848;876	1230	1020	-	2620-2700

Benzina de absorbție corespunzătoare acizilor liberi, prezentându-se sub o formă lătită și nesimetrică, fiind alungite spre lungimile de undă mai mici, ele au fost reprezentate în tabelul nr.5 prin valorile limite ale frecvențelor, centrarea

lor în jurul unei valori maxime nefiind în toate cazurile posibilă.

Deplasarea frecvențelor $\nu_{P=O}$ în cazul acizilor liberi, se datorește probabil legăturilor de hidrogen $P=O...HO-P$, relativ puternice.

Datele spectrale ale compușilor individuali, sintetizați, sînt menționate în partea experimentală a lucrării.

4.3. Spectre R.M.N.

Spectrele R.M.N. ale compușilor sintetizați au fost efectuate cu ajutorul unui aparat "Varian Associates" Model A-60 (60 MHz), iar în unele cazuri a fost folosit și un aparat TESLA tip BSC-487-C (80 MHz), intrat în dotarea unității mai tîrziu.

4.3.1. Materii prime și intermediare

4.3.1.1. Propadienilfosfonați.

Avînd în vedere tendința remarcabilă de izomerizare prototropică spontană a tuturor propargilfosfiților mici, în soluție, iar în unele cazuri și tendința de izomerizare prototropică inversă a alenfosfonaților (cu o viteză mai mică), în acetilenfosfonați, studierea individuală prin spectroscopie R.M.N. a tuturor acestor compuși, nu este posibilă decît cel mult într-un amestec de echilibru, conținînd toți produșii de izomerizare.

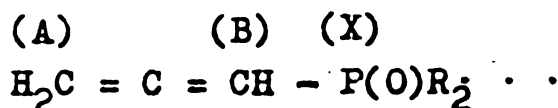
Spre deosebire însă de propargilfosfiții, propadienilfosfonații pot fi izolați în anumite cazuri în stare pură (compușii 13, 18, 19 etc.), sau cel mult, conținînd urme neglijabile de acetilenfosfonați, rezultați din izomerizarea prototropică inversă.

De altfel, odată cu stabilirea precisă a mecanismului de izomerizare acetilen-alenică [25], devine evidentă necesitatea reconsiderării unor date de literatură mai vechi [117, 118, 119], privind izolarea și caracterizarea unor propargilfosfiți, date, care în mod neîndoielnic sînt eronate.

În tabelul nr.6 sînt menționate deplasările chimice în unități δ (p.p.m.) și constantele de cuplare (Hz), caracteristice principalilor alenfosfonați sintetizați, iar în fig.8 și 9 sînt reproduse spectrele R.M.N. ale compușilor (18 și 19).

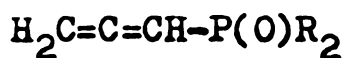
Spectrele au fost realizate în soluții de CCl₄, folosind ca standard intern, tetrametilsilanul (TMS).

Având în vedere faptul că la temperaturi normale legătura P-C prezintă posibilități de rotație liberă, iar din punct de vedere magnetic, cei doi protoni alenici sînt echivalenți, spectrele protonice ale propadienilfosfonaților pot fi privite ca reprezentînd partea A₂B a unui sistem de spini de tip A₂Bx :



T a b e l u l nr.6

Principalii parametri spectrali R.M.N. ai unor propadienilfosfonați sintetizați



Parametri spectrali	R				
	OCH ₃	OC ₂ H ₅	Cl	N(CH ₃) ₂	OCH ₂ C=CH
δ _A	5,12	5,30	5,62	5,00	5,12
δ _B	5,43	5,63	6,21	5,42	5,50
δ _B - δ _A	0,31	0,33	0,59	0,42	0,38
J _{AB}	6,0	6,8	6,0	6,0	6,76
J _{AX}	±13,6	±13,0	±19,0	±11,0	±11,5
J _{BX}	± 2,5	± 2,2	±16,0	± 1,4	± 2,8
δ _{CH₃}	3,5	1,30	-	2,58	-
δ _{CH₂O}	-	4,45	-	-	4,5
J _{HCOP}	12,0	8,2	-	-	9,6
J _{HNOP}	-	-	-	10,0	-

Datorită constantelor de cuplare spin-spin, relativ mici ale protonilor cu atomul de fosfor X, partea A₂B din sistemul A₂BX, se descompune în două subspectre de același tip A'₂B' și A''₂B'' cu frecvențele :

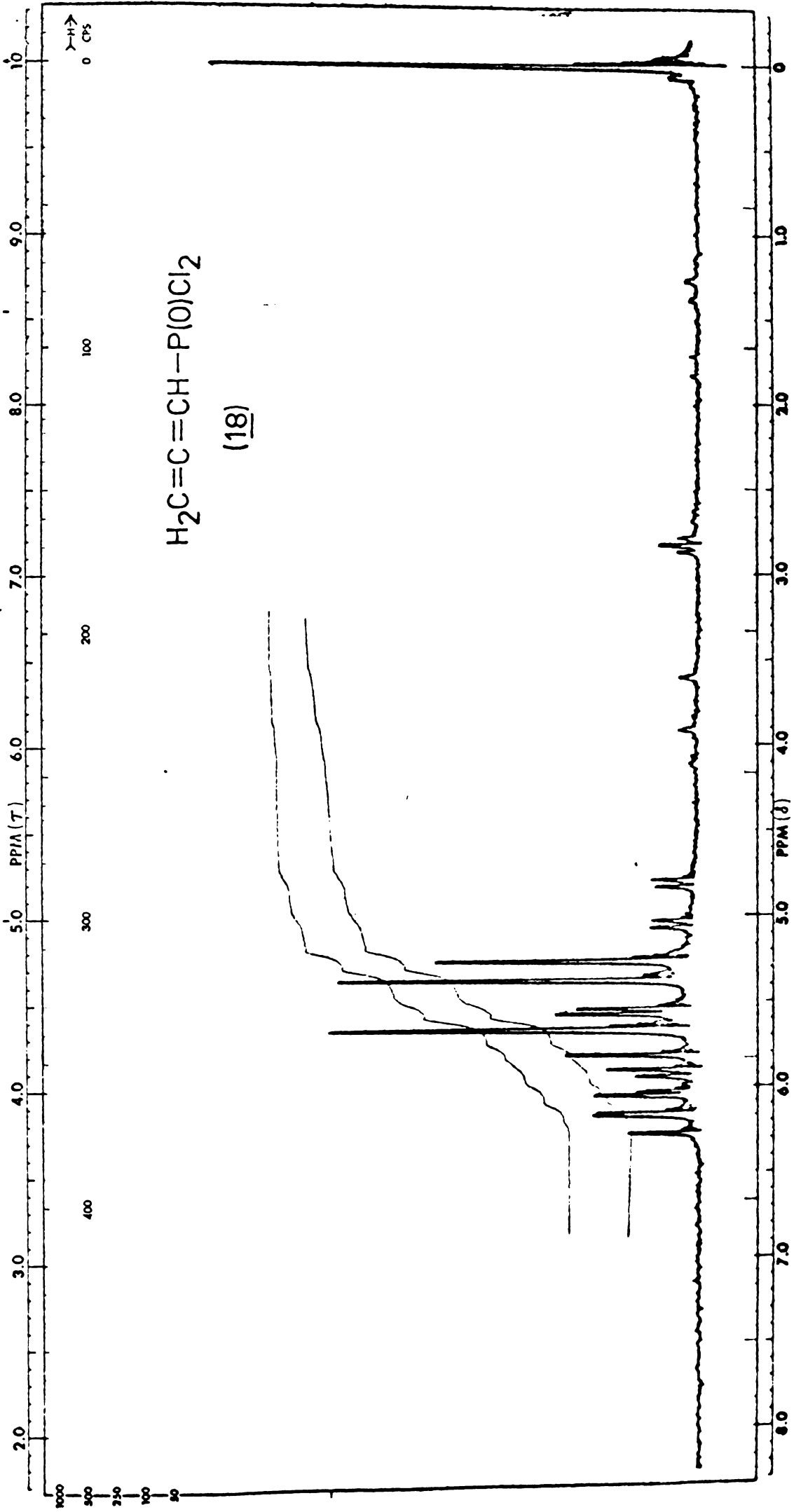


FIG. 6.- Spectral R.m.s. of 1,2-propadienylbis(dichlorophosphoryl)ethane (18) (sol. CCl_4 ; TMS intern)

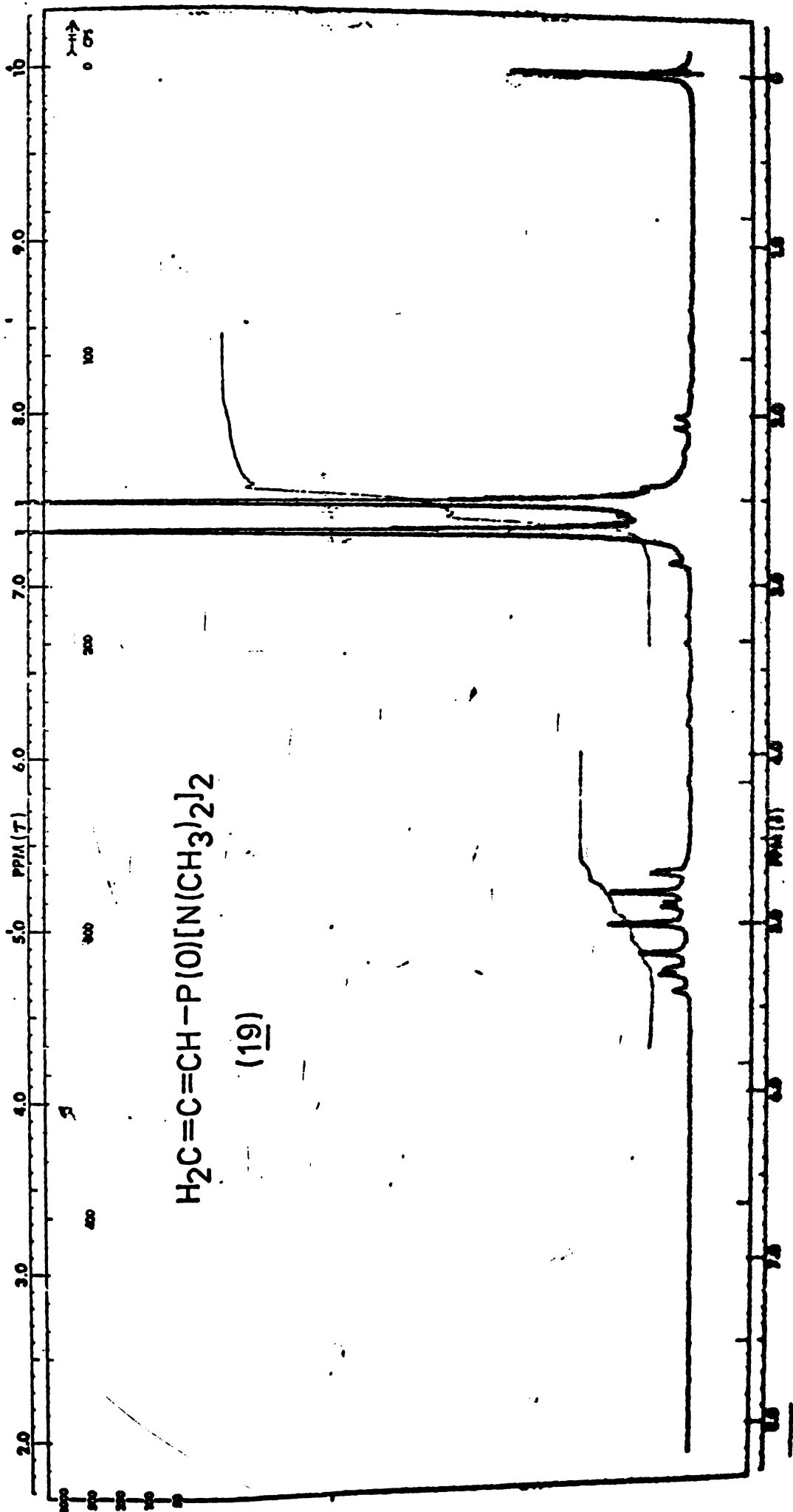


Fig. 9. - Spectrul R.L.H. al bis--(dimetilamido)-1,2-propadienilfosfonatului (19)
(sol. CCl_4 ; TMS intern)

2 msc

$$\nu'_A = \nu_A + 1/2 J_{AX}$$

$$\nu''_A = \nu_A - 1/2 J_{AX}$$

$$\nu'_B = \nu_B + 1/2 J_{BX}$$

$$\nu''_B = \nu_B - 1/2 J_{BX}$$

După semnele relative ale celor două constante de cuplaj J_{AX} și J_{BX} , liniile celor două subspectre A'_2B' și A''_2B'' s-ar putea aranja în modul reprezentat în figurile 10 a și 10 b.

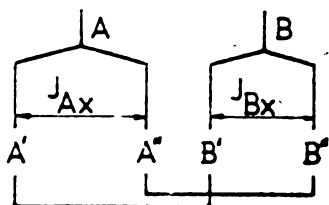


Fig. 10 a - J_{AX} și J_{BX}
de același semn

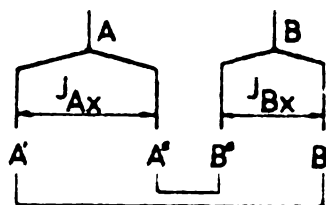
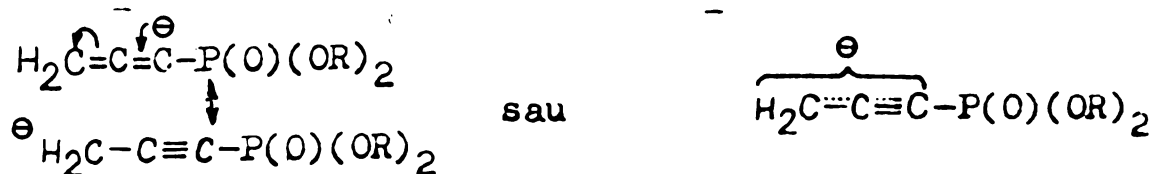


Fig. 10 b - J_{AX} și J_{BX}
de semn contrar.

4.3.1.2. Metil-acetilenfosfonați.

Izomerizarea prototropică inversă a 1,2-propadienilfosfonaților, ce are loc în mod spontan, cu o viteză relativ redusă, este catalizată și astfel accelerată în prezența bazelor.

Această izomerizare este explicabilă în prezența bazelor, prin extragerea protonului mai acid, geminal cu atomul de fosfor, rezultând un carbanion sp^2 , mezomeric cu un anion primar sp^3 . Extragerea unui proton din poziția alenică terminală, ar duce la formarea unui anion sp^2 , mezomeric cu un carbanion sp^3 secundar, deci mai puțin favorizat.



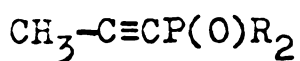
În cazul tuturor propadienilfosfonaților sintetizați (într-o măsură mai redusă în cazul compusului 19), atât spectrele I.R., cât și cele R.M.N., au pus în evidență prezența în cantități variabile (dar relativ reduse la produșii proaspăt sintetizați și analizați), prezența metilacetilenfosfonaților.

În tabelul nr.7 sînt sintetizați principalii parametri

spectrali R.M.N. ai unor metilacetilenfosfonați, prezenți ca impurități în amestecul de reacție după rearanjarea acetilen-ale- nica, iar în fig.11 este redat spectrul R.M.N. al sării disodice a acidului propinil-1-fosfonic (3), obținut prin tratarea cu soluții apoase alcaline a propadienilfosfonaților.

T a b e l u l nr.7

Principalii parametri spectrali R.M.N. ai unor propinil-1-fosfonați sintetizați



Parametri spectrali	R		
	OCH ₃	OC ₂ H ₅	ONa
δ_{CH_3}	2,05	1,65	1,90
δ_{POCH_3}	3,65	-	-
$J_{\text{P}(\text{OCH}_3)}$	11,00	-	-
$J_{\text{P}(\text{CH}_3\text{C})}$	4,80	4,72	3,5
δ_{CH_2-}	-	4,00	-
$\delta_{(\text{CH}_2)-\text{CH}_3}$	-	1,25	-
$J_{\text{CH}_3-\text{CH}_2}$	-	7,00	-
$J_{\text{CH}_2-\text{CH}_3}$	-	7,00	-
J_{POCH_2}	-	8,22	-
$J_{\text{PCH}_3(\text{C})}$	-	4,7;(7,4)	-

4.3.1.3. Alchil-propadienilfosfinați.

În principiu, spectrele R.M.N. ale alchil-1,2-propadienil fosfinaților nu diferă în mod esențial de cele ale propadienil- fosfonaților similari, cu excepția semnalelor noi care apar dato- rate radicalului alchil, legat direct de atomul de fosfor, in- fluențat (însă în mod diferit) de aceleiași vecinătăți din punct de vedere magnetic.

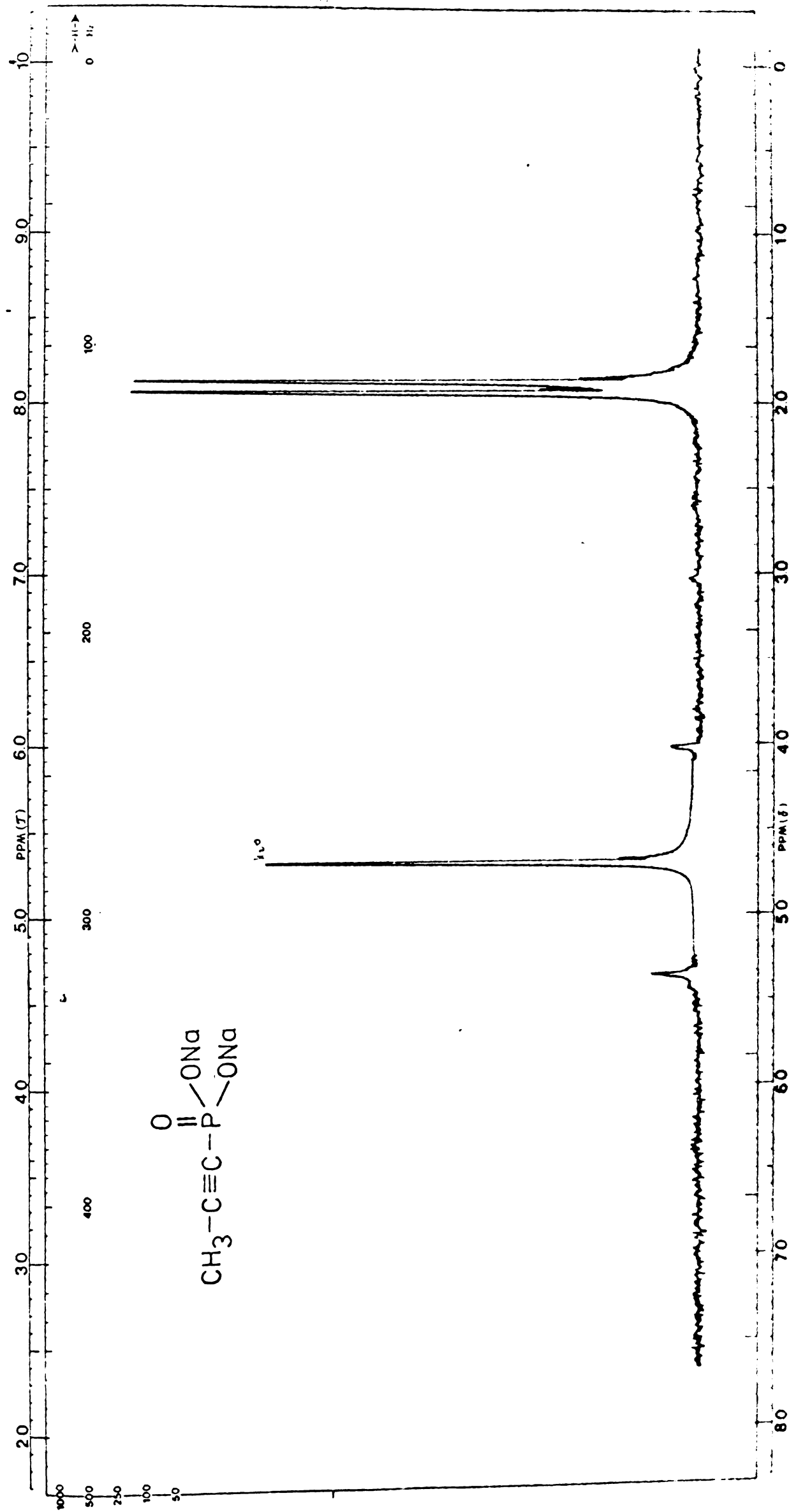


Fig. 11.- Spectral M.M. of acetylenephosphonate de sodiu
(sol. D₂O; T.S. INCH)

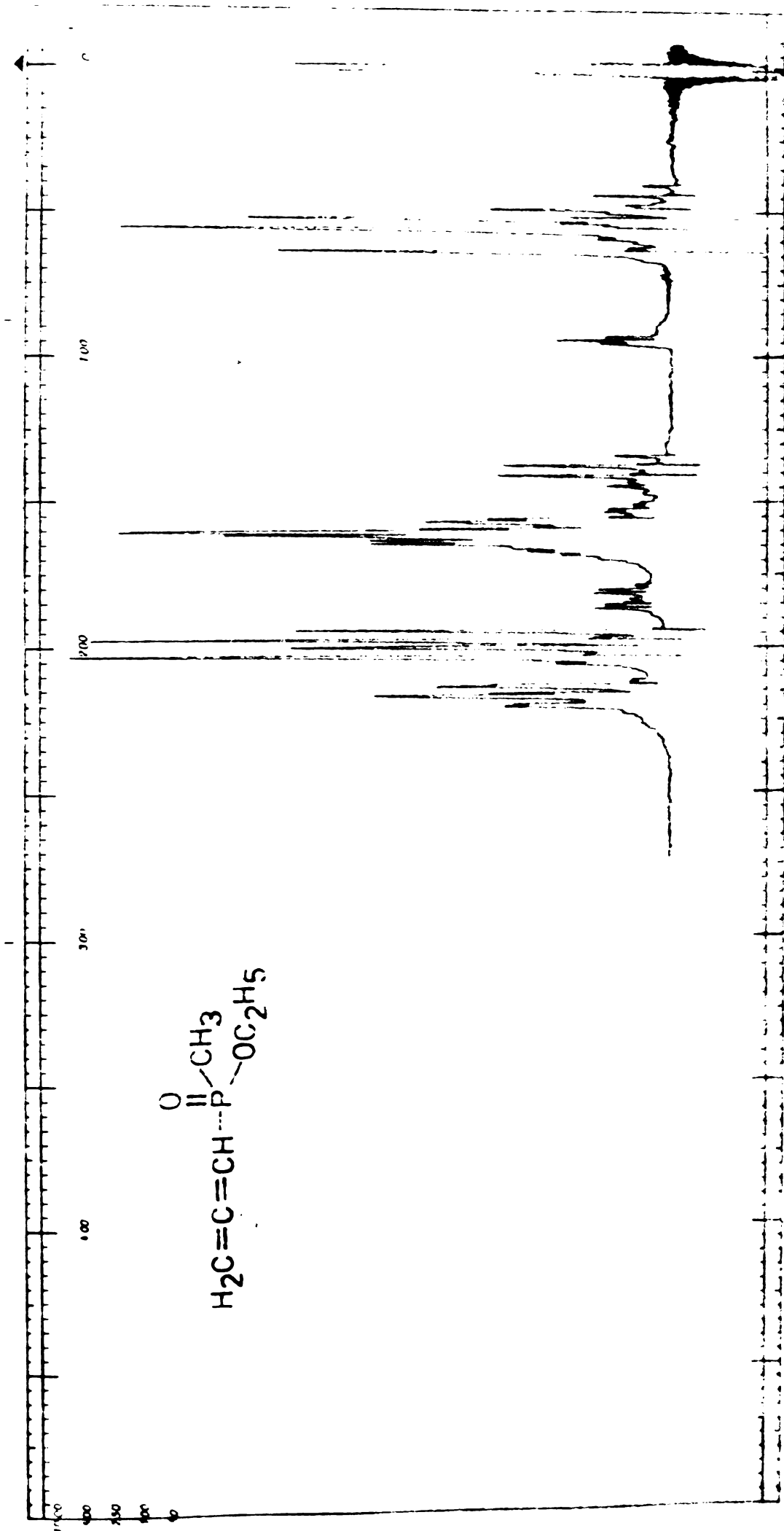


Fig. 12. - Spectrul R.M.N. al 1,2-propadieniletoksi-metilfosfinatului
(Sol. CCl₄) T.M.S. intern)

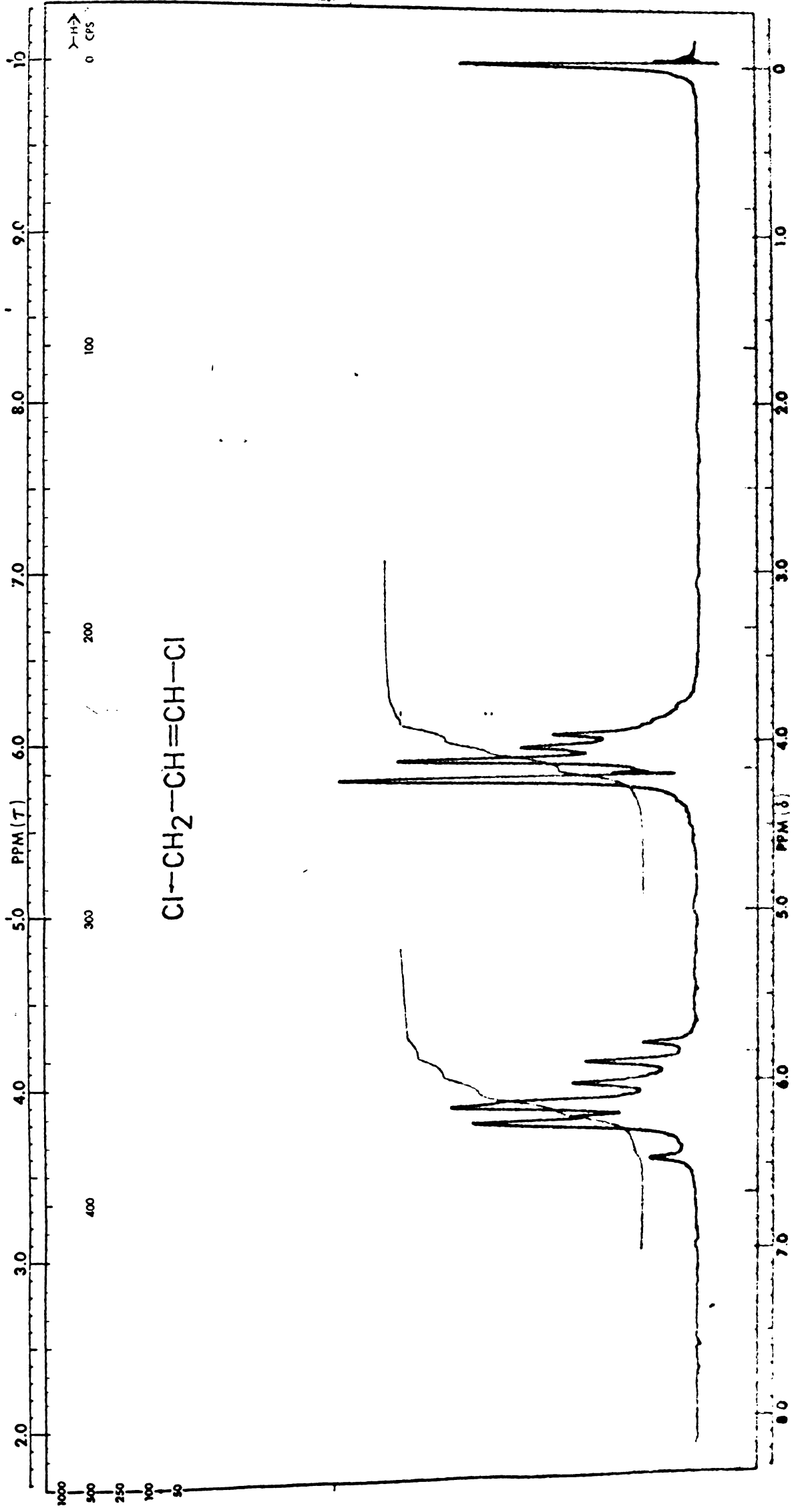


Fig. 13.- Spectrul R.M.N. al unui amestec de izomeri cis-trans 1,3-diclor-prop-1-ene
(Sol. CCl_4 ; T.M.S. Intern)

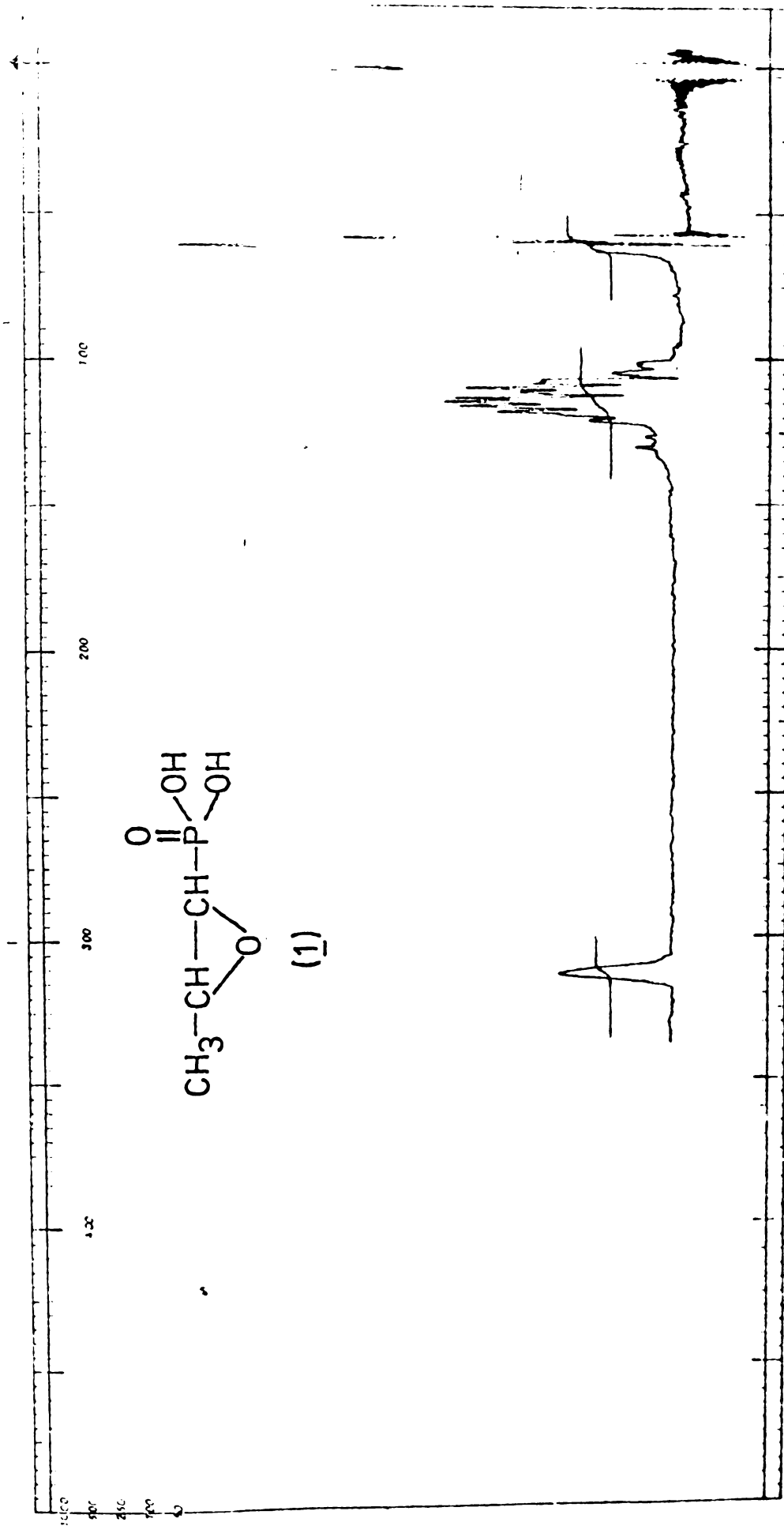
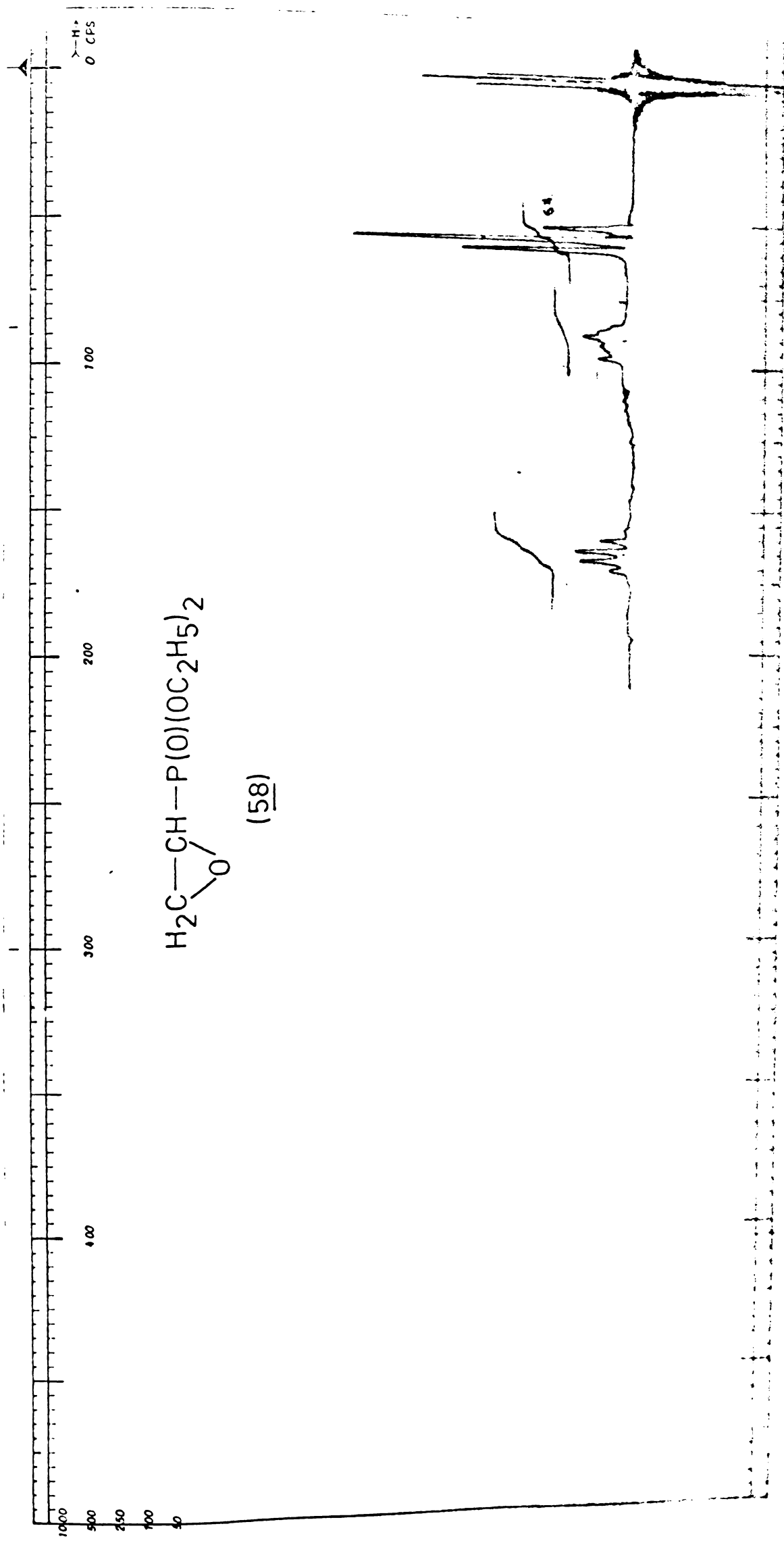
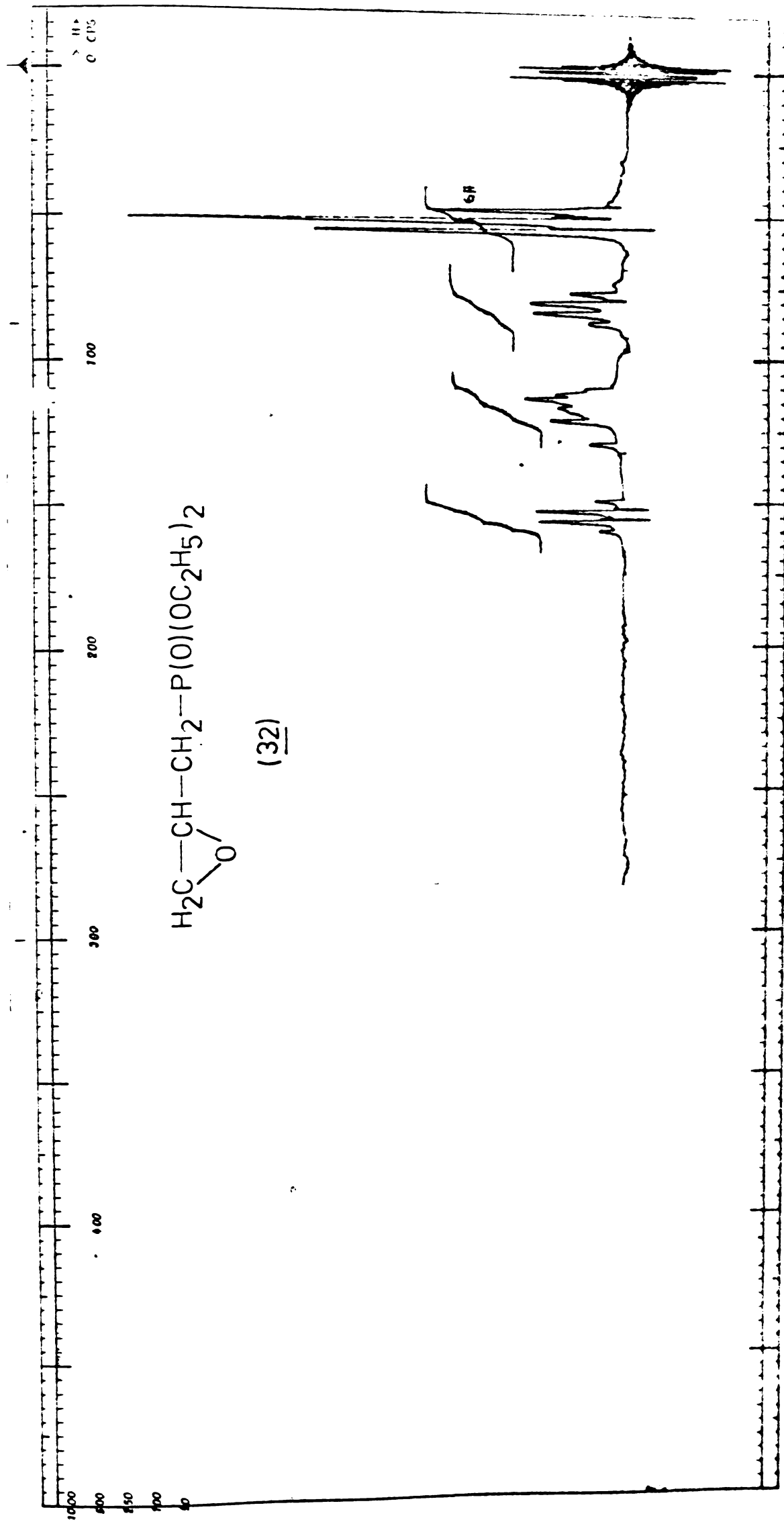


Fig. 14.- Spectrul R.M.N. al acidului *cis*-1,2-epoxipropil-fosfonic (I)
(Sol. CD₃COCD₃; T.M.S. intern)

BUPT





1. 12 - Spectrum of diethyl phosphonate (32) in CDCl₃, 100 MHz, 25°C.

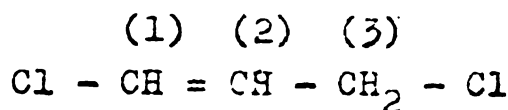
vol. 751, 24, P. 100, 1000.

Pentru exemplificare, în fig.12 este reprodus spectrul R.M.N. al 1,2-propadienil-etoxi-metilfosfinatului (69 a), în amestec de echilibru cu propinil-1-fosfinatul izomer.

4.3.1.4. 1,3-diclorpropene.

Dintre materiile prime utilizate în sintezele efectuate, un interes mai deosebit a prezentat studiul clorurii de γ -cloralil (1,3-diclorprop-1-enă), izolat din amestecul brut de diclorpropene (capitolul 2.2.1.4, pag. 34).

În acest caz, prin studiul R.M.N. s-a urmărit și determinarea compoziției izomerice procentuale cis-trans, a fracțiilor de diclorpropene izolate.



Toate spectrele acestor fracțiuni (fig. 13), indică prezența unui amestec de izomeri cis-trans în diferite proporții. Astfel, la $\delta = 3,98$ p.p.m. și respectiv 4,16 p.p.m. apar dubletele coprespunzătoare grupei CH_2 din cei doi izomeri, cuplate de protonul atomului de carbon C_2 vecin (cuplaj vicinal), cât și cu protonul atomului de carbon C_1 (cuplaj alilic), cu constantele de cuplare :

$$J_{2,3} = 11 \text{ Hz} \quad \text{și respectiv} \quad J_{1,3} = 7 \text{ Hz}$$

Între $\delta = 5,78$ și 6,48 p.p.m. (centrat la $\delta = 6,12$ p.p.m.) apar semnalele protonilor 1 și 2 legați de atomii de carbon participanți la dubla legătură, cuplați între ei cu $J_{1,2} = 14$ Hz.

Raportul celor doi izomeri din amestec, s-a calculat pe baza grupului de semnale dat de protonii metilenici.

4.3.1.5. Alți compuși utilizați ca materii prime.

Spectrele R.M.N. ale celorlalți compuși sintetizați și studiați ca materii prime, în general nu prezintă particularități deosebite, pentru a constitui obiectul unei discuții pe clase de compuși (acizii alchenfosfonici și fosfinici, derivații acizilor alchil și arilfosfonici, diverși derivați halogenați etc.).

Principalii parametri spectrali R.M.N. ai tuturor acestor compuși, sînt menționați individual în partea experimentală a prezentei lucrări.

4.3.2. Produse finite

4.3.2.1. Epoxifosfonați.

Spectrele R.M.N. ale epoxifosfonaților diferă între ele, atât prin deplasările chimice caracteristice protonilor din inelul oxiranic, cât și prin influența pe care o exercită asupra acestor protoni, nucleul de fosfor, în mod direct (cazul 1,2-epoxipropil și 1,2-epoxietilfosfonaților), sau prin cuplaje relativ îndepărtate (cazul 2,3-epoxipropilfosfonaților).

Astfel, în spectrul compusului (1), reprezentat în Fig. 14, pe lângă semnalul caracteristic protonilor metilici $\delta_{\text{CH}_3} = 1,48$ p.p.m., scindat într-un dublet, de protonul oxiranic vicinal ($J = 5,4$ Hz), se remarcă prezența unui semnal sub forma de multiplet, aparținând celor doi protoni metinici, la $\delta = 2,84$ p.p.m., cu constante de cuplare de $J = 18,5$ Hz și respectiv $5,1$ Hz.

Constanta de cuplare de valoare foarte mică a protonilor metilici, confirmă faptul că acest grup este legat de un ciclu mic (ciclu oxiranic), atestat de altfel și de deplasările chimice ale protonilor metinici.

Cel de al doilea cuplaj ($J = 18,5$ Hz), la $\delta = 2,84$ p.p.m., precum și cuplajul îndepărtat ($J = 0,7$ Hz) observate pentru dubletul metinic, sînt datorate efectului exercitat de nucleul de fosfor, iar cuplajul $J_{\text{HH}} = 5,1$ Hz între protonii epoxidici indică o configurație cis.

Este interesant de remarcat faptul, că în cazul epoxifosfonaților studiați, constantele de cuplare J_{cis} sînt mai mari decît cele J_{trans} , ceea ce contravine regulilor stabilite teoretic de Karplus [120] pentru olefine. Această particularitate reflectă probabil un tip de legătură diferit în cazul epoxizilor și ar corespunde mai bine cu un model de legătură de tip alcanic [121, 122].

În cazul dimetilesterului acidului (1), cu excepția multipletului între $\delta = 1,5 - 3,5$ p.p.m. datorat celor 6 protoni metilenici, spectrul nu prezintă particularități deosebite, față de cele arătate mai sus.

La 2,3-epoxipropilfosfonați (ex. compusul 32), protonii inelului oxiranic se manifestă sub forma unui multiplet larg între $\delta = 2,40 - 3,30$ p.p.m.

Datorită faptului că în aceste molecule grupa metilenică ocupă o poziție intermediară între inelul oxiranic și nucleul de fosfor, deplasările chimice indicate în tabelele R.M.N. pentru rezonanța protonilor metilenici vicinali cu un inel epoxidic, nu se mai respectă. Astfel, în spectrul compusului (32) lipsește semnalul intens sub formă de singlet, la $\delta = 2,22$ p.p.m., în schimb apar semnale sub formă de dublet la $\delta = 1,7$ și respectiv $2,3$ p.p.m., cu o constantă de cuplare $J_{PH} = 11$ Hz.

În cazul epoxietilfosfonaților (compusul 58) spectrele R.M.N. sînt mai simple de interpretat, cu excepția multipletului complex, centrat la $\delta = 2,82$ p.p.m. Acest semnal, împreună cu cuartetul de la $\delta = 3,32$ p.p.m., pot fi atribuite protonilor oxiraniici.

De altfel, și valorile constantelor de cuplare J_{HH} ($3,2$ și respectiv $4,7$ Hz) corespund ca mărime cu cele indicate pentru cuplajele vicinale cis și trans, indicate în literatură [121] în cazul oxiranilor substituiți.

4.3.2.2. Epoxifosfinați.

Ca și în cazul precedent, (2,3-epoxifosfonați), nici în spectrele protonice ale 2,3-epoxifosfinaților nu se regăsește semnalul de rezonanță indicat în literatură la $\delta = 2,22$ p.p.m. Semnalele protonilor oxiraniici apar ca o bandă largă, centrată la $\delta = 2,60$ p.p.m.

Semnalele sub formă de dublet de la $1,75$ și respectiv $2,19$ p.p.m., corespund protonilor metilenici, cu o constantă de interacțiune spin-spin cu nucleul de fosfor de $J_{PH} = 12$ Hz.

Dubletul de la $\delta = 1,23$ p.p.m., caracterizează rezonanța protonilor celor două grupe metil, interacționînd cu protonul CH din grupa metiliden, cu $J_{CH_3-CH} = 3,5$ Hz.

Semnalul relativ difuz de la $\delta = 5$ p.p.m., corespunde protonului OCH (compusul 77). Acest semnal este deplasat spre valori mai mici ale cîmpului, probabil datorită influenței electronegative exercitate de atomul de oxigen.

4.4. Analize gaz-cromatografice

Metodele de analiză gaz-cromatografice au fost aplicate în special în cazul materiilor prime și intermediare, iar pentru urmărirea procesului de prelucrare a amestecului de diclorpropene (capitolul 2.2.1.4) și obținerea fosfiților micști în soluție,

s-a folosit în exclusivitate metoda de analiză gaz-cromatografică. Analizele au fost efectuate la un aparat "VARIAN-AEROGRAPHE" model 1860, folosind după caz, detectori de ionizare în flacără (FID), sau de conductibilitate termică (TCD).

4.4.1. Materii prime și intermediare

Intrucât condițiile de analiză utilizate pentru diferitele tipuri de materii prime și intermediare folosite, sînt mult prea complexe pentru a putea fi sistematizate în mod corespunzător, fără o extindere ce ar depăși limitele acestui capitol, în cele ce urmează, vor fi prezentate numai considerațiile de ordin practic, referitoare la prelucrarea fracțiunilor de diclorpropene. Pentru celelalte produse utilizate ca materii prime și intermediare, sintetizate în laborator, condițiile de analiză și rezultatele obținute sînt menționate la descrierea sintezei compuşilor individuali, în partea experimentală.

4.4.1.1. 1,3-diclorpropene

În procesul tehnologic de fabricare a glicerinei via clorură de alil [123], diclorpropenele apar practic în toate fracțiunile, dar cu preponderență în fracțiunea "cloruri grele" (Nematocide).

În tabelele nr.8 și 9 sînt menționate compozițiile procentuale ale diferitelor fracțiuni intermediare, determinate gaz-cromatografic.

Condiții de lucru :

- detector : F.I.D..
- coloană : țevă de cupru; $L = 4 \text{ m}$; $d_1 = 3,5 \text{ mm}$
Celit C-22 60/80 mesh, impregnat cu Carbovax 20 M (10%).
- regim de temperatură : $T \text{ coloană} = 110^\circ\text{C}$; $t \text{ inj.} = 150^\circ\text{C}$.
- debit purtător (N_2) : 30 ml/minut.
- debit H_2 : 30 ml/minut.
- debit aer : 300 ml/minut.
- viteza hîrtiei : 24 inch/oră; (61 cm/oră).
- cantitate probă : 0,35 μl .
- factor de corecție : $f = 0,74$.

Tablelul nr.8

Compoziția procentuală a principalelor fracțiuni
brute de la fabricarea clorurii de alil

Componente	Continutul procentual (% g)		
	Clorură de alil brută (tip S)	Purjă dielorpropan (tip Q)	Diclorpropan Spălare (tip D)
Propenă	0,02	0,005	0,01
2-clorpropan	1,2 - 1,6	0,4 - 0,6	0,1 - 0,2
2-clorpropenă	0,3 - 0,4	0,1 - 0,15	0,04
1-clorpropan	0,5 - 1,0	0,1 - 0,15	0,2 - 0,4
Clorură de alil	33,0 - 40,0	6,0	0,2 - 1,0
1,2-diclorpropan	50,0 - 60,0	50,0 - 60,0	30,0 - 90,0
2,3-diclorpropenă	0,25 - 0,50	2,5 - 3,5	0,3 - 0,7
1,3-diclorpropenă-cis	1,5 - 3,0	13,0 - 17,0	3,5 - 5,0
1,3-diclorpropenă-trans	2,2 - 4,0	10,0 - 13,0	3,5 - 5,0
triclorpropan	0,7	4,5 - 6,0	1,0 - 2,0
fracțiuni neidentificate	0,31 - 1,50	9,0 - 10,0	1,4 - 3,5

După cum se observă și din valorile menționate în tabel, aceste compoziții variază în limite relativ largi, în funcție de regimul tehnologic și materiile prime introduse în proces.

Pentru aplicarea procedurii studiat în prezenta lucrare, în vederea obținerii metilacetilenfosfonatilor, prin utilizarea în locul alcoolului propargilic, hidrolizatului unei fracțiuni conținând diclorpropene, cel mai avantajos din punct de vedere economic, se prezintă fracțiunea de "cloruri grele" (Nematocide), avînd un conținut mai ridicat în cis-1,3 diclorpropenă. În tabelul nr.9 este redată compoziția procentuală a acestei fracțiuni, determinată gaz-cromatografic.

Actualmente, la conducerea normală a procesului, rezultă aproximativ 54 kg fracție "cloruri grele" (cu compoziția indicată) la tona de clorură de alil. Există însă posibilitatea mării acestui raport de cel puțin 3-4 ori, prin mărirea debitelor de alimentare a reactanților, în același sistem de reacție, cînd cantitatea de diclorpropene crește pe seama unei amestecări mai defectuase a reactanților.

T a b e l u l nr.9

Compoziția procentuală a fracțiunii de "cloruri grele",
rezultate de la fabricarea clorurii de alil

Componente	Conținutul procentual (% g)
Cloruri ușoare	0,5
Clorură de alil	2,5
1,2-dicloropropan	27,1
2,3-diclorpropenă	8,7
<u>cis</u> -1,3-diclorpropenă	43,5
<u>trans</u> -1,3-diclorpropenă	12,2
Compuși neidentificați	5,5

In tabelul nr.10 este reprezentată compoziția concentratului de diclorpropene după prelucrarea fracțiunii de "cloruri grele", iar în tabelul nr.11, compoziția în cloralcooli și respectiv de alcool propargilic, după efectuarea operațiunilor de hidroliză și dehidroclorurare. In figurile 17, 18, 19 și 20 sînt redată cromatogramele acestor fracțiuni, precum și condițiile de analiză.

T a b e l u l nr.10

Compoziția concentratului de diclorpropene obținut
în laborator
(fracțiunea 100 - 105°C; coloană 24 talere)

Componente	Notăția în cromatograme	Conținut (% g)
Clorură de alil	x ₁	1,55
2,3-diclorpropenă	x ₂	4,22
<u>cis</u> -1,3-diclorpropenă	x ₃	68,72
<u>trans</u> -1,3-diclorpropenă	x ₄	23,48
1,2-dicloropropan	x ₅	1,06
Alți compuși clorurați	x ₆	0,7

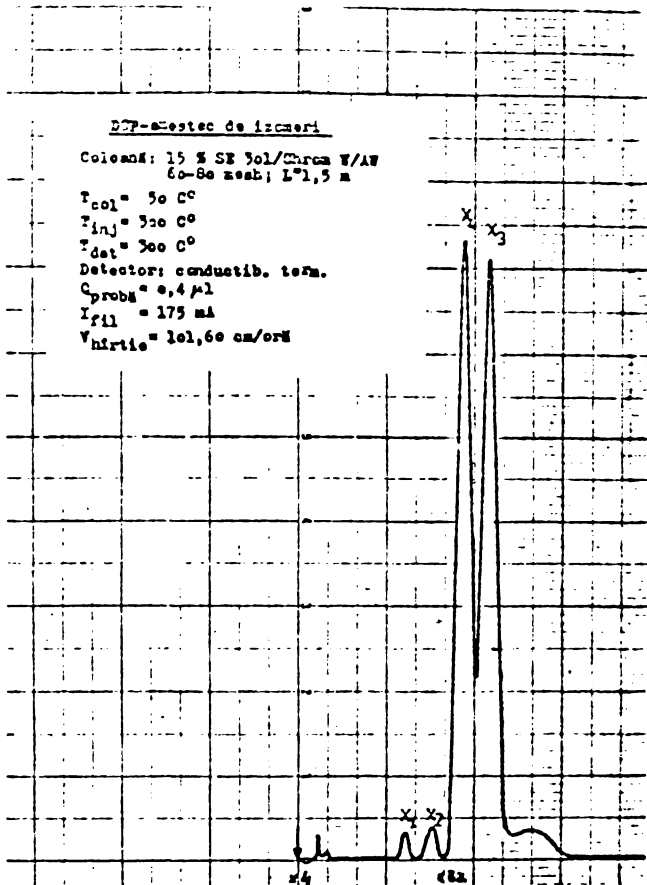


Fig.17 Cromatograma tipică a unui amestec de diclorpropene (amestec de izomeri),

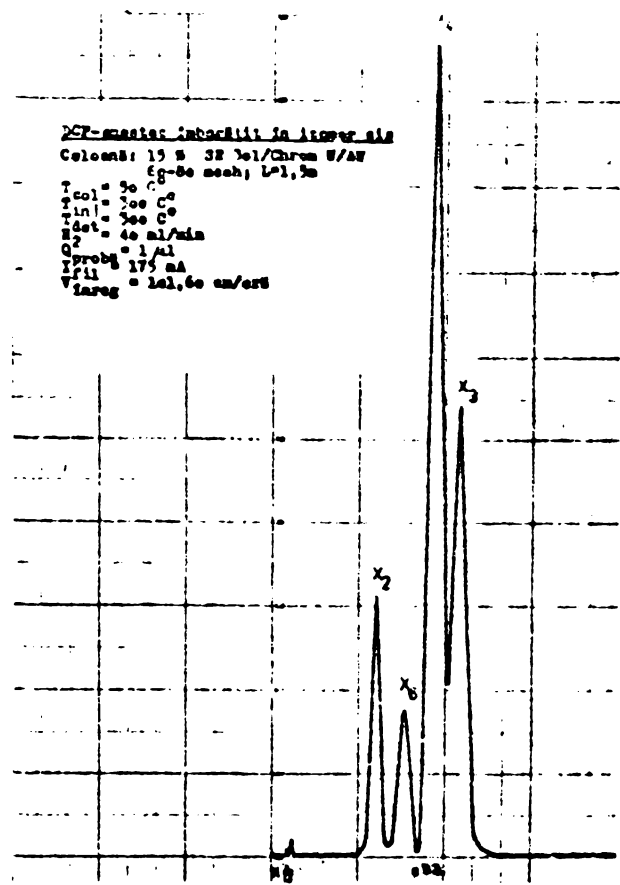


Fig.18 Cromatograma unui amestec de diclorpropene, îmbogățit în izomer cis.

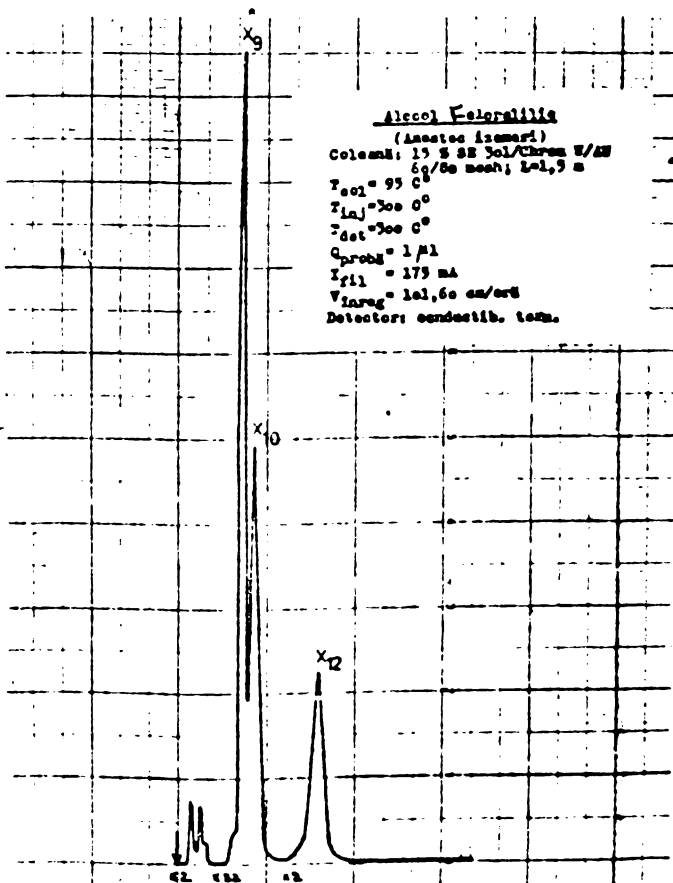


Fig.19 Cromatograma tipică a unui amestec de cloralcooli, obținut în laborator.

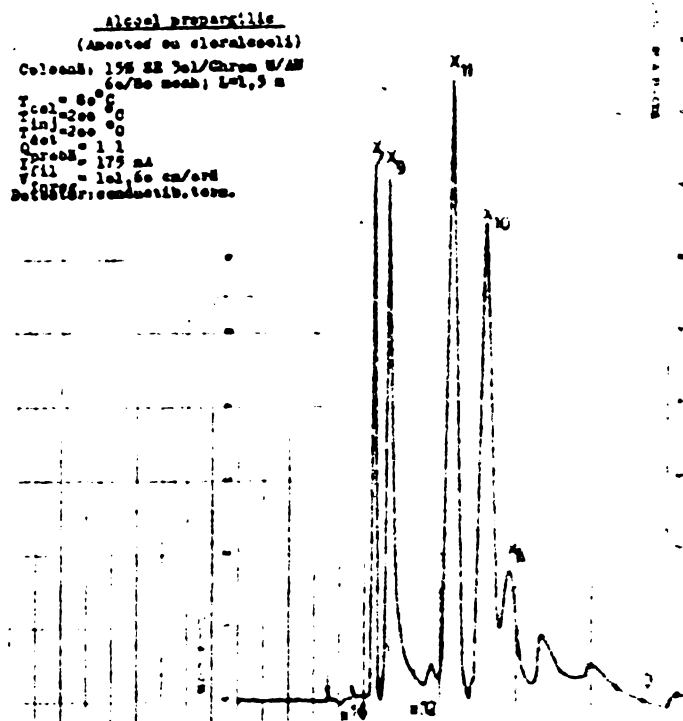


Fig.20 Cromatograma unui amestec de cloralcooli și de alcool propargilic.

T a b e l u l nr.11

Compoziția fracțiunilor de cloralcooli și alcool propargilic după hidroliză și respectiv dehidroclorurare

Componente	Notația în cromatograme	Conținut (% g)	
		Extract I	Extract II
prop-1-en-3-ol	x_7	1,40	1,97
2-clor-prop-2-en-1-ol	x_8	5,02	8,61
cis-3-clor-prop-2-en-1-ol	x_9	64,39	7,11
trans-3-clor-prop-2-en-1-ol	x_{10}	25,29	14,07
alcool propargilic	x_{11}	-	58,78
alți alcooli și cloralcooli	x_{12}	3,90	9,46

4.4.2. Produse finite

4.4.2.1. Epoxifosfonați și fosfinați.

Pentru analiza gaz-cromatografică a epoxizilor sintetizați, s-a încercat metoda recomandată de White și Birnbaum [124], constând în silanizarea epoxizilor cu trimetilclorsilan la 70°C și ajustarea volumului soluției, cu dimetilformamidă.

În condițiile de analiză recomandate (coloană l = 12 m; fază staționară OV-17 pe "Chromosorb" WPH 80/100 mesh; eluent: He, 90 ml/minut), cu excepția fosfonomicinei, nu s-au putut obține rezultate reproductibile. Fosfonomicina a prezentat în aceste condiții un timp de retenție $t_R = 7,5$ minute.

De altfel, în cazul esterilor, metoda pare și mai puțin recomandabilă, avînd în vedere faptul că prin silanizare sînt afectate mai întîi grupele alcoxi și numai într-o fază mai avansată, ciclul oxiranic. De asemenea, chiar și la o silanizare completă a moleculei, deci utilizînd un exces mare de trimetilclorsilan, durata de tratament variază în limite foarte largi, de la 5 minute, pîna la 150 ore, uneori, prin încălzire în tub închis [125]. Din aceste motive, analiza produselor finite prin gaz-cromatografie, în cadrul acestei lucrări nu a fost dezvoltată.

4.5. Analize prin cromatografie în strat subțire

Toți acizii epoxifosfonici sintetizați, care la testările în vitro, au arătat o mare activitate antimicrobiană, au fost analizați și prin cromatografie în strat subțire. În literatură [128], este descris un procedeu pentru analiza fosfomicinei prin cromatografie pe hîrtie și în strat subțire, aplicat la urmărirea procesului de izolare și purificare a antibioticului, din mediile de cultură.

În prezenta lucrare au fost încercate mai multe sisteme de solvenți și reactivi de identificare pentru toți epoxizii analizați.

Cromatoplăcile au fost preparate cu Silicagel G, aplicînd la start cîte 10 μ l din soluțiile apoase ale epoxiacizilor, cu o concentrație de aproximativ 1 mg/ml. Cromatoplăcile au fost dezvoltate prin tehnica ascendentă în următoarele sisteme de solvenți :

- A.- acetonă : metanol : metilamină : apă, (2 : 2 : 1 : 5);
- B.- acetonă : etanol : etilamină : apă, (2 : 2 : 2 : 4);
- C.- n-propanol : acid acetic : apă, (7 : 1 : 2);
- D.- n-butanol : trietilamină : apă, (5 : 1 : 4).

În tabelul nr.12, este redată mobilitatea epoxizilor în aceste sisteme, exprimată prin R_F specific fiecărui compus individual.

T a b e l u l n r . 1 2

Mobilitatea epoxiacizilor sintetizați în diferite sisteme de solvenți (R_F)

Compusul nr.	Sisteme de solvenți			
	A	B	C	D
1	0,19	0,24	0,28	0,71
31	0,22	0,26	0,30	0,75
49	0,18	0,19	0,17	0,75
52	0,20	0,42	0,34	0,71
65	0,15	0,17	0,2	0,7
64	0,19	0,26	0,33	0,7
85	0,23	0,30	0,36	0,75

Pentru punerea în evidență a spoturilor caracteristice ale epoxifosfonaților și fosfinaților analizați, s-a utilizat un reactiv de molibdat modificat. Astfel, după stropirea plăcilor cu o soluție conținând 5% acid percloric și 4% molibdat de amoniu în acid clorhidric 0,01 N și încălzirea la 80-100°C timp de 10 minute, spoturile fosfonaților și fosfinaților, apar sub formă de pete rotunde, ușor alungite în direcția de migrare, intens colorate în albastru.

Utilizarea în condiții identice a unei soluții apoase, nestre de molibdat de amoniu, nu a dat rezultate corespunzătoare.

4.6. Analize spectrofotometrice în U.V. și vizibil.

Aceste analize au fost efectuate numai în cazul compuşilor, care prin structurile lor se pretează și pot oferi informații în plus față de spectrele I.R. și R.M.N. Condițiile de lucru și caracteristicile spectrale determinate, sînt menționate la compuşii individuali respectivi, în partea experimentală a lucrării.

În toate determinările spectrofotometrice a fost utilizat un aparat "SPECORD" U.V.-VIS - tip Carl Zeiss-Yena.

Ca o caracteristică generală, în cazul tuturor fosfonaților și fosfinaților conținând catene nesaturate (alil, alenil, vinil), legate direct de atomul de fosfor, se remarcă absența oricărei absorbții semnificative la $\lambda > 200 \text{ m}\mu$, ceea ce infirmă existența unei eventuale conjugări între porțiunea nesaturată și gruparea fosfonil sau fosfinil, a moleculei.

De altfel, o lipsă de interacțiune, similară, a fost descrisă și în cazul unui număr mare de fosfonați aromatici [126, 127].

4.7. Alte determinări fizico-chimice

4.7.1. Determinări radiometrice

În studiile radiometrice efectuate, s-a urmărit stabilirea comportării unor compuşii epoxifosfonați în vitro și in vivo. Determinările au fost efectuate prin măsurarea activității relative a preparatelor, folosind în acest scop un numărător tip Vakutronik VA-M-14 și un contor cu fereastră frontală.

Toate măsurătorile au fost efectuate prin aplicarea soluțiilor sau extractelor radioactive pe un taler de aluminiu

cu diametrul de 20 mm, avînd o rondea de hîrtie de filtru și uscarea preparatelor pînă la greutate constantă.

Deoarece prin aceste determinări s-a urmărit numai stabilirea unor valori relative, corecțiile aplicate au fost limitate la corecția pentru fond (I_F) și cea pentru scăderea naturală a activității preparatelor (T), condițiile geometrice de măsurare (poziție relativă dintre preparat și contor) fiind menținute constante.

De asemenea, determinările radiometrice au fost limitate la doi compuși marcați (86 și 87), sintetizați în cadrul prezentei lucrări.

Rezultatele determinărilor sînt prezentate în formă prelucrată, în capitolele 5.1. (Stabilitatea epoxifosfonaților și fosfinaților) și respectiv 5.2. (Studiul absorbției și repartiției in vivo a epoxifosfonaților și fosfinaților fiziologic activi).

4.7.2. Determinări polarimetrice

În cazul unor epoxifosfonați optic activi, diastereoizomerii izolați sub formă de săruri, au fost caracterizați și prin determinarea rotației specifice. Determinările au fost efectuate în soluție, folosind un polarizator circular tip SM-1 (U.R.S.S.).

Valorile n_D^t determinate și condițiile de efectuare a măsurătorilor, sînt menționate la descrierea compuşilor individuali, în partea experimentală a lucrării.

5. COMPORTAREA IN VITRO SI IN VIVO A EPOXIFOSFONAȚILOR SI FOSFINAȚILOR SINTETIZATI

5.1. Stabilitatea epoxifosfonaților și fosfinaților ^{x)}

Acizii epoxifosfonici și fosfinici, precum și toți derivații acestora se caracterizează printr-o reactivitate ridicată, imprimată de prezența inelului oxiranic. În medii apos, la cald, epoxizii conduc printr-o reacție de adăugare a apei,

x) Determinările au fost efectuate în cadrul laboratorului de radiochimie al Universității Leicester-Anglia.

care se produce prin deschiderea ciclului, la glicolii corespunzatori. Această reacție este catalizată de prezența acizilor sau bazelor, prin mecanisme bine cunoscute [129].

În prezenta lucrare nu a fost efectuat un studiu cinetic complet privind descompunerea epoxizilor sintetizați, în diverse condiții de pH, determinările fiind limitate la stabilirea unor date care să permită evaluarea modului de comportare a unor produse reprezentative, în soluții în apă distilată, precum și în soluții tampon, în jurul valorilor fiziologice (tampon cu barbital sodic; pH = 8,6), în domeniul de temperaturi, cuprins între 30 - 60°C.

Concentrația inițială a soluțiilor, atât în apă distilată, cât și în soluții tampon, a fost de $a = 1 \text{ mg/ml}$ (1 mg corespunzând la aproximativ $4,22 \cdot 10^4$ dezintegrări pe secundă în cazul compusului 86 și respectiv $3,8 \cdot 10^4$ dezintegrări pe secundă în cazul compusului 87).

Soluțiile au fost menținute în condiții termostatare la 30, 40, 50 și respectiv 60°C, luându-se probe la diferite intervale de timp pentru măsurători.

Pentru separarea produselor de reacție, a fost utilizată o tehnică cromatografică în strat subțire, în condiții similare cu cele descrise la capitolul 4.5., aplicând la start, volume de câte 20 μl atât din probele de analizat, cât și dintr-o soluție etalon proaspăt preparată (developarea în sistemul C).

După developarea și uscarea cromatoplăcilor, a fost măsurată activitatea spoturilor de la $R_F = 0,28$ (pentru compusul 86) și respectiv $R_F = 0,33$ (pentru compusul 87), direct pe placă, utilizând un dispozitiv scanner automat, legat la un contor Geiger. Diferența de activitate între spotul aparținând soluției etalon și cel al soluției analizate, este proporțională, în limitele erorii metodei, cu concentrația substanței nemodificate ($a - x$).

Reprezentând variația în timp a valorii raportului $\frac{a}{a-x}$, pentru ambii compuși se obțin drepte, caracteristice cineticii reacțiilor de ordinul 1, conform ecuației:

$$K_t = 2,3026 \frac{a}{a-x}$$

care permite calcularea timpului de înjumătățire (t_{50}) a celor doi compuși:

$$t_{50} = \frac{0,693}{K}$$

In figura 21 sînt reprezentate grafic variațiile mării $\log \frac{a}{a-x}$ în funcție de timp, iar în tabelul nr.13 sînt redade valorile calculate pentru constanta de viteză K a reacțiilor de degradare a celor doi epoxizi în mediu apos și timpii de înjumătățire corespunzători.

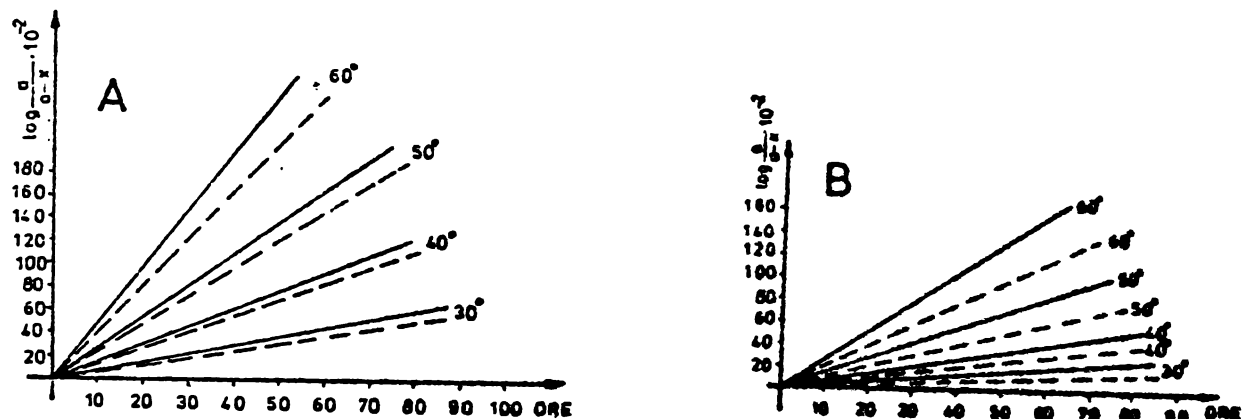


Fig.21.- Viteza de hidroliză a epoxizilor 86 și 87
 A.- hidroliza în soluții apoase;
 B.- hidroliza în soluție tampon, pH = 8,6

—— compusul (86)
 ---- compusul (87)

Din reprezentarea grafică a rezultatelor obținute, precum și din calculul valorilor pentru constanta K și respectiv t_{50} , rezultă că la temperatura normală, ambii epoxizi sînt relativ stabili, atît în soluții apoase, cît și în soluție tampon la pH fiziologic.

In ambele cazuri, ridicarea temperaturii determină o creștere semnificativă a vitezei de degradare. Astfel; la 60°C , atît în mediu apos, cît și în mediu tamponat, se degradează aproximativ 80-90% din epoxizii inițiali, în timp ce în intervalul de temperaturi cuprins între $30-40^{\circ}\text{C}$, după 48 ore, se constată o scădere a concentrației inițiale de epoxizi cu numai aproximativ 10%.

De asemenea, în cazul epoxifosfinatului (87), se constată o viteză de hidroliză ceva mai mică, în comparație cu cea a epoxifosfonatului (86).

T a b e l u l nr.13

Viteza de hidroliză și timpul de înjumătățire ale compușilor 86 și 87, calculate din datele experimentale

Temp. (°C)	Compus nr.	Soluție apoasă		Soluție tampon (pH=8,6)	
		K	t ₅₀ (ore)	K	t ₅₀ (ore)
30	<u>86</u>	0,35 · 10 ⁻²	196	0,30 · 10 ⁻²	230
	<u>87</u>	0,32 · 10 ⁻²	212	0,28 · 10 ⁻²	244
40	<u>86</u>	0,57 · 10 ⁻²	120	0,52 · 10 ⁻²	133
	<u>87</u>	0,51 · 10 ⁻²	134	0,49 · 10 ⁻²	141
50	<u>86</u>	0,96 · 10 ⁻²	72	0,85 · 10 ⁻²	81
	<u>87</u>	0,82 · 10 ⁻²	84	0,77 · 10 ⁻²	90
60	<u>86</u>	1,77 · 10 ⁻²	39	1,57 · 10 ⁻²	44
	<u>87</u>	1,51 · 10 ⁻²	46	1,35 · 10 ⁻²	51

5.2. Absorbția, repartizarea în țesuturi și eliminarea epoxifosfonatilor și fosfinatilor

Pentru efectuarea unor studii farmacodinamice și farmacocinetice, cu caracter orientativ, în cadrul prezentei lucrări, au fost folosiți cei doi compuși marcați radioactiv (86 și 87), iar ca animale de experiență, iepuri și șoareci.

Prin lucrările efectuate, s-a urmărit determinarea vitezei de difuzie și a repartizării în diferite țesuturi a compușilor radioactivi administrați, precum și eliminarea acestora prin urină.

Măsurătorile de radioactivitate, s-au efectuat în mod similar cu cel descris la capitolul 4.7.1., aplicându-se corecții numai pentru fond și scăderea naturală a activității preparatelor.

Determinarea repartiției în țesuturi a compușilor administrați, s-a efectuat prin sacrificarea animalelor de experiență și prelevarea probelor de organe, după atingerea nivelului maxim în ser, considerându-se pentru simplificare, că viteza de difuzie în organe este proporțională cu concentrația serică realizată.

Administrarea preparatelor s-a făcut sub formă de soluții în apă distilată (10 mg/ml), intraperitoneal, precum și pe cale per orală, prin gavaj (numai la iepuri), în doze unice de 15 mg/kg în forma injectabilă și de 30 mg/kg la administrarea per orală.

5.2.1. Absorbția preparatelor administrate

În figura 22 este reprezentată variația concentrației serice în timp pentru compușii testați.

Se observă, că în cazul epoxifosfonatului (86), nivelul seric maxim se atinge după aproximativ 40 minute, în timp ce la administrarea per orală această concentrație se realizează numai după 2 ore, iar după 6-8 ore, conținutul seric în substanță activă, scade la 30-40% față de concentrația maximă.

În cazul epoxifosfinatului (87), atât absorbția, cât și eliminarea, indiferent de calea de administrare, se produc mai lent, însă concentrațiile maxime atinse după administrare per orală, pentru ambii compuși, sînt comparabile.

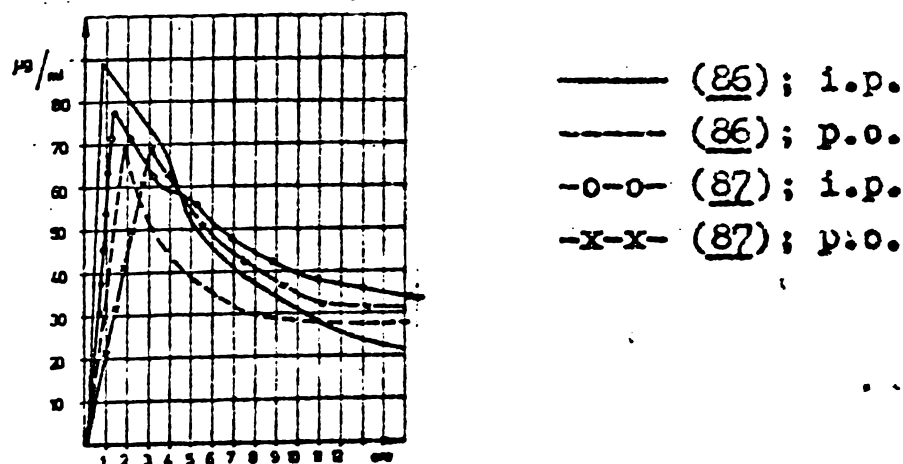


Fig. 22.- Variația concentrației serice în timp a compușilor 86 și 87, după administrare intraperitoneală și per orală.

5.2.2. Repartizarea în țesuturi și organe

În tabelul nr.14 sînt redată rezultatele determinărilor efectuate privind repartiția compușilor radioactivi administrați în injecții intraperitoneale, în principalele țesuturi și organe, recoltate de la animalele de experiență sacrificate după două ore de la administrare. Rezultatele au fost calculate și exprimate în comparație cu activitatea specifică sanguină (serică), considerată convențional ca fiind egală cu unitatea.

T a b e l u l nr.14Repartizarea în principalele țesuturi și organe a fosfono și fosfino-epoxizilor radioactivi

Țesuturi (organe)	Concentrația relativă	
	(86)	(87)
Sînge (ser)	1,00	1,00
hematii (hemolizat)	0,02	0,06
inimă	0,64	0,70
ficat	0,84	0,85
rinichi	0,42	0,28
creier	0,08	0,11
lichid cerebrospinal	0,10	0,18
stomac	0,14	0,12
intestine	0,16	0,18
țesut conjunctiv	0,12	0,10
țesut osos	0,31	0,28

Datele din tabelă ilustrează o repartiție similară a celor doi compuși, cu deosebirea că epoxifosfinatul poate realiza concentrații mai ridicate atît în lichidul cerebro-spinal, cît și în creier, în schimb difuzează mai lent în țesutul conjunctiv și cel osos, în comparație cu omologul epoxifosfonat.

În ambele cazuri, difuzia în hematii este practic nesemnificativă.

Deosebirile de comportament ale celor doi compuși, s-ar putea explica probabil prin gradul de ionizare diferit al celor două săruri în soluție, în mediul fiziologic.

5.2.3. Excreția

Eliminarea epoxifosfonaților și fosfinaților are loc relativ rapid, prin urină, cu recuperarea în proporție de 80 - 90% a dozelor administrate, după 24 ore.

Aproximativ 50 - 55% din doza administrată, se regăsește în urină, după 6-8 ore; restul se elimină în următoarele 16 - 18 ore.

În cazul epoxifosfinatului (87), se constată o eliminare ceva mai lentă în primele 8 ore de la administrare, ceea ce nu afectează însă cantitatea totală recuperată la sfîrșitul

perioadei de 24 ore, care și în acest caz, este de aproximativ. 80 - 90%.

În tabelul nr.15 sînt redate rezultatele determinărilor efectuate pe un număr de cîte 10 șoareci albișoși, cărora li s-a administrat o doză totală, de 3 mg substanță activă (86 și 87). Cifrele menționate în paranteze, reprezintă recuperarea procentuală față de dozele administrate.

T a b e l u l n r . 1 5

Recuperarea prin excreție urinară a compușilor administrați
(șoareci albișoși în greutate de 20 g; 15 mg/kg.corp; i.p.)

Inter- val de colec- tare (ore)	(86)				(87)				
	Volum urină colec- tată (ml)	Conc. sub- stan- țivă (g/ml)	Total sub- stan- țivă (g)	Recupe- rare procen- tuală (%)	Volum urină colec- tată (ml)	Conc. sub- stan- țivă (g/ml)	To- tal sub- stan- țivă ac- tivă (g)	Recupe- rare procen- tuală (%)	
0-2	6	70	420	14 (14)	8,4	39	330	11 (11)	
2-4	1,8	116	210	7 (21)	2,2	68	150	5 (16)	
4-6	4,4	102	450	15 (36)	3,0	130	390	13 (29)	
6-8	0,6	600	360	12 (48)	0,6	750	450	15 (44)	
8-24	4,8	213	1020	34 (82)	2,4	525	1260	42 (86)	

5.3. Testarea activității antibiotice și a toxicității
compușilor sintetizați

Testarea activității antibiotice și a toxicității compușilor sintetizați, au fost efectuate în două etape succesive. Astfel, în prima etapă, a fost testată acțiunea antibiotică a compușilor numai calitativ, la o concentrație de 1000 mcg/ml pe o cultură standard de *Proteus Vulgaris* (microorganism deosebit de sensibil la acțiunea fosfomicinei). Citirea rezultatelor s-a făcut la 24 ore după inocularea compușilor testați.

În cea de a doua etapă a fost determinată concentrația minimă inhibitorie (C.M.I.) numai pentru epoxizii care au manifestat o inhibiție totală a creșterii culturilor în etapa anterioară. Inhibițiile parțiale produse de unii compuși în aceste

condiții, nu au fost luate în considerare ca efect antibiotic, acestea putând fi puse pe seama unor factori de modificare a mediului (în special prin alterarea pH-ului).

De asemenea, determinarea activității antienzimatice in vitro și a toxicității in vivo, au fost efectuate numai în cazul compușilor care au manifestat o acțiune antibiotică în prima etapă de testare.

5.3.1. Activitatea antibiotică

Sub aspectul acțiunii antibiotice, compușii sintetizați au fost testați în cadrul laboratorului Enterobacterioze al Institutului de seruri și vaccinuri Dr. I. Cantacuzino-București, iar pentru unele tulpini specifice, în cadrul laboratorului central pentru controlul alimentelor de origine animală, sectorul de bacteriologie - București.

Tulpinile folosite pentru testare au provenit din colecțiile acestor laboratoare, unele dintre ele fiind tulpini internaționale de referință, altele izolate de la cazuri, clinic sau epidemiologic particulare, din țară.

Testarea s-a făcut după metoda diluției în agar simplu nutritiv, propusă de Washington [129], iar rezultatele au fost exprimate comparativ cu activitatea a două antibiotice martor cu spectru larg de acțiune (cloramfenicol și tetraciclina). Diluțiile intermediare au fost efectuate în apă distilată, sterilă. Compușii testați au fost adăugați sub formă de săruri monosodice în cazul fosfinaților și disodice în cazul fosfonaților.

În tabelul nr. 16 sînt menționate rezultatele testărilor preliminare, semnale + și - reprezentînd activitatea (inactivitatea) compușilor la concentrația de 1000 mcg/ml, față de o cultură standard de *Proteus vulgaris*.

T a b e l u l n r. 16

Rezultatele testărilor preliminare privind
activitatea antibiotică a compuşilor sintetizați

Nr. compus	S t r u c t u r a	Efec- tul anti- biotic.	Gradul de inhibiție
1	2	3	4
(1)	$\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	+	totală.
(31)	$\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	+	totală.
(37)	$\text{CH}_3-\text{CCl}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	+	totală.
(38)	$\text{CH}_3-\text{CBr}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	+	totală.
(39)	$\text{CH}_3-\text{CI}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	+	totală.
(44)	$-\text{CH}_2\text{Cl}-\text{CCl}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	-	parțială.
(49)	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	-	fără inhibiție
(52)	$\text{CH}_2=\text{C}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	-	fără inhibiție
(55)	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	-	parțială
(60)	$\text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	+	totală
(65)	$\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ O O	-	parțială
(66)	$\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ S O	-	parțială
(67)	$\text{CH}_2-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ S O	-	fără inhibiție
(68)	$\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ S O	-	fără inhibiție
(69 a)	$\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})\text{CH}_3$ O O	+	totală
(69 b)	$\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})\text{C}_2\text{H}_5$ O O	+	totală
(84)	$\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})\text{CH}_3$ O O	+	totală
(85)	$\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{P}(\text{O})(\text{OH})\text{C}_2\text{H}_5$ O O	+	totală

Rezultatele testărilor preliminare evidențiază faptul că din numărul total de 18 compuși testați, un număr de 10 au manifestat in vitro un efect antibiotic net, caracterizat printr-o inhibiție totală a culturilor, un număr de 4 (compușii 44, 55, 65 și 66) au produs efecte inhibitorii parțiale, iar 4 compuși (49, 52, 67 și 68) nu au avut nici un efect inhibitor observabil în condițiile de testare.

Compușii care au manifestat numai un efect inhibitor parțial, deși nu pot fi luați în considerare ca eventuale antibiotice potențiale, utilizarea lor ca antiseptice sau dezinfectante generale, nu este exclusă, în aceste aplicații fiind permise concentrații mult mai mari de substanțe active decât cele folosite în condițiile de testare.

În tabelul nr.17 sînt redate rezultatele determinărilor privind spectrul de activitate antimicrobiană a celor 10 compuși care în testările preliminare au manifestat o acțiune inhibitoare totală. Rezultatele au fost exprimate prin concentrația minimă inhibitorie (C.M.I.) a compușilor în mcg/ml, în comparație cu tetraciclina și cloramfenicolul, folosite ca antibiotice martor.

Din rezultatele testărilor efectuate, se pot desprinde următoarele concluzii privind activitatea antimicrobiană a compușilor sintetizați :

- epoxifosfonații și fosfinații testați, prezintă un spectru de activitate similar cu cel al antibioticelor martor, avînd o acțiune inhibitoare superioară față de cloramfenicol, la toate tulpinile utilizate în testare;

-agenții patogeni din genurile Pseudomonas, Proteus și Salmonelle, prezintă o sensibilitate mai mare față de epoxifosfinați, acțiunea compușilor sintetizați fiind superioară în aceste cazuri tetraciclinei;

- față de patogenii enterici obișnuiți (Salmonella, Shigella, Escherichia coli-enteropatogen) spectrul de activitate și concentrațiile minime inhibitorii ale epoxifosfonaților, sînt similare sau comparabile cu cele ale tetraciclinei;

Tabelul 12.17

Spectrul de activitate antimicrobiană a compuşilor sintetizați în comparație cu Tetraciclina (T) și cloramfenicolul. Concentrațiile minime inhibitorii (C.M.I.) față de cîteva specii mai des întîlnite

Agent patogen (genul și specia)	Concentrațiile minime inhibitorii (mcg/ml)												
	Compușul numărul											T	C
	1	31	37	38	39	60	69a	69b	84	85			
<i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	25,0	50,0	25	25	25	50	25	50	25	50	100,0	100,0	
<i>Proteus vulgaris</i> -	5,0	12,5	10	10	10	25	10	100	10	50	100,0	100,0	
<i>Proteus mirabilis</i>	10,0	25,0	10	10	10	100	10	50	10	150	150,0	100,0	
<i>Stafilococcus aureus</i>	25,0	25,0	50	50	50	50	25	50	25	100	25,0	50,0	
<i>Serratia marcescens</i>	50,0	100,0	50	50	25	100	25	100	50	500	50,0	100,0	
<i>Escherichia coli</i>	10,0	50,0	10	25	25	150	10	100	25	100	10,0	10,0	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10,0	25,0	10	10	10	50	25	50	25	200	5,0	5,0	
<i>Salmonella</i> (diferite serotipuri)	25,0	25,0	10	10	10	100	25	100	25	100	25,0	25,0	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5,0	25,0	10	25	25	25	10	25	10	50	5,0	5,0	
<i>Streptococcus viridans</i>	12,5	25,0	25	50	25	50	25	25	25	50	5,0	12,5	
<i>Streptococcus fecalis</i>	12,5	50,0	25	25	50	100	25	50	100	150	100,0	10,0	
<i>Shigella flexneri</i>	25,0	25,0	25	50	25	100	25	25	50	100	10,0	10,0	
<i>Salmonella gallinarium</i>	50,0	100,0	25	25	25	100	25	50	25	100	50,0	50,0	
<i>Pasteurella pestis</i>	50,0	100,0	100	100	50	150	50	100	50	300	100,0	100,0	

- dintre compuşii sintetizați și testați, cel puțin activ s-a dovedit a fi 2,3-epoxipropil-etilfosfinați (35), inferior sub aspectul acțiunii antimicrobiene față de tetraciclina, cât și cloramfenicolului (în special față de genurile *Serratia*, *Klebsiella* și *Pasteurella*).

5.3.2. Toxicitatea epoxifosfonaților și fosfinaților

Toxicitatea compușilor sintetizați a fost determinată prin metoda ascensională, propusă de Kimbal [130], folosind doze crescînde, după sistemul decîmal-geometric al lui Hackenberg [131, 132].

Valcările toxicității acute a compușilor administrați subcutanat (s.c.), intramuscular (i.m.) și intraperitoneal (i.p.), sub formă de soluții apoase, injectabile, ale sărurilor de sodiu, sînt redată în tabelul nr.18. Ca animale de experiență, s-au utilizat șobolani albișoi, rasa Wistar, în greutate medie de 200 g, rezultatele determinărilor fiind exprimate prin valorile DL₅₀ (mg/kg). Cifrele menționate în paranteze, reprezintă conținutul de cation (Na⁺), corespunzător dozei DL₅₀.

T a b e l u l n r . 1 8

Toxicitatea acută a unor epoxifosfonați și fosfinați pe diverse căi de administrare
(șobolani albișoi Wistar)

Compusul numărul:	Conținut de Na ⁺ (% g)	DL ₅₀ (mg/kg)		
		s.c.	i.m.	i.p.
1	12,63	4015; (507)	4280; (540)	4015; (507)
31	12,63	3850; (486)	4050; (511)	3660; (450)
37	10,62	3580; (380)	3920; (416)	3200; (340)
38	8,81	3310; (292)	3450; (304)	3105; (273)
39	7,46	3300; (246)	3400; (254)	3020; (225)
60	13,69	3880; (531)	4000; (547)	3560; (485)
69 a	14,55	4820; (701)	5020; (730)	4540; (660)
69 b	13,37	4356; (584)	4700; (628)	4020; (537)
84	14,55	4800; (698)	5100; (742)	4500; (655)
85	13,37	4400; (588)	4650; (622)	4100; (548)
NaCl	39,31	1860; (731)	2100; (825)	1780; (700)

Din datele menționate în tabel, rezultă că toxicitatea epoxifosfonaților și fosfinaților se situează în jurul valorilor de 4000 - 5000 mg/kg (DL₅₀), cu excepția compușilor conținînd și cîte un atom de halogen atașat la atomul C₂ al inelului oxiranic (37, 38 și 39), unde se constată o oarecare creștere a toxicității

Făcînd abstracție de acești compuși, în cazul celorlalți 7 derivați epoxifosfonici și fosfinici testați, dozele toxice variază aproximativ proporțional cu conținutul de cation (Na^+) din moleculă, corelație ce apare în mod și mai evident prin comparație cu toxicitatea clorurii de sodiu, administrate în condiții identice. Astfel, efectul toxic al compușilor studiați, poate fi pus practic în întregime pe seama toxicității cationului, ceilalți factori structurali, ca poziția inelului oxiranic, lungimea catenei de alchil, prezența unui al doilea radical alchil legat de atomul de fosfor, etc., avînd o importanță minoră în determinarea acțiunii toxice.

De altfel, și simptomatologia intoxicației acute cu sărurile de sodiu ale fosfono și fosfinoepoxizilor sînt similare cu cele observate în cazul administrării unor doze letale de soluții hipertone de clorură de sodiu (creșterea volumului de lichid extracelular pe seama spolierii de apă a țesuturilor, fenomene edematoase culminînd cu edem pulmonar acut).

În concluzie, prin toxicitatea lor intrinsecă, epoxifosfonații și fosfinații pot fi încadrați în grupa substanțelor relativ netoxice, fapt ce permite administrarea fără risc a unor doze cu mult superioare celor necesare atingerii unor niveluri terapeutice eficiente.

5.3.3. Activitatea antienzimatică

Pornind de la mecanismul de acțiune probabil al fosfomicinei la nivelul biosistemelor celulare, prin inhibarea ireversibilă a Piruvat-Uridin-difosfo-N-acetilglucosamintransferazei celulei bacteriene (presupunînd realizarea unei legături covalente, prin deschiderea ciclului epoxidic cu una din funcțiunile centrului activ al enzimei), unii autori au emis ipoteza că epoxifosfonatul ar putea reacționa în mod similar cu o varietate de centri activi ai unui număr mare de enzime [133]. Această ipoteză are la bază reactivitatea ridicată a inelului oxiranic în molecula unui epoxifosfonat hidrosolubil, Fosfomicina fiind privită, în această concepție, ca un posibil agent de fosforilare de tip P-XYZ [134].

Pe de altă parte, din considerații structurale, fosfono și fosfinoepoxizii nu îndeplinesc condițiile cerute de criteriul lui Schrader [135] pentru a putea fi considerați ca inhibitori enzimatici de tip organofosforici (anticolinesterazici)

Pentru a verifica ipoteza de mai sus, la toți compușii sintetizați (produse finite), a fost determinată activitatea anticolinesterazică, având în vedere sensibilitatea deosebită a acestei enzime față de agenții de fosforilare.

Determinările au fost efectuate folosind ca preparat enzimatic, un hemolizat proaspăt eritrocitar, precum și colinesterază pură, iar ca substrat, soluții standard de butirilcoliniodură, în soluții tampon Michel (pH = 8). Activitatea enzimatică a fost măsurată utilizând metoda electrometrică propusă de Tammelin [136], compusul organofosforic (presupus inhibitor enzimatic), fiind adăugat după incubarea amestecului enzimă-substrat la 30°C, timp de 30 minute, la o concentrație finală de 10⁻² M/l.

În condițiile determinărilor efectuate, la nici unul din compușii studiați, nu s-a putut observa inhibarea enzimei, ceea ce infirmă ipoteza [133] privind activitatea antienzimatică generală a epoxifosfonaților.

5.4. Mecanismul de acțiune biochimică

Până în prezent au fost efectuate relativ puține studii privind mecanismul de acțiune a fosfonomicinei la nivelul sistemelor biochimice de bază ale microorganismelor unicelulare. Cu toate acestea, faptul că efectul bactericid al antibioticului, este exercitat printr-un mecanism ce afectează integritatea pereților celulari bacterieni, rezultă în mod evident din apariția sferoblaștilor la un număr mare de specii bacteriene, expuse la acțiunea fosfonomicinei în medii cu osmolaritate ridicată. De asemenea, apariția sferoblaștilor s-a constatat la aproape toate antibioticele care afectează în diverse etape, biosinteza peretelui bacterian (penicilinele, Vancomin, Ristocetina, Griseofulvina, Cicloserina, Novobiocina etc.).

Totodată, la determinările efectuate în vitro pentru stabilirea sensibilității diverselor tipuri față de fosfonomicine *) se constată diferențe de activitate relativ mari,

*)

În continuare, în prezenta teză de doctorat, epoxifosfonații și fosfinații sintetizați, pentru simplificare, vor fi desemnați sub denumirea generală de "fosfonomicine", având în vedere spectrul lor antimicrobian similar și un mecanism de acțiune probabil, identic.

în funcție de natura și constituenții mediului de cultura. Astfel, prezența glucozei, sau a fosfaților în mediile folosite, diminuează sensibil activitatea tuturor acestor antibiotice.

Această constatare ar putea fi explicată admitând că absorbția fosfomicinei și a omologilor ei de către microorganisme, este mediată de către același sistem de transport, care asigură transportul L- α -glicerofosfaților între citoplasma bacteriană și mediul exterior.

Existența unui asemenea sistem de transport în cazul E. coli, a fost dovedită de către Koch J.P. și Hayashi S.I. [137], ca făcând parte dintr-un complex de trei unități funcționale (glicerokinază, L- α -glicerofosfat-dehidrogenază și sistemul de transport propriu-zis al L- α -glicerofosfatului), reprezentat în figura 23.

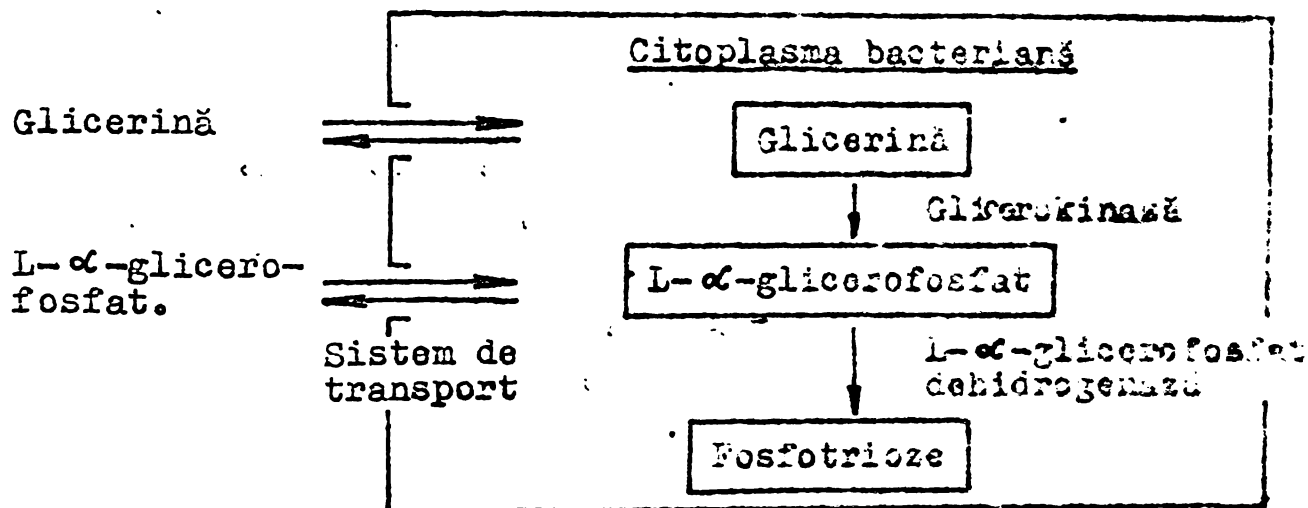


Fig. 23 - Mecanismul de schimb al glicerinei și L- α -glicerofosfatului între citoplasma bacteriana și mediul exterior.

Aceiași autori [137] constată că acest mecanism de transport este perturbat, iar la concentrații mari, blocat de către glucoză sau glicerofosfați, ca o represiune catabolică, ce acționează probabil la nivelul transcrierii informațiilor genetice ADN în mesajele ARN.

După unii autori [11, 12], fosfomicina s-ar atașa covalent la Piruvat-Uridin-difosfo-N-acetilglucozamintransferază, pe care o inhibă în mod ireversibil în extractele unor microorganisme Gram-pozitive sau Gram-negative. Această enzimă catalizează una din primele etape-cheie a succesiunii de reacții de sinteză care conduc la formarea muramilpeptid-nucleotidului, precursorul de bază în sinteza pereților celulari la toate bacteriile.

5.4.1. Biochimia peretelui celular bacterian și fosfomicinele

Studiul componentelor pereților celulari bacterieni s-a dezvoltat deosebit de rapid în ultimii 30 de ani, strâns legat de vastele cercetări întreprinse în domeniul antibioticilor, datorită faptului că un număr mare de substanțe cu proprietăți antibiotice își exercită acțiunea interferând cu diversele etape de biosinteză a peretelui celular bacterian.

Având în vedere numărul relativ mare al aminoacizilor identificați pînă în prezent în constituția peretelui celular bacterian, precum și marea varietate structurală în care aceștia pot interveni la realizarea unor rețele glicopeptidice tridimensionale, diferite între ele atât ca structuri bazale, cît și ca mod de reticulare, cunoștințele actuale despre biochimia, arhitectura și construcția peretelui celular, prezintă încă suficiență necunoscute.

Conform concepției actuale [138, 139, 140], peretele celular bacterian este un înveliș rigid, insolubil în apă, care înconjoară membrana citoplasmatică. Structura de bază a acestui perete, cu o grosime de 150 - 300 Å, trebuie să asigure viața celulei în condiții normale de mediu, caracterizate în cele mai multe cazuri prin hipotonicitate.

Spre deosebire de celulele vegetale, sau celulele animale superioare, ale căror constituenți principali sînt polizaharide de tip α -celuloză, hemiceluloză, glucan, manan sau chitină, în lumea bacteriilor, peretele celular este alcătuit dintr-un complex de peptidoglican (întîlnit în literatură și sub denumirile de mucopeptide, mucocomplecși, mucopolimeri, glicopeptide, glicozaminopeptide, mureine etc.). Acest complex este alcătuit din două N-acetilhexozamine diferite și un număr de aminoacizi diferiți.

Cele două hexozamine sînt : N-acetil-D-glucozamina și eterul 3-O-D-lactic al acesteia, denumit acid N-acetilmuramic (un constituent specific bacteriilor).

Aminoacizii respectivi, legați de cele două N-acetilhexozamine sînt : alanina, acidul glutamic și un acid bibazic, de obicei lizina, sau acidul α, α' -diaminopimelic (un alt component specific exclusiv lumii bacteriene).

În principiu, peptidoglicanul este constituit din

lanțuri de polizaharide legate între ele prin punți peptidice. Porțiunea glicanică este alcătuită din unități alterne de N-acetilglucozamină și acid N-acetilmuramic, legate prin legături β -1,4, în lanțuri lineare.

Practic, toate grupele carboxilice ale resturilor de acid N-acetilmuramic sînt angajate în legături amidice cu resturile de L-alanil terminale ale punților peptidice. Această porțiune peptidică însăși este alcătuită la rîndul ei din subunități tetrapeptidice L-alanil- γ -D-izoglutaminil-L-lizil-D-alanină, legate în punți peptidice de la grupa carboxil al D-alaninei terminale ale unei subunități peptidice, la grupa ϵ -amino a restului de lizină dintr-o altă subunitate peptidică. Compoziția și lungimea punților peptidice variază de la o specie bacteriană la alta.

Structura peptidoglicanică astfel concepută, este reprezentată schematic în figura 24, unde lanțurile de polizaharide sînt alcătuite din resturi de N-acetilglucozamină (G) și de acid N-acetilmuramic (M), alterate în legături β -1,4. Liniiile verticale punctate reprezintă subunitățile tetrapeptidice, iar cele orizontale, punțile peptidice de reticulare.

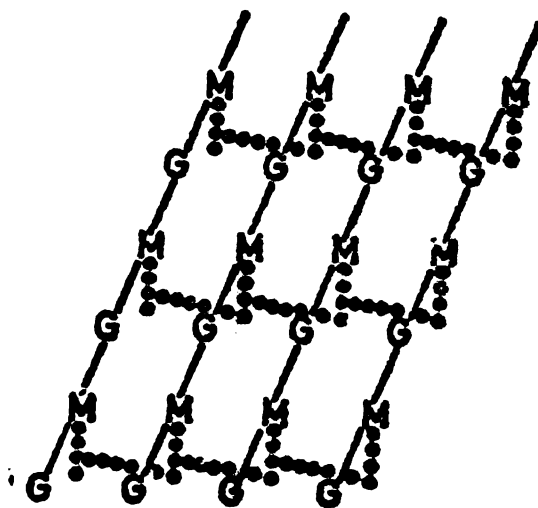


Fig. 24 - Reprezentarea schematică a structurii peptidoglicanice a peretelui celular bacterian.

5.4.1.1. Biosinteza peptidoglicanilor din peretele celular bacterian.

În ciclul de biosinteză a peptidoglicanilor din pereții celulari bacterieni, se deosebesc următoarele trei etape :

- I. Biosinteza precursorilor de peptidoglicani;
- II. Utilizarea precursorilor pentru formarea de lanțuri lineare peptidoglicanice;
- III. Reticularea lanțurilor peptidoglicanice cu formarea de rețele tridimensionale.

Etapa I - Biosinteza Uridin-difosfo-N-acetilmuranil pentapeptidei - precursor al materiei peretelui celular (89).

Ciclul de biosinteză a precursorului (89), precum și utilizarea acestuia în construcția peretelui celular bacterian, sînt reprezentate schematic în figura 25, indicîndu-se și punctele de interferență ale unor antibiotice sau altor substanțe bactericide, care pot acționa ca inhibitori ai succesiunii de biosinteze.

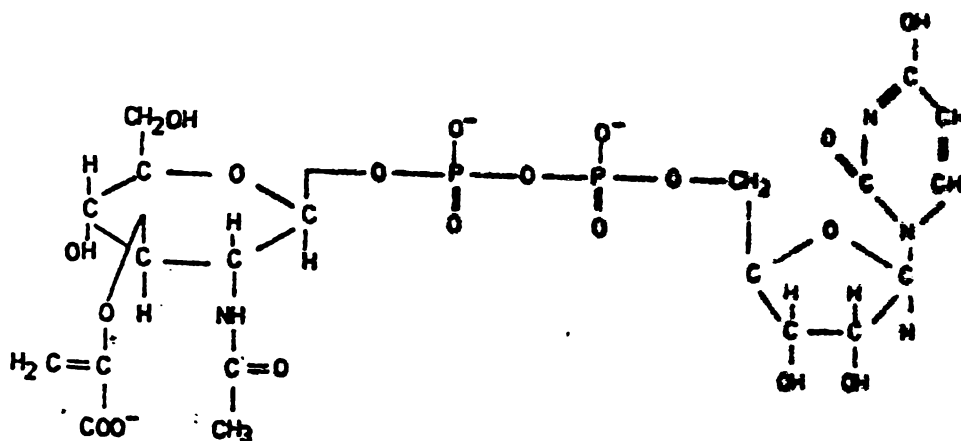
Primele două reacții, sînt reacții de fosforilare a uridin mono și difosfaților (UMP și UDP)^{de} către adenozintrifosfat ATP, cu formarea de Uridin-trifosfat (UTP).

Uridin-trifosfatul reacționează apoi cu α -D-N-acetilglucozamina (UDP-NAc-G) și un pirofosfat anorganic (PP). Această reacție este catalizată enzimatic de către UDP-acetilglucozamin-pirofosforilază.

Din intermediarul glicolitic, 2-fosfoenolpiruvatul, se poate transfera un fragment de trei atomi de carbon moleculei de UDP-acetilglucozamină, obținînd astfel piruvat-enol-eterul Uridin-difosfo-acetilglucozaminei (88).

Această reacție este catalizată de către o enzimă - Uridin-5'-difosfo-N-acetil-2-amino-2-deoxiglucoză-3-enolpiruvil-transferază (denumită uzual Piruvat-Uridin-difosfo-N-acetilglucozamintransferază), care transferă enolpiruvatul de la piruvat la Uridin-difosfo-N-acetilglucozamină (UDP-N-Ac-G).

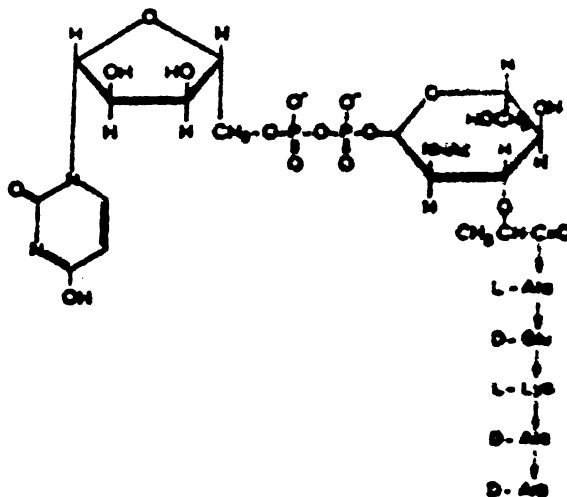
În continuare, UDP-N-acetilglucozamin-piruvil-enol-eterul (88), este redus enzimatic la acidul UDP-N-acetilmuramic. Această reacție este catalizată de către o altă enzimă, UDP-NAc-G enolpiruvil-reductaza.



(88)

Aminoacizii se adăuionează progresiv la acidul UDP-N-acetilmuramic, fiecare treaptă fiind catalizată de către o enzimă individuală, cu o specificitate foarte ridicată, atât pentru nucleotid, cât și pentru substraturile de acizi nucleici. Astfel, secvența peptidică este în întregime determinată de secvența enzimelor individuale care catalizează reacțiile de "adăugare" a resturilor de aminoacizi.

Etapa de biosinteză a precursorului peptidoglicanic, se încheie cu formarea UDP-N-acetilmuramic-pentapeptidului (89).



(89)

Dintre antibioticele uzuale, numai D-cicloserina intervine în această etapă, împiedicînd încorporarea ultimilor doi aminoacizi, fiind un inhibitor competitiv, specific atît și D-alanil-D-alanin-sintezei, cît și al D-alanil-racemazei [141, 142, 143].

Etapa II-a - Constă în utilizarea precursorilor de Uridin-nucleotide pentru a forma peptidoglicani lineari. Aceste macromolecule lineare se formează prin utilizarea simultană a UDP-N-acetilmuramil-peptidelor și a UDP-N-acetilglucozaminei [144, 145].

În această etapă de sinteză pot interfera trei antibiotice, Vancomicina, Ristocetina și Bacitracina [144]. Enzima care catalizează reacția biochimică de bază în formarea macromoleculilor peptidoglicanice lineare (peptidoglican-sinteza), este inhibată de aceste antibiotice. Mecanismul de acțiune a bacitracinei este mult mai complex, acționînd și la alte nivele, acest mecanism fiind încă incomplet elucidat.

Etapa III-a - Constă în realizarea de punți și rețele tridimensionale, în principal prin reacții de transpeptidare. Sistemul enzimatic, alcătuit din mai multe transpeptidaze specifice, prin intermediul cărora se realizează reticularea macromoleculilor peptidoglicanice lineare, poate fi inhibat de către peniciline și cefalosporine [146, 147].

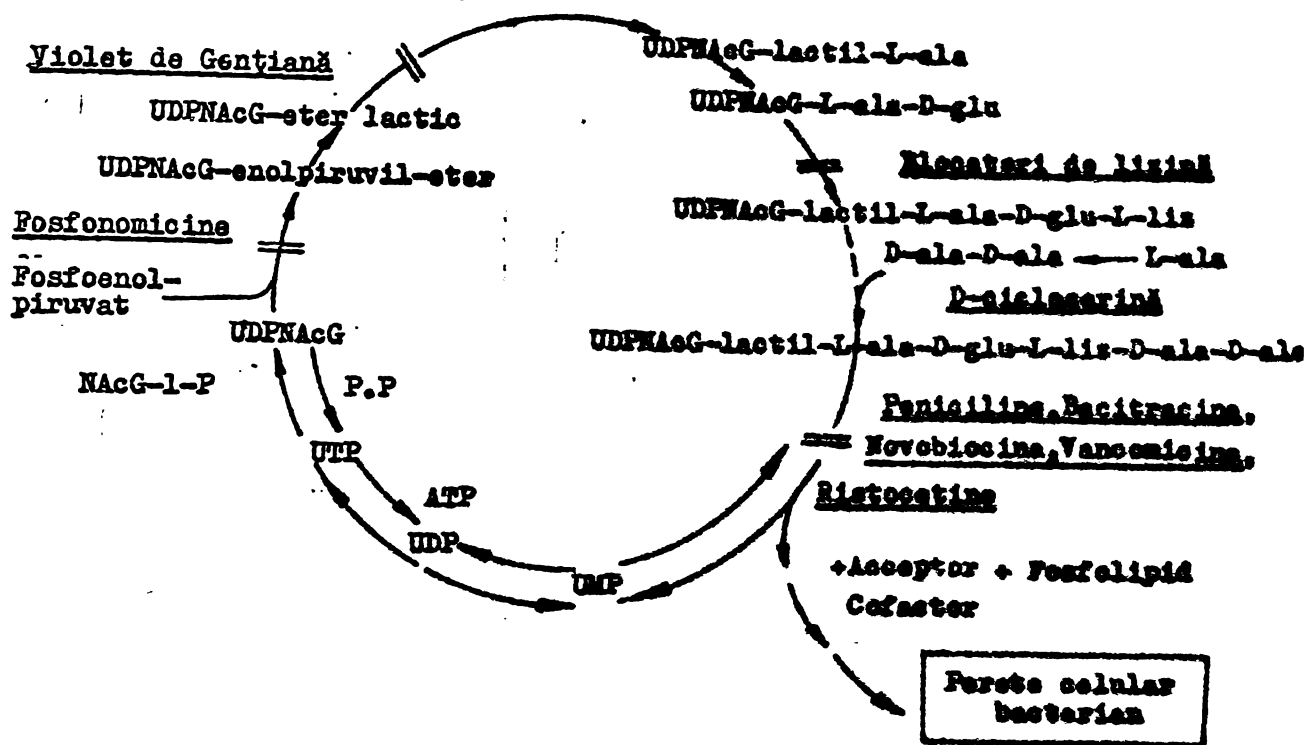


Fig. 25 - Ciclul de biosinteză a Uridin-difosfo-N-acetilmuramil-pentapeptidei (89).

5.4.1.2. Propuneri privind mecanismul de acțiune a fosfomicinelor asupra enzimei bacteriene

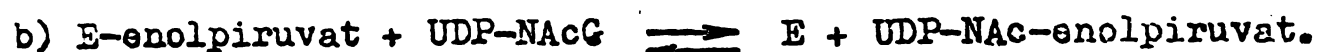
Dacă se admite că fosfomicina și omologii ei activi își exercită acțiunea bactericidă prin inhibarea Piruvat-Uridin-difosfo-N-acetilglucozamintransferazei, substanțele respective se încadrează alături de D-cicloserină, în grupa antibioticilor care interferează cu reacțiile enzimatiche din prima etapă de biosinteză a peretelui celular-sinteză precursorilor peptidoglicanici.

Spre deosebire însă de cicloserină sau substanțele blocatoare de lizină, care împiedică grefarea resturilor de aminoacizi pe scheletul de bază al acidului muramic, deci intervin în ultima secvență a biosintezei precursorilor, fosfomicinele blochează primele reacții ale lanțului, împiedicând formarea chiar a acidului muramic.

În ceea ce privește mecanismul de transfer al enol-piruvatului la molecula de UDP-Nac-G, este de remarcat faptul că

opre deosebite de majoritatea reacțiilor fosfoenolpiruvatului, în cazul de față structura enolică se păstrează după transfer. În literatura de specialitate [146, 147] se menționează un singur exemplu (biosinteza 3-enolpiruvilshikimat-5-fosfatului), unde structura enolică rămâne nealterată după un asemenea transfer enzimatic.

Unul dintre mecanismele de transfer posibile (comun pentru un număr de diverse transferaze), constă în formarea unui intermediar covalent între enzimă și grupul de transfer :



Din experiențele efectuate de Gunetilike [12] rezultă însă că reacția (a) de formare a complexului enzimă-substrat, nu are loc decât în prezența acceptorului UDP-NACG.

Această constatare sugerează fie un mecanism prin intermediul unui complex ternar (de tip enzimă-substrat-acceptor), fie o succesiune de două reacții, unde în prima etapă enzima ar forma un complex de adsorbție cu acceptorul, urmînd ca acest complex să reacționeze apoi cu substratul natural (fosfoenolpiruvatul).

Pentru explicarea modului de acțiune a fosfonomycinelor, pe baza studiului comparativ al structurilor substanțelor active, sintetizate în cadrul prezentei teze de doctorat, am formulat o nouă ipoteză privind mecanismul de transfer al restului de fosfoenolpiruvat.

Consider că mecanismul propus ar putea explica atît constatările lui Gunetilike [12], cît și condițiile structurale necesare pentru manifestarea unui efect antibiotic în cazul derivaților acizilor epoxifosfonici și fosfinici.

În elaborarea mecanismului propus de noi, am avut în vedere pe de o parte, experiențele efectuate Kaban și colab. [148] privind inhibarea ireversibilă a piruviltransferazei bacteriene de către fosfomicina, în prezența acceptorului natural, pe de altă parte, posibilitatea de inactivare a enzimei in vitro, prin tratare cu un reactiv specific pentru grupe sulfhidril libere, de exemplu cu N-maloimidă [149].

Aceste două constatări sugerează o reacție, în urma căreia fosfoenolpiruvatul se atașează covalent la nivelul porțiunii

active a enzimei, foarte probabil prin intermediul unui rest de cisteină.

În cazul fosfomicinelor, în prima fază a reacției, UDP-NAc-G, probabil joacă rolul unui cofactor, fără însă a reacționa covalent cu enzima sau cu substratul. Epoxipropilfosfonatul (sau fosfinatul) se poate aranja într-o asemenea poziție sterică, încât porțiunea donoare de protoni $H-H^+$ a enzimei (care asigură protonarea fosfoenolpiruvatului la C_2), să activeze ciclul epoxidic. Atacul nucleofil al sulfurii cisteinice la atomul de carbon C_2 al antibioticului, se aseamănă astfel cu o reacție de adiție a grupei sulfhidril la legătura $C_2 - O -$ în mod analog cu adiția aceleiași grupe SH la legătura $C=C$ a fosfoenolpiruvatului, în cazul substratului fiziologic.

Deosebirile sterice între fosfomicinele și substratul natural sînt evidente, în primul rînd prin absența în moleculele antibioticelor, a grupei carboxil, care în cazul substratului fiziologic în mod neîndoiește facilitează realizarea complexului cu enzima și pe seama unor interacțiuni electrostatice.

Astfel afinitatea fosfomicinelor față de Piruvil-transferază, reprezintă probabil un caz unic, excepțional, care se datorește nu atît unei asemănări a configurației sterice cu fosfoenolpiruvatul, ci în primul rînd, susceptibilității legăturii $C_2 - O -$ de a participa într-o reacție de adiție enzimatică.

Din aceleași considerente, fosfomicinele nu manifestă nici o activitate inhibitorie față de alte enzime, susceptibile la fosforilare fiziologică, sau chiar față de unele enzime care utilizează ca substrat fosfoenolpiruvatul (enolaze, piruvat-kinaze, fosfoenolpiruvat-carboxikinaze etc.).

În figura 26 este reprezentat schematic mecanismul probabil de inactivare a Uridin-difosfo-N-acetilglucozamin-transferazei de către fosfomicine, în comparație cu transferul enzimatic normal al substratului natural.

Pentru simplificare, acceptorul UDP-NAc-G a fost notat prin U-OH, iar complexul stabil enzimă-substrat, prin E-PEP (în cazul reacției fiziologice cu fosfoenolpiruvatul).

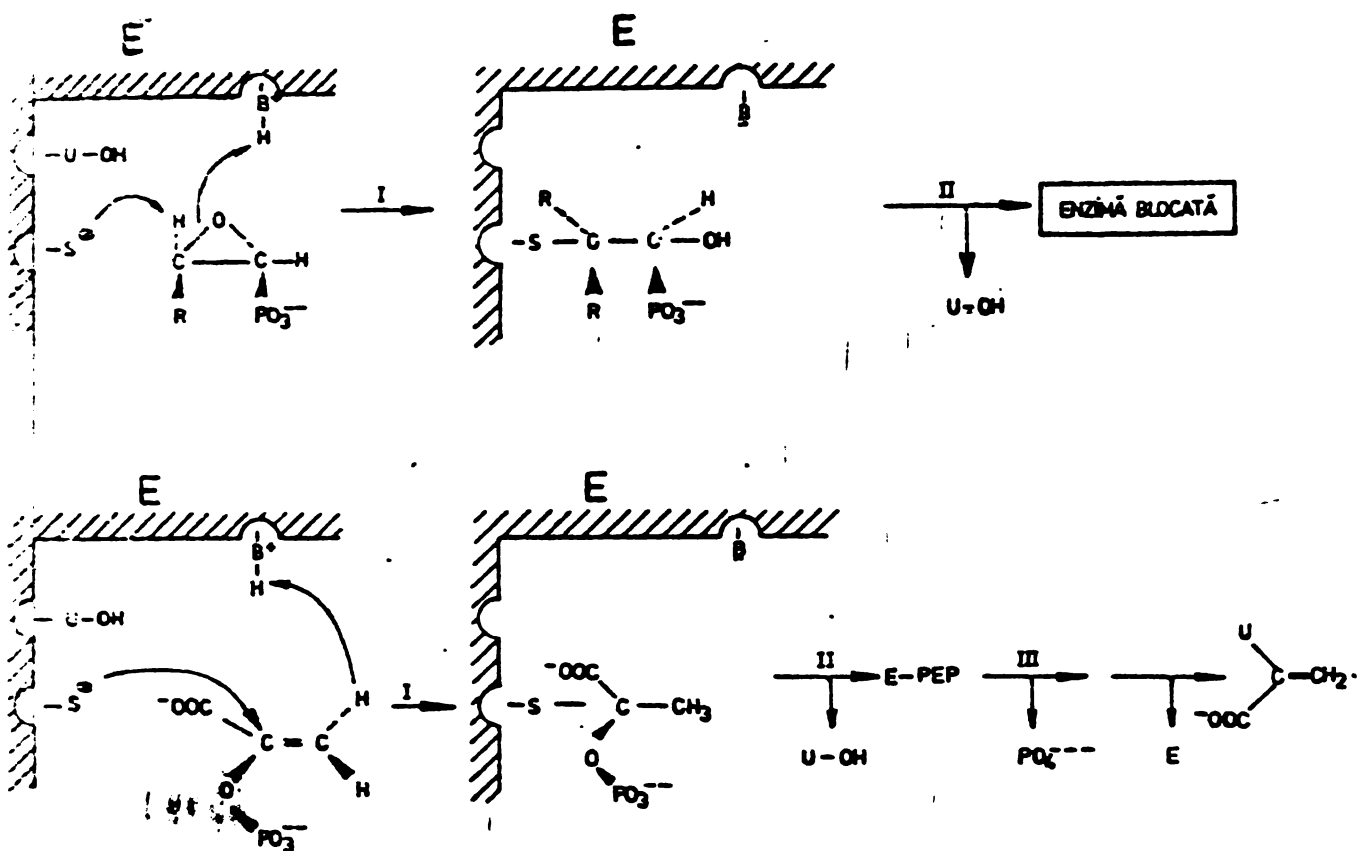


Fig. 26 - Reprezentarea schematică a mecanismului de interacțiune probabil între enzimă și substratul natural sau artificial (fosfonomice).

5.4.2. Relații structură-activitate antimicrobiană

Rezultatele obținute în urma testării proprietăților antimicrobiene și a toxicității compușilor sintetizați în cadrul prezentei teze de doctorat, permit formularea unor concluzii cu privire la anumite corelații ce ar putea exista între structura epoxifosfonaților sau fosfinaților și activitatea lor antibiotică.

Totodată, aceste corelații confirmă în linii generale valabilitatea ipotezei formulate privind mecanismul de acțiune a compușilor și permit stabilirea unor condiții structurale-limite pentru obținerea unor noi derivați, cu activitate antibiotică potențială. Sub acest aspect, observațiile ce se desprind din studiile efectuate, ar putea fi rezumate astfel :

5.4.2.1. Influența catenei de alchil purtătoare a ciclului oxiranic.

- Lungimea optimă a catenei de alchil purtătoare a ciclului oxiranic, este de 3 atomi de carbon. Epoxietil-derivații (60) manifestă încă o bună acțiune antibiotică, în timp ce în cazul epoxibutilfosfonatului (65) activitatea antimicrobiană este mult diminuată;

- Apariția unei nesaturări 2,3 în cazul epoxipropenilfosfonatului (52), sau substituția grupei metil cu un radical fenil (49), conduc la dispariția proprietăților antimicrobiene, în timp ce substituția OH (55), sau halogen (44), la atomul de carbon C₃, determină doar o scădere a activității;

- Substituția protonului oxiranic prin halogen la atomul de carbon C₂ (37, 38, 39), nu influențează în mod semnificativ activitatea antimicrobiană, iar unele specii bacteriene (Ex. Salmonelle), se pare că manifestă chiar o sensibilitate crescută față de acești derivați;

- Lungimea catenei, în general, nu influențează toxicitatea compușilor, substituția halogen însă contribuie în mod evident la scăderea valorilor DL₅₀ la șobolan, pe toate căile de administrare.

5.4.2.2. Influența poziției inelului oxiranic.

- În general compușii cei mai activi sînt derivații acizilor 1,2-epoxipropilfosfonic sau fosfinic, fără însă a depăși în mod semnificativ activitatea 1,2-epoxietil și mai ales a 2,3-epoxipropilfosfonaților sau fosfinaților;

- Substituția atomului de oxigen oxiranic printr-un atom de sulf, conduce la epitioderivați inactivi (67, 68), sau în orice caz la scăderea substanțială a activității antimicrobiene (66).

5.4.2.3. Influența radicalului alchil linear, legat de atomul de fosfor (în cazul fosfinaților).

Toți epoxietil-, sau epoxipropilfosfinații, conținând un radical alchil inferior, legat de atomul de fosfor, manifestă o activitate antibiotică comparabilă cu cea a epoxifosfonaților, cei mai activi fiind derivații acidului epoxipropilmetilfosfinic. Această activitate scade în mod practic nesemnificativ în cazul substituției radicalului metil, cu etil (69).

), în același timp însă, scade și toxicitatea compușilor sub formă de săruri, datorită micșorării conținutului de cation.

5.4.2.4. Influența cationului.

- Sub aspectul acțiunii antibiotice, natura cationului în cazul sărurilor active, nu exercită vreo influență observabilă;

- Toxicitatea compușilor este determinată de natura și conținutul relativ de cation; sub acest aspect cei mai puțin toxici sînt sărurile de sodiu ale acizilor epoxifosfinici și de o toxicitate ceva mai ridicată, sărurile de calciu, fără a se atinge însă nici în acest caz gradul de toxicitate al majorității antibioticelor de uz curent, cu spectru larg de acțiune (tetraciclinele, streptomina, kanamicina, penicilinele semi-sintetice etc.).

5.4.2.5. Activitatea antimicrobiană a antipozilor optici și a izomerilor cis-trans.

Aceste corelații au fost studiate numai în cazul 1,2-epoxipropilfosfonatilor, stabilind următoarele:

- activitatea antimicrobiană maximă aparține izomerului (-)-cis-1,2-epoxipropilfosfonat, antipodul optic (+) al acestuia prezentînd aproximativ $\frac{1}{8}$ din activitatea antibioticului natural;

- izomerul trans nu prezintă o activitate antimicrobiană comparabilă cu ceilalți compuși testați, deși în cazul anumitor culturi a determinat apariția netă a unor zone de inhibiție, ceea ce ar putea permite eventual utilizarea acestuia ca dezinfectant extern.

5.5. Aplicații practice

În literatura de specialitate sînt descrise numeroase aplicații terapeutice pentru fosfomicină, utilizată ca atare, sau în amestecuri sinergetice cu alte antibiotice cu spectru larg de acțiune.

În concepția actuală privind strategia și tactica utilizării antibioticelor, fosfomicina este considerată ca un antibiotic de rezervă, avînd ca indicații majore tratamentul infecțiilor cu germeni rezistenți la acțiunea antibioticelor de uz curent [150, 151, 152, 153] .

Față de un număr mare de germeni, dar în special față de anaerobi și Gram-negativi, fosfomicina s-a dovedit a fi superioară Penicilinei, tetraciclinei, cloranfenicolului, streptomicinei, eritromicinei, kanamicinei și cefalosporinelor semisintetice, sub aspectul spectrului de acțiune fiind comparabilă cu Gentamicina [154, 155].

Toate aceste antibiotice, însă pot constitui componente ale unor amestecuri sinergetice cu fosfomicina [156, 157]. De asemenea, au fost efectuate studii privind obținerea unor săruri ale fosfomicinei cu diverse substanțe bactericide, sau alte antibiotice cu caracter bazic (săruri cu 3-nitro-9-aminoacridină, săruri cu tetraciclină etc.) [158], făcând uz astfel, atât de proprietățile retard ale acestor combinații, cât și de acțiunea sinergetică a celor două componente individuale.

Pentru uzul terapeutic uman, se preferă administrarea perorală a sărurilor de sodiu sau de calciu ale fosfomicinei, deși nici administrarea parenterală nu este exclusă. De asemenea, pentru tratarea unor dermatoze de origine bacteriană sau infecții cutanate, fosfomicina intră în compoziția unor unguente și loțiuni [150, 151, 152].

Pentru uz veterinar, este recomandată administrarea aceluiași săruri solubile, introduse în apă sau alimente. Astfel, se citează [159], că fosfomicina administrată păsărilor în alimente, în doze de 75 - 100 g/tonă, protejează complet populația avicolă față de infecțiile cu *Pasteurella multocida* și *Salmonella gallinarum*.

Aceiași autori recomandă și dezinfectarea ouărilor prin spălarea într-o soluție apoasă de 1% fosfomicină (sare disodică), pentru distrugerea Salmonelilor.

În literatura de brevete [160, 161, 162] se recomandă folosirea fosfomicinei în soluții apoase pentru dezinfectarea sau sterilizarea instrumentelor și aparaturii medicale.

De asemenea, ca aplicații industriale, se recomandă utilizarea fosfomicinei pentru prevenirea sau combaterea dezvoltării coloniilor de microorganisme în bazinele de ape reziduale în industria alimentară, sau a apelor de spălare și a pastei de celuloză în industria hârtiei [163, 164].

Deși toate aceste aplicații se referă la fosfonamică, având în vedere activitatea și spectrul antimicrobian asemănătoare ale omologilor fosfonați și fosfinați, noi, descriși în prezenta teză de doctorat, aceștia pot fi folosiți probabil în aceleași aplicații, cu rezultate similare.

6. C O N C L U Z I I

În lucrarea prezentată, s-a studiat sinteza, proprietățile fizico-chimice și activitatea biologică a unor noi derivați ai acizilor epoxifosfonici și fosfinici, considerați apriori pe baza asemănărilor structurale cu Fosfomicina, ca având însușiri potențial antimicrobiene (antibiotice).

Pe baza sistematizării datelor dispersate în literatură, apărute pînă la sfîrșitul anului 1976, privind sinteza și proprietățile acizilor epoxifosfonici, au fost elaborate noi metode de obținere a unor omologi fosfonați și fosfinați ai acestora, cu scopul de a studia influența modificărilor de structură asupra proprietăților fizico-chimice și biologice pe de o parte, iar pe de altă parte, de a stabili anumite corelații între parametri structurali și activitatea antibiotică a compușilor sintetizați.

Din cercetările efectuate în cadrul prezentei teze de doctorat, s-au obținut următoarele rezultate noi, nedescrise în literatură :

6.1. S-a pus la punct o metodă de sinteză a Fosfomicinei, bazată pe izomerizarea acetilen-alenică a propargilfosfiților micști;

În cadrul cercetărilor efectuate în vederea elaborării acestei metode, s-a studiat și elucidat :

- influența radicalului alchil asupra randamentului de sinteză a fosfiților micști;

- influența temperaturii și naturii dizolvantului asupra vitezei de izomerizare acetilen-alenică;

- posibilitatea evitării izomerizării prototropice inverse a alénfosfonaților în propinilfosfonați;

- condițiile optime de hidrogenare a alénfosfonaților la cis-propenilfosfonați;

- condițiile optime de epoxidare a acidului cis-propenilfosfonic, sau esterilor și sărurilor acestuia, pentru obținerea unor derivați epoxifosfonici corespunzători;

6.2. Au fost elaborate metode noi de sinteză a acizilor epoxifosfonici, aplicate la sinteza Fosfomicinei, precum și a

unor epoxifosfonați și fosfinați cu structuri similare, bazate pe următoarele reacții :

- rearanjarea acetilen-alenică a propargildiclor-fosfitului și a bis-(dimetilamido)-propargilfosfitului;
- dehidrohalogenarea acizilor (⁺)-treo-1-halo-2-hidroxi-propilfosfonici, sau fosfinici și a esterilor acestora;
- dehidrohalogenarea acizilor (1-haloetoxi)-metilfosfonici și a esterilor acestora.

6.3. În scopul studierii efectului modificărilor structurale asupra activității biologice, s-au sintetizat următorii acizi epoxifosfonici :

- acidul 2,3-epoxipropilfosfonic (31);
- acizii 2-halo-1,2-epoxipropilfosfonici (Cl, 44; Br, 45);
- acidul 2-fenil-1,2-epoxietilfosfonic (49);
- acidul 1,2-epoxipropil-2-en-1-fosfonic (52);
- acidul 1,2-epoxi-3-hidroxi-propilfosfonic (55);
- acidul 1,2-epoxietilfosfonic (60);
- acidul 2,3-epoxibutilfosfonic (65).

6.4. În scopul urmării efectului modificării heteroatomului, asupra activității biologice, s-au sintetizat următorii epitioderivați :

- epitio-analogul Fosfonomicinei (66);
- epitio-analogul acidului 1,2-epoxietilfosfonic (68);
- epitio-analogul acidului 2,3-epoxipropilfosfonic (68).

6.5. S-au sintetizat următorii acizi epoxifosfonici, analogi ai unor fosfonați, descriși la capitolul 6.3. :

- acidul 1,2-epoxipropil-metilfosfinic (69 a);
- acidul 1,2-epoxipropil-etilfosfinic (69 b);
- acidul 2,3-epoxipropil-metilfosfinic (84);
- acidul 2,3-epoxipropil-etilfosfinic (85).

6.6. În vederea studierii unor proprietăți farmacocinetice (stabilitatea in vivo, absorbția și eliminarea), au fost sintetizați doi compuși reprezentativi, radioactivi, conținând ca atom marcat, P³² (Fosfonomicina, 86 și acidul 1,2-epoxipropil-metilfosfinic, 87);

6.7. Au fost efectuate studii spectrale (I.R., R.M.N. și U.V.) asupra produșilor finiți și intermediarilor din sintezele descrise mai sus, determinându-se parametri spectrali ai acestor clase de compuși ;

6.8. A fost efectuat un studiu detaliat, prin metode fizice moderne, privind compoziția fracțiunii de "cloruri grele" rezultate de la sinteza industrială a clorurii de alil și s-a pus la punct o metodă de sinteza cu posibilitați de aplicare la scară productivă pentru obținerea Fosfomicinei și a altor epoxifosfonați sau fosfinați cu activitate antimicrobiană, utilizând ca materii prime aceste fracțiuni, procedeul propus constituind o nouă posibilitate de valorificare superioară a unor subproduse și deșeuri industriale ;

6.9. S-a studiat eficiența in vitro a compușilor sintetizați prin determinarea concentrațiilor minime active față de un număr de 14 tulpini aparținând diferitelor specii bacteriene enteropatogene, obținând rezultate promițătoare, unii derivați putând fi comparați favorabil sub aspectul activității și al spectrului de acțiune, cu Tetraciclina și Cloramfenicolul ;

6.10. S-a studiat toxicitatea compușilor sintetizați pe diverse căi de administrare la animale de experiență; valorile determinate situează acești compuși în domeniul substanțelor foarte puțin toxice (practic netoxice);

6.11. S-au studiat relațiile dintre structura și activitatea biologică a compușilor sintetizați - insistându-se în special asupra influenței structurii catenei purtătoare a ciclului oxiranic, naturii heterociclului și a restului de acid al fosforului; Corelațiile stabilite, pot servi la orientarea dezvoltării cercetărilor în domeniul acestor noi clase de compuși, cu proprietăți potențial antibiotice;

6.12. S-a studiat activitatea anticolinesterazică a compușilor sintetizați, demonstrându-se, contrar unor presupuneri exprimate în literatură cu privire la acțiunea antiensimatică generală a Fosfomicinei, ca nici unul dintre epoxifosfonații și fosfinații testați, nu manifesta proprietăți de inhibitor competitiv față de această enzimă;

6.13. Pe baza studiilor enunțate, se propune un mecanism de acțiune biochimică a epoxifosfonaților și fosfinaților sintetizați, ca inhibitori selectivi ai Uridin-difosfo-N-acetilglucozamin-transferazei, între-o fază incipientă a ciclului de biosinteză a componentilor pereților celulari bacterieni;

6.14. Se propun aplicații practice pentru unii compuși sintetizați (forme medicamentoase pentru uz uman și veterinar).

6.15. În cadrul prezentei teze de doctorat, s-au sintetizat și caracterizat un număr de 36 compuși noi, nedescrși în literatură, din care 17 substanțe finite, studiate și sub aspectul activității biologice.

7. PARTEA EXPERIMENTALA

7.1. Acidul cis-1,2-epoxipropilfosfonic și sărurile acestuia (1)

Epoxidarea acidului (2) cu apă oxigenată

La o soluție de 12,2 g (0,1 moli) acid cis-propenil-1-fosfonic (2), în 100 ml propanol, se adaugă 7,25 g (0,06 moli) (+)- α -feniletilamină, apoi o cantitate suficientă de trietilamină (aproximativ 5,6 g - 0,05 moli) pentru a ajusta pH-ul soluției la valoarea de 5,8 - 6,0.

La această soluție se adaugă 0,5 g wolfram de sodiu dihidrat și 0,1 g complexon II (sarea disodică a acidului etilendiaminotetraacetic), în 5 ml apă distilată.

Soluția se tratează în picături și sub agitare, cu 15,8 ml perhidrol, timp de 20 minute, menținând temperatura soluției la 50-55°C (reacția este exotermă). După adăugarea perhidrolului, amestecul se mai agită timp de 1 oră la 60°C (la încălzire).

Soluția se răcește apoi la -10°C și se menține la această temperatură timp de 1 oră, pentru a iniția cristalizarea, apoi se agită timp de 2 ore într-o baie de gheață, cu sare la o temperatură de aproximativ -5°C.

Produsul solid, microcristalin, astfel obținut, se filtrează și se spală pe filtru de 3 ori cu câte 10 ml propanol rece. După uscare într-o etuvă de vid, la 45°C și 100 mm.Hg., se obțin 16 g sare, având o puritate optică de 94%.

Pentru purificare, sarea se dizolvă în 80 ml propanol cald (80°C), soluția se agită cu 0,5 g cărbune animal, apoi se filtrează la cald.

La acest filtrat se adaugă 7,8 ml apă caldă (60-70°C), și se lasă să se răcească lent, la temperatura camerei, când începe cristalizarea monohidratului.

După agitarea amestecului timp de încă 2 ore la 0°C, produsul se filtrează și se spală de 3 ori cu câte 10 ml propanol rece.

Rezultă (după uscare), 12,1 g sare monobazică - monohidrat (Randament 43,65%). P_t : 130 - 131°C (dese)

$C_{11}H_{16}NO_4P \cdot H_2O$ (277) Calc. C:47,64; H:7,27; N:5,05; P:11,17.
Găsit. C:47,70; H:7,05; N:5,20; P:11,05.

$[\alpha]_D^{25} = -2,7$ (C 5%; H_2O);

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}): ν (epox) 848, 870; ν (P=O) 1244.

Spectrul R.M.N. ($CD_3COO_3-D_2O$, δ , ppm): 1,48 (d, 3 H; CH_3);
2,84 (d, 1 H, CH-P).

Epoxidarea acidului (2) cu acid peracetic

La o soluție formată din 12,2 g (0,1 moli) acid (2) în 50 ml acid acetic glacial, se adaugă 6,7 g (0,1 moli) acid peracetic. Amestecul se agită timp de 3 ore la temperatura camerei, apoi se adaugă 1 g bisulfid de sodiu în 10 ml apă și soluția se evaporă la sec pe o baie de apă, sub presiune redusă (temperatura băii 55 - 60°C).

Reziduul se reia cu 20 ml piridină și se tratează la rece cu 25,75 g (0,25 moli) clorură de tionil. Amestecul de reacție se menține la temperatura camerei timp de 12 ore, apoi se elimină componentele volatile la presiune scăzută. Reziduul se tratează sub agitare și răcire, cu 20 g (0,5 moli) hidroxid de sodiu în 50 ml apă distilată. Menținând amestecul de reacție la 0-5°C, timp de 2 ore, se depune sarea disodică a acidului (+)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic, sub formă de pulbere albă, microcristalină, care se usucă la 45°C, la presiune redusă. Se obține 14,8 g produs, $P_t = 174^\circ C$. (Randament: 81,31%).

$C_5H_5O_3PNa_2$ (182) Calc. C:32,96; H:2,74; O:26,37.
Găsit. C:33,08; H:2,68; O:26,44.

Spectrele I.R. (ν epoxid; ν P=O; ν P-C) și R.M.N. (δ epoxid) sînt similare cu cele ale sării de (-) α -feniletilamoniu, descrise mai sus.

Dehidroclorurarea acidului (+)-treo-(1-clor-2-hidroxi-propil)-fosfonic

La o soluție formată din 7,175 g (0,05 moli) acid (+)-treo-(1-clor-2-hidroxi-propil)-fosfonic (24), în 15 ml apă distilată, sub agitare și răcire (baie de apă cu gheață), se adaugă 33,2 ml soluție NaOH 16 N.

Amestecul de reacție se mai agită la temperatura camerei timp de încă 2 ore, apoi se reintroduce din nou în baia de răcire, se diluiază cu 25 ml apă distilată și se ajustează pH-ul soluției la valoarea de 8,5-9, prin adăugarea de acid clorhidric concentrat, în picături.

Soluția se concentrează apoi la presiune redusă, pînă la aproximativ jumătate din volumul inițial și se răcește într-o baie de gheață. Solidul precipitat se filtrează și se usucă. Rezultă 10,12 g produs brut, impurificat cu clorură de sodiu. Pentru purificare, sarea brută se redizolvă în 15 ml propanol, soluția se filtrează, apoi se adaugă 3 ml apă distilată și se răcește la +5°C sub agitare. Depozitul solid, care se obține după aproximativ 2 ore, se filtrează și se usucă. Se obțin 6,14 g produs pur, sub formă de pulbere albă, amorfă. $P_t = 172 - 173^\circ\text{C}$. Prin păstrarea soluției mamă la frigider, peste noapte, se mai obțin încă 1,22 g produs, cu un randament total de 80,88%.

Analiza elementară, spectrele I.R. și R.M.N. sînt identice cu cele ale produsului obținut prin metoda anterioară.

În mod similar a fost obținută și sarea disodică a acidului (-)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic, pornind de la acidul (+)-trans-(1-clor-2-hidroxipropil)-fosfonic. (Obținerea acestui intermediar este descrisă la prepararea acidului 24).

Dehidrobromurarea acidului 1-brom-2-hidroxi-propilfosfonic

La o soluție de 12,2 g (0,1 moli) acid cis-propenil-1-fosfonic (2), în 25 ml apă distilată se adaugă 20 g (0,2 moli) hidroxid de sodiu în 25 ml apă, sub continuă agitare și răcire. Soluția astfel obținută, conținând sarea disodică a acidului (2), se adaugă la un amestec de 44,5 g (0,25 moli) N-Bromsuccinimidă în 50 ml acid sulfuric 10%. Amestecul se agită la temperatura camerei timp de 30 minute, apoi se lasă în repaus peste noapte, la întuneric și se filtrează. Filtratul, conținând sarea disodică a acidului 1-brom-2-hidroxipropilfosfonic, se tratează sub agitare cu 66 ml (0,2 moli) soluție hidroxid de sodiu 2,5 N.

Soluția se concentrează la presiune redusă pînă la aproximativ 50 ml, se răcește la 0°C, iar solidul, reprezentînd sarea disodică brută a acidului (1), impurificată cu bromură de sodiu, se izolează prin filtrare. După purificarea produsului brut, în mod similar cu procedeul descris mai sus, se obțin

11,62 g (randament 63,84%) produs identic, cu cel obținut prin metodele anterioare.

În mod similar, utilizând în loc de hidroxid de sodiu, cantități corespunzătoare de hidroxid de calciu, a fost obținută sarea de calciu a acidului (2). $P_t > 250^\circ\text{C}$ (desc).

Deblocarea grupelor esterice ale cis-1,2-epoxipropil-O- alchilfosfonatilor

O soluție de 16,6 g (0,1 moli) dimetilester (12) în 20 ml trimetilclorsilan, se refluxează timp de 10 ore, apoi soluția se extrage de trei ori cu câte 10 ml apă distilată. Soluțiile apoase reunite, conținând acidul (1), se tratează la rece, sub agitare, cu 40 ml soluție NaOH 5 N, care se adaugă în picături, în timp de aproximativ 1 oră. Soluția astfel obținută, se concentrează pe baie de apă, la presiune redusă, pînă la obținerea unui lichid de consistență siruposă (volumul final al soluției aproximativ 15 ml). Menținînd soluția concentrată la frigider, timp de 12 ore, se obțin 13,35 g sare disodică a acidului (1) sub formă de pulbere albă, microcristalină (Randament 63%), avînd constante fizice identice cu cele descrise anterior.

Separarea enantiomerului (-) din acidul racemic (1)

Soluțiile apoase reunite, obținute în rețeta de mai sus conținînd acidul racemic (1), se amestecă cu o soluție de 7,25 g (0,06 moli) (+)- α feniletilamină și 5,6 g (0,05 moli) trietilamină în 20 ml metanol. Amestecul se evaporă la sec, la presiune redusă, reziduul se reia cu 50 ml metanol, se filtrează, iar filtratul se concentrează prin evaporare la presiune redusă, pînă la un volum de 25 ml.

Soluția concentrată se tratează cu 5 ml apă distilată și se răcește la 0°C sub agitare, timp de 1 oră. Produsul ce se depune, se filtrează rapid, la rece și se recrystalizează din 10 ml metanol. Se obțin 4,17 g sare de (+)-feniletilamoniu a acidului (-)(1). Randament: 45%; $P_t = 138^\circ\text{C}$ (sare monobazică-monohidrat).

O cantitate de 4 g sare, dizolvată în 10 ml metanol, se agită într-un pahar, răcit la 0°C , cu 30 g rășină schimbătoare de ioni "Dowex-50" (H^+), în 50 ml metanol. Suspensia se filtrează, iar din filtrat, prin tratare cu 2,3 g acetat de calciu, după concentrare și răcire, se izolează prin filtrare,

1,94 g (randament 84%) sare de calciu a acidului (-)(1). $P_t > 250^\circ\text{C}$ (desc).

In mod similar a fost obținută și sarea mono și disodică

7.1.1. Sinteza materiilor prime și intermediare.

Acidul cis-propenil-1-fosfonic (2)

A fost preparat prin mai multe variante, obținând în toate cazurile produse identice.

A.- Intr-un balon cu 4 gîturî de 1 l, prevăzut cu agitator mecanic, pîlnie de picurare, termometrul de imersie și un refrigerent descendent cu balon de culegere a distilatului și un tub de cauciuc pentru eliminarea gazelor, adaptat la balonul de culegere, se introduc 8-10 g acid cis-propenilfosfonic obținut anterior și 100 ml soluție benzenică, conținînd 2 a.

Amestecul se încălzește sub agitare, la reflux, cînd începe scindarea grupelor terț-butil, cu degajare intensă de izobutilenă.

Restul de soluție benzenică se adaugă din pîlnia de picurare în aproximativ 2 ore, cu distilarea simultană a benzenului, cu o asemenea viteză, încît volumul amestecului din balon să nu depășească 250 - 300 ml (spumare intensă).

După adăugarea întregului volum de soluție benzenică și distilarea în cea mai mare parte a solventului, urmele de benzen se elimină la presiune redusă. Se obține acidul 2 sub formă de lichid uleios, vîscos, de culoare brună, care uneori cristalizează la păstrare mai îndelungată.

Acidul brut astfel obținut, are un conținut de componentă etilenică de 85 - 90% (determinat prin titrare cu brom). Randamentul total, în produs brut față de alcoolul propargilic, este de 83%.

B.- Di(terț-butil) esterul (2 a) se tratează cu o cantitate catalitică de HCl concentrat (1,5 - 2 ml HCl/100 g ester). Amestecul se încălzește pe o baie de apă, pînă cînd practic încetează degajarea de izobutilenă. Degajarea de gaze este relativ slabă la început, apoi devine extrem de viguroasă.

Randamentul în acid brut, obținut prin această metodă, este similar cu cel realizat prin metoda A, avînd însă un conținut de componentă etilenică ceva mai scăzut (80 - 82%).

C.- 50 g di(n-butil)-cis-propenil-1-fosfonat, se fierbe la reflux în 100 ml HCl concentrat, timp de 20 ore, într-o baie de ulei, avînd temperatura de 110-112°C. Amestecul de reacție se lasă să se răcească la temperatura camerei, apoi apa în exces se îndepărtează la presiune scăzută. Reziduu se tratează cu 300 ml apă și se repetă eliminarea apei la presiune scăzută.

Se obțin 30,95 g reziduu oleios vîscos, de culoare brună, reprezentînd acidul 2 brut.

D.- 16,4 g (0,1 moli) sare disodică a acidului propinil-1-fosfonic (3), se dizolvă în 400 ml apă distilată, iar la soluția astfel obținută se adaugă 22,82 ml piperidină, 1,15 g acetat de zinc și 4,1 g nichel Raney. Amestecul este hidrogenat la o presiune de 1,5 kgf/cm². Cantitatea teoretică de hidrogen necesară (2240 ml) se absoarbe în aproximativ 8 ore. Catalizatorul se îndepărtează prin filtrare, iar soluția apoasă se trece printr-o coloană lungă de 50 cm, conținînd 100 g schimbători de ioni "Dowex-50" (H⁺) cu o viteză de 150 ml/oră. Coloana se eluiază cu 500 ml apă distilată. Soluțiile de eluat reunite se concentrează la presiune scăzută, pîna la eliminarea totală a apei. Ultimele cantități de apă sînt eliminate prin distilare azeotropă cu 50 ml benzen, iar urmele de benzen eliminate într-un exicator de vid.

Se obțin 15,56 g (84,6%) acid 2 în stare relativ pură.

Purificarea acidului cis-propenil-1-fosfonic

Aproximativ 10 g acid (2) brut, obținut prin metodele A, B, C sau D, sub formă de ulei vîscos, de culoare închisă, se dizolvă în 50 ml eter etilic, iar soluția astfel formată se extrage de 3 ori cu cîte 25 ml apă. După evaporare la presiune redusă a extractelor apoase reunite, se obțin 5,54 g lichid oleios, mobil, de culoare galben-pal.

Prin redizolvarea uleiului în 30 ml eter, extracția soluției eterice cu 20 ml apă și îndepărtarea apei în vid, se obțin 4,88 g acid 2, practic de puritate analitică. După cîteva zile, uleiul se solidifică într-o masă cereasă, cu structură microcristalină. P_t : 52 - 54°C.

De asemenea, acidul (2) poate fi purificat prin intermediul sării de monobenzilamoniu P_t = 154 - 156°C (din EtOH).

Prin trecerea unei soluții apoase a sării de monobenzilamoniu pe o coloană cu schimbător de ioni Amberlit I.R.-120, eluare cu apă și eliminarea apei în vid, se obține acidul (2) sub formă de solid amorf, $P_t = 56 - 58^\circ\text{C}$.

$\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3\text{P}$ (122) Calc.: C:29,50; H:5,73; O:39,34; P:25,43.

Găsit: C:29,46; H:5,84; O:39,40; P:25,11.

Spectrul I.R. (Nujol, cm^{-1}): ν (cis-C=C-) 1631;

ν (PO) 1250;

Spectrul RMN ($\text{CD}_3\text{BOCD}_3 + \text{D}_2\text{O}$, δ , ppm): 1,93(m, 1 CH_3);

5,7(m, 1 H din CH-P);

6,77 (m, 1 H din -CH=); 9,66 (s, 2 OH).

Di-(tert-butil)-cis-propenil-1-fosfonatul (2 a)

1 litru soluție benzenică uscată, conținând di-(tert-butil)-propadienilfosfonat (13) se tratează cu 4,5 g catalizator Lindlar modificat (89) și se hidrogenează la presiunea de 1,1 kgf/cm^2 , la temperatura camerei. Cantitatea teoretică de H_2 a fost absorbită în aproximativ 4 ore. Catalizatorul se îndepărtează prin filtrare, iar soluția benzenică se utilizează ca atare în etapa de deblocare.

O probă brută, obținută prin evaporarea solventului, se caracterizează în I.R. printr-o bandă puternică la 1629 cm^{-1} , caracteristică cis-olefinei, iar absența dubletului alenic de la $1955 - 1983 \text{ cm}^{-1}$ indică reducerea completă.

Pentru caracterizarea produsului, se prepară o probă analitică, prin distilare la presiune redusă, $P_f = 53-54^\circ\text{C}/0,5 \text{ mm}$.

$\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{P}$ (234,08) Calc.: C:56,39; H:9,85; O:20,52; P:13,24.

Găsit: C:56,55; H:9,91; O:20,42; P:13,20.

Spectrul I.R.: (CCl_4 , cm^{-1}): ν (cis C=C-) 1629;

PO 1253; ν (P-O-C) 1040; δ tert. Bu 1380.

Sarea disodică a acidului metilacetilenfosfonic (3)

Un amestec constând din 46,4 g (0,2 moli) di-(tert-butil)-propadienilfosfonat în 250 ml benzen și 250 ml soluție NaOH 2 N, se fierbe la reflux timp de 6 ore. Se lasă amestecul să se răcească la temperatura camerei, se separă stratul organic, iar stratul apos se acidulează cu HCl diluat, apoi se evaporă apa la presiune redusă.

Reziduul solid, semicristalin, se dizolvă în 150 ml

propanol, se filtrează pentru îndepărtarea sărurilor anorganice, iar filtratul se evaporă la presiune redusă. Se obțin 28,96 g (68,3%) cristale albe translucide, $P_t = 51^\circ\text{C}$.

O probă analitică, obținută prin trecerea în sare de dicitlohexilamoniu ($P_t = 147^\circ\text{C}$), apoi regenerarea acidului prin trecerea soluției apoase a sării pe o coloană cu schimbător de ioni Dowex-50, prezintă $P_t = 55,5 - 56^\circ\text{C}$.

În mod similar se poate utiliza în locul di-(tert-butil)-propadienilfosforatului oricare dintre esterii sau bis-(dimetilamida) acidului propadienilfosfonic.

$\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3\text{PNa}_2$ (164) Calc. : C:21,95; H:1,89; O:29,27.
Găsit : C:22,12; H:1,73; O:29,88.

Spectrul I.R. (KBr; cm^{-1}) : ν ($\text{CH}_3\text{-C=}$) 2160; ν (P=O) 1250.

Spectrul R.M.N. ($\text{CD}_3\text{COCD}_3 + \text{D}_2\text{O}$, δ , ppm): 1,90(d, 1 CH_3 ,
($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{P}$) $J_{\text{HP}} = 3,5$ Hz)
9,46 (s, 2 OH).

Obținerea metilacetilenfosforatului disodic (3)
folosind concentrate brute de diclorpropene din deseuri
industriale

a). Obținerea amestecului de cloralcooli

1 kg. de fracțiuni "cloruri grele" (Nematocide), conținând (în % g): 1,2-diclorpropan 26; 2,3-diclorpropenă 9; 1,3-cis-diclorpropenă 44; 1,3-trans-diclorpropenă 16; clorură de alil 3; cloruri ușoare 0,5; alte fracțiuni C_3 clorurate 1,5; se distilă pe o coloană cu 24 talere teoretice, culegând fracțiunea ce distilă în intervalul de $100 - 105^\circ\text{C}$. Se obțin 685 g distilat cu compoziția, în % g (determinată gazcromatografic): clorură de alil 1,55; 2,3-diclorpropenă 4,22; cis-1,3-diclorpropenă 68,72; trans-1,3-diclorpropenă 23,48; 1,2-diclorpropan 1,06; alte fracțiuni C_3 clorurate 0,7.

100 g din acest distilat, se fierb la reflux timp de 2,5 ore în 525 ml soluție Na_2CO_3 10%.

După răcire, soluția se neutralizează cu HCl 10%, se extrage cu 500 ml eter (în 4 porțiuni de câte 125 ml), extractele eterice reunite se usucă pe MgSO_4 , se evaporă solventul. Se obțin 66 g amestec de cloralcooli și alcooli, conținând în procente (% g): prop-1-en-3-ol: 1,40; 2-clor-prop-2-en-1-ol: 5,02; cis-3-clor-prop-2-en-1-ol: 64,39; trans-3-clor-prop-2-en-1-ol: 25,29; alți alcooli și cloralcooli C_3 : 3,9.

b). Obținerea soluției de alcool propargilic

Soluția apoasă de cloralecolii, obținută după hidrocliză, în moduli descris mai sus, se concentrează la un volum de 350 ml, apoi se adaugă 100 ml soluție NaOH 50% și se refluxează amestecul timp de 2 ore. După răcire, soluția se acidulează cu HCl concențrată până la pH = 5,8 - 6,2, se filtrează și se extrage într-o instalație continuă, cu 350 ml eter butilic. Extractul eteric se amestecă pe Na_2CO_3 anhidru, iar dintr-o alicotă de 100 ml soluție se evaporă solventul. Se obțin 11,6 g reziduu lichid, având compoziția în procente (determinată gazcromatografic): prop-1-en-3-ol: 1,07; 2-clor-prop-2-en-1-ol: 8,61; alcool propargilic 58,78; cis-3-clor-prop-2-en-1-ol: 7,11; trans-3-clor-prop-2-en-1-ol: 14,07; alți alcooli și impurități organice neidentificate: 9,46.

Randament total în alcool propargilic, față de cis-1,3-diclorpropenă din concentrat: 69,45%. (Pe baza conținutului alcool propargilic în soluție).

c). Prepararea propadienilfosfonatilor miesti

La 1750 ml soluție de alcooli în dibutyleter, uscată pe Na_2CO_3 anhidru, obținută în moduli descris mai sus, se adaugă cu agitare și răcire 447,72 g (476 ml, 3 moli) dietilamiliind în 500 ml dibutyleter, apoi, în porțiuni mici, o soluție de 138 g (37,47 ml, 1 mol) triclorura de fosfor în 250 ml dibutyleter. Reacția se conduce sub agitare și răcire eficientă, astfel ca temperatura amestecului să nu depășească $+5^\circ\text{C}$.

După adăugarea reactanților, amestecul se mai agită la rece, apoi 1 oră la temperatura camerei și în sfârșit, 3 ore la $60 - 70^\circ\text{C}$. După răcirea amestecului la 25°C , se adaugă sub agitare, 0,5 l apă, până la dizolvarea completă a clorurii de dietilamiliind format; se separă stratul organic, conținând amestecul de propadienilfosfonați.

d). Obținerea sării disodice a acidului metil-acetilenfosfonic (2)

Soluția de propadienilfosfonați se tratează cu 200 ml soluție NaOH 2 N, iar amestecul se fierbe la reflux timp de 1 oră. După răcirea, se separă stratul organic, iar soluția apoasă se neutralizează cu HCl diluat până la pH = 2,5 - 3,2, apoi se concentrează prin evaporarea apei la presiune redusă, până la obținerea unei mase cristaline semisolide. După răcire, amestecul

filtrează, solidul de pe filtru se dizolvă în 600 ml alcool izopropilic și se filtrează din nou pentru îndepărtarea sărurilor anorganice. După evaporarea soluției alcoolice la presiune redusă, se obțin 92,6 g cristale translucide, $P_t = 50 - 51^\circ\text{C}$, având caracteristici spectrale I.R. și R.M.N. identice cu proba (3) preparată din reactivi puri.

Acidul α -hidroximetilfosfonic (9)

La 137,5 g (1 mol) PCl_3 , încălzit la $45 - 50^\circ\text{C}$, se adaugă sub agitare, în porțiuni mici și în condiții anhidre, 90 g paraformaldehidă. După fiecare porțiune adăugată, amestecul se încălzește timp de 10 - 15 minute la 80°C , după care se lasă să se răcească din nou la $45 - 50^\circ\text{C}$, când se adaugă o nouă porțiune.

După adăugarea întregii cantități de paraformaldehidă, amestecul se mai agită încă 5 ore la $75 - 80^\circ\text{C}$. Agitarea trebuie să fie viguroasă, mai ales la început, când se formează un amestec de consistență păstoasă, care după aproximativ 30 minute - 1 oră, se fluidizează, apoi se transformă într-un lichid uleios, limpede. Conținutul balonului se lasă în repaus peste noapte, apoi se toarnă într-un pahar Berzelius, în 1 litru apă cu gheață și se agită cu o baghetă pînă cînd lichidul uleios se dizolvă complet. Soluția apoasă se filtrează, apoi se concentrează la presiune scăzută, cu un volum egal de EtOH și se supune din nou la distilare (la presiune normală), cînd odată cu EtOH se elimină și cantitățile de formaldehidă nereacționată, sub formă de dietilacetat.

Reziidul se evaporă la 3-4 mm și la o temperatură de $80 - 90^\circ\text{C}$, pînă la greutate constantă. Se obține un produs de culoarea și consistența mierei, care amestecat cu acetat de etil- etanol (1 : 1), conduce la un produs cristalin, alb, $P_t = 84 - 86^\circ\text{C}$.

Produsul se purifică prin dizolvare în etanol și reprecipitare cu acetat de etil. $P_t = 89^\circ\text{C}$.

Rezultă 88 g produs purificat (78,5%).

$\text{CH}_2\text{O}_4\text{P}$ (112) Calc. : C:10,72; H:4,46; O:57,14; P:27,68.
Gasit : C:10,81; H:4,38; O:57,15; P:27,80.

Spectrul I.R. (pastilă KBr, cm^{-1}) : ν (P=O) 1270; ν (P-OH) 2580.
Spectrul R.M.N. ($\text{DMSO} + \text{D}_2\text{O}$, δ , ppm) : 3,60 (d, 1 CH_2 , $J_{\text{HP}} = 7 \text{ Hz}$)
9,3 (s, 2 OH).

Dimetilesterul acidului α -hidroximetilfosfonic (10 a)

11,2 g (0,1 moli) acid α -hidroximetilfosfonic (9) se suspendă în 250 ml eter anhidru, apoi amestecul se tratează la rece cu 8,61 g (0,205 moli) diazometan în 300 ml eter (Soluție eterică cu titrul de 0,0344 g/ml diazometan). După adăugarea a 50 ml benzen, eterul se evaporă pe o baie de apă, iar soluția benzenică se utilizează ca atare pentru obținerea dimetilesterilor acizilor (1-halogen-oxi)-metilfosfonic (11).

Soluția benzenică conține 0,269 g/ml dimetilester (randament 96,2%), determinat cromatografic.

Dietilesterul acidului α -hidroximetilfosfonic (10 b)

Un amestec format din 41,4 g dietilfosfit (0,3 moli), 9 g paraformaldehidă și 1 g trietilamină, se încălzește, sub agitare, la 80 - 85°C, timp de 1 oră. După răcire, amestecul se fracționează la presiune redusă, obținând 45,46 (91,3%) dietil-ester, $P_f = 129 - 131^\circ\text{C}/5 \text{ mm}$.

$$d_4^{20} = 0,9849 ; n_D^{20} = 1,4370.$$

$\text{C}_5\text{H}_{13}\text{O}_4\text{P}$ (168) Calc. : C:35,71; H:7,74; O:38,09; P:18,45.
Găsit : C:36,01; H:7,82; O:38,21; P:18,61.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) : ν (P=O) 1240; ν (POC) 980; 1040.

Acidul (1-bromoxi)-metilfosfonic (11 a)

48,4 g (1,1 moli) acetaldehidă și 112 g (1 mol) acid hidroximetilfosfonic (9) se dizolvă în 500 ml benzen, apoi amestecul, sub agitare, se saturează la 5 - 10°C cu aer uscat, obținând o soluție limpede, de culoare galbenă.

Amestecul se menține la temperatura camerei 24 ore, apoi solventul se elimină la presiune scăzută, iar reziduul se spală de 3 ori cu câte 100 ml benzen, eliminând solventul de fiecare dată la presiune scăzută, pentru a îndepărta urmele de HBr nereacționat. Se obține un reziduu uleios, de culoare galbenă.

În mod similar se obține acidul (1-cloroxi)-metilfosfonic (11), utilizând în loc de acid bromhidric, un curent de acid clorhidric gazos, uscat.

În ambele cazuri, produsele se utilizează ca atare în etapa următoare (obținerea epoxidului 1).

Dimetilesterul acidului (1-cloretoxi)-metilfosfonic. (11)

La 520 ml soluție benzenică a dimetilesterului (10 a), conținând 520 g (1 mol) substanță, se adaugă 48,5 g (1,1 moli) acetaldehidă. Soluția limpede astfel obținută, se saturează la 10 - 15°C, cu acid clorhidric gazos, uscat. Amestecul se menține la temperatura camerei timp de 12 ore; se elimină solventul și acidul clorhidric dizolvat, la presiune redusă, iar reziduul se spală de 3 ori cu câte 150 ml benzen; solventul eliminându-se de fiecare dată la presiune redusă, pentru a îndepărta urmele de acid clorhidric. Se obțin 180 g reziduu uleios, de culoare galbenă, care se utilizează ca atare în etapa următoare (obținerea epoxifosfonatului 12).

Spectral I.R.: (CCl_4 ; cm^{-1}): ν (P=O) 1260; ν (POC) 980; 1020.

Di-(terț-butil)-propadienilfosfonatul (13)

La o soluție de 13,74 (0,1 moli) triclorură de fosfor în 150 ml benzen anhidru, răcită la 5°C, se adaugă sub atmosferă inertă (N_2), 30,88 g (0,305 moli) trietilamină, sub continuă agitare și răcire, astfel ca temperatura amestecului de reacție să nu depășească 5°C. Amestecul se mai agită încă 15 minute, apoi se adaugă în picături, o soluție de 14,82 g (0,2 moli) terț-butanol anhidru în 15 ml benzen anhidru.

Reacția are loc sub agitare și răcire, menținând în permanență temperatura amestecului la 5 - 10°C.

Soluția de consistență viscoasă, conținând di-(terț-butil)-clorfosfitul, se mai agită încă 1 oră la 5 - 10°C, apoi se adaugă o soluție de 5,6 g (0,1 moli) alcool propargilic în 10 ml benzen.

După terminarea adăugării reactanților, o alicotă de filtrat se analizează în I.R. Benzile de la 3300 cm^{-1} ($\text{HC}\equiv$), 2151 cm^{-1} ($\text{HC}\equiv\text{C}$) și 1040 cm^{-1} (P-O-C), caracterizează produsul di-(terț-butil)-2-propinilfosfitul, în timp ce dubletul caracteristic alenelor de la 1969 și 1949 cm^{-1} indică rearanjarea parțială de di-(terț-butil)-propadienilfosfonat.

După agitarea amestecului timp de 30 minute la 5-10°C, conținutul balonului se încălzește la 50°C, unde se menține timp de încă 2 ore pentru a desfășura rearanjarea moleculară.

Amestecul de reacție se răcește apoi la temperatura camerei și i se adaugă în porțiuni mici 40 ml apă pentru dizolva-

cea clorhidratului de trietilamină format. Se separă stratul superior și se extrage de două ori cu câte 15 ml benzen. Stratul benzenic inițial și extractele benzenice reunite, se usucă pe CaCl_2 anhidru (15 g), obținând astfel o soluție de di-(tert-butil)-propandiamidofosfonat, care poate fi utilizat ca atare în etapa următoare.

Pentru caracterizarea produsului, se prepară o probă analitică prin eliminarea solventului și distilare la presiune scăzută. $P_f = 59 - 61^\circ\text{C}/0,15 \text{ mm}$.

$\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{O}_3\text{P}$ (232,08) Calc. : C:57,31; H:9,11; P:13,55.

Găsit : C: 57,66; H:9,08; P:13,54.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}): ν ($-\text{C}=\text{C}-\text{CH}_2$) 1955; 1983;

δ (tert-Bu) 1370; 1399;

ν (P-O-C) 980-1050; ν (PO) 1270;

Spectrul R.M.M. (CCl_4 , δ , ppm): 5,16 (m, 2 H); 5,63 (m, 1 H);

1,16 (s, 18 H, 2 tert-butil).

Bis-(dimetilamido)-clorfosfitul (15)

Se obține prin coproporționarea a 2 moli tris-dimetilamidofosfit cu un mol de PCl_3 .

A. Tris-dimetilamidofosfit (17)

La o soluție de 137 g (1 mol) triclorură de fosfor 500 ml eter anhidru, se adaugă la temperatura de $10 - 15^\circ\text{C}$, continuu agitare, o soluție de 297 g (1,1 moli) dimetilamină hidră în 500 ml eter. Amestecul de reacție se agită la temperatura camerei timp de 3 ore, se lasă în repaus peste filtrează clorhidratul de dimetilamină format, se evaporă solventul, iar rezidul se distilă la presiune scăzută. Rezultat 80 g (49%) amidă sub formă de lichid incolor, mobil. $P_f = 57^\circ\text{C}/$

B. Bis-(dimetilamido)-clorfosfit (15)

La 32,6 g (0,2 moli) tris-(dimetilamido)-fosfit se adaugă în picături și sub agitare, 13,7 g (0,1 moli) PCl_3 . Încetarea reacției puternic exotermă, amestecul de reacție se monșine. Încă 30 minute la $60 - 90^\circ\text{C}$, apoi se distilă la presiune scăzută. Rezultat 44 g (39%) lichid incolor, vâscos, funcționează ca aer. Substanța reacționează foarte energic (explosiv) cu apă.

$P_f = 30-31^\circ\text{C}/2 \text{ mm}; 76,5-77^\circ\text{C}/17 \text{ mm}; n_D^{20} = 1,5010$

$C_6H_{12}NP$ (165) Calc. : C:44,17; H:7,36; N:8,58; P:19,01.
Găsit : C:44,02; H:7,12; N:8,61; P:19,12.

Spectrul I.R. (CCl_4 ; cm^{-1}): ν ($N(CH_3)_2$) 2780; δ (P-N) 710, 970;
 ν (P-Cl) 580.

Propadienilfosfonildiclorura (18)

A. Propargildiclorfosfitul (14)

La o soluție de 68,5 g (0,5 moli) PCl_3 în 150 ml eter anhidru, sub continuă agitare și răcire, menținând temperatura amestecului sub $-5^{\circ}C$, se adaugă 51,5 g (0,51 moli) trietilamină, apoi la aceeași temperatură, o soluție de 28 g (0,5 moli) alcool propargilic în 40 ml eter. Amestecul se agită timp de 1 oră la rece, apoi încă 2 ore la temperatura camerei. După filtrarea clorhidratului și îndepărtarea solventului, reziduul se distilă la presiune scăzută. Se obțin 44 g (56,05%); $P_f = 38^{\circ}C/17$ mm.

$d_4^{20} = 1,3471$ $n_D^{20} = 1,5012$.

$C_3H_3Cl_2OP$ (157) Calc. : C:22,92; H:1,91
Găsit : C:23,01; H:1,98.

Spectrul I.R. ($CHCl_3$, cm^{-1}): ν ($HC\equiv$) 2147, 3305; ν (P-O-C) 1000.

B. Propadienilfosfonildiclorura (18)

Propargildiclorfosfitul (14) se menține la temperatura camerei într-o fiolă închisă, timp de 8 zile, după care se distilă la presiune redusă. $P_f = 58^{\circ}C/1,5$ mm.

Se obține un lichid incolor, mobil (cu un randament de 36%), care, păstrat la lumină, după câteva zile se închide la caldare, fără a se putea constata modificări în spectrul I.R. față de spectrul produsului proaspăt distilat.

$d_4^{20} = 1,4110$ $n_D^{20} = 1,5230$.

$C_3H_3Cl_2OP$ (157) Calc. : C:22,92; H:1,91;
Găsit : C:22,76; H:1,99.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}): ν ($=CH_2$) 851; ν ($-HC=C=CH_2$) 3005, 3078 și 1964, 1928; ν (PO) 1285.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm): 5,62 (m, 2-H); 6,22 (m, 1-H).

Bis-(dimetilamido)-propadienilfosfonatul (19)

La o soluție de 15,5 g (0,1 moli) bis-dimetilamido-clor-fosfit (15) în 150 ml eter anhidru, sub continuă agitare și răcire menținând temperatura amestecului sub -5°C , se adaugă 10,1 g (0,1 moli) trietilamină proaspăt distilată, apoi 5,6 g (0,1 moli) alcool propargilic anhidru. Amestecul se mai agită timp de 1 oră la temperatura camerei, după care se lasă în repaus timp de 10 - 12 ore pentru desăvârșirea izomerizării acetilen-alenice. Se filtrează clorhidratul de trietilamină, se evaporă solventul, iar reziduul se distilă la presiune redusă.

Rezultă 8,17 g (47%) lichid incolor, uleios; $P_f = 82 - 90^{\circ}\text{C}/0,6 \text{ mm}$.

$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{N}_2\text{OP}$ (174) Calc. : C:48,27; H:8,62; N:16,09; O:9,19;
P:17,81.

Găsit : C:48,41; H:8,70; N:15,98; O:9,21;
P:18,01.

$d_4^{20} = 1,0505$ $n_D^{20} = 1,5024$.

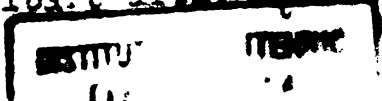
Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) : ν (PO) 1219, 1188; ν ($-\text{HC}=\text{C}=\text{CH}_2$)
1941; δ (CH_3) 1293.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm): 2,55 (d, 4- CH_3); 5,00 (m, 2-H);
5,42 (m, 1-H).

Acidul (+)-treo-(1-clor-2-hidroxi-propil)-fosfonic (24)

A. La o soluție de 12,2 g (0,1 moli) acid cis-propenil-1-fosfonic (2) în 30 ml apă, sub agitare și răcire (cu o baie de gheață și sare), se adaugă în porțiuni mici, 11,91 ml (0,1 moli) terț-butilhipoclorit. Amestecul se menține sub agitare la rece, timp de 30 minute, apoi se îndepărtează baia de răcire și se lasă să ajungă în mod progresiv la temperatura camerei. În cazul când temperatura amestecului tinde să crească în mod exagerat, se aplică din nou baia de răcire pentru a evita producerea unei reacții puternic exoterme. Amestecul de reacție se reține apoi în repaus la temperatura camerei timp de 6 ore, după care se evaporă apa la presiune scăzută, fără a scădea temperatura de 45°C .

Rezultă un produs de consistență ceară, care este purtat într-o capsulă, cu eter, conduce la un produs (68,2%) solid microcristalin, de culoare albă, $m.p. = 90,5^{\circ}\text{C}$, reprezentând acidul (24).



B. La o soluție formată din 12 g (0,1 moli) acid cis-propenil-1-fosfonic în 30 ml apă, sub agitare și răcire cu apă și gheață, se adaugă în porțiuni mici 7,82 g (0,105 moli) hipoclorit de sodiu sub formă de soluție 1 N (104,96 ml), astfel ca temperatura amestecului să nu depășească 15°C. După ce amestecul se mai agită încă timp de 2 ore la temperatura camerei, se adaugă 50 ml tert-butanol și pentru a îndepărta urmele de hipoclorit nereacționate, se elimină aproximativ același volum de lichid prin evaporare la presiune scăzută.

Soluția apoasă reziduală se trece printr-o coloană cu schimbător de ioni "Dowex-50" (forma H⁺), care se eluiază apoi cu 1200 ml apă.

Eluatele reunite se răcesc sub agitare și răcire într-o baie de gheață, când se depune un produs microcristalin sub formă de pulbere albă, care se izolează prin filtrare, iar solidul de pe filtru se spală de 3 ori cu câte 25 ml acetonitril rece. Rezultă 21,84 g produs (62,5%). P_t = 150 - 151°C.

C₅H₈O₄PCl (174,5) Calc. : C:20,63; H:4,58; O:36,67.

Găsit : C:21,02; H:4,48; O:36,81.

Spectrul I.R.(Nujol, cm⁻¹): ν (P=O) 1180; ν (P-OH) 2460;
δ (P-O-(H)) 2120; δ (C-OH) 1050.

Treo-dimetil-(1-brom-2-hidroxiopropil)-fosfonatul (25)

La o soluție formată din 15 g (0,1 moli) dimetil-cis-1-propenilfosfonat (25) în 250 ml apă, se adaugă în porțiuni mici, sub răcire cu apă și gheață, 21,36 g (0,12 moli) N-brom-succinimidă, apoi 30 ml H₂SO₄ 1% (aproximativ 0,2 N) de asemenea răcit cu gheață.

Amestecul se agită timp de 6 ore la 0°C, apoi, pentru neutralizarea excesului de N-brom-succinimidă, se adaugă câteva picături de soluție NaHSO₃ 10%.

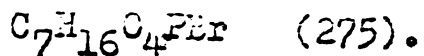
Soluția apoasă se saturează cu NaCl, se extrage cu 3 porțiuni de câte 100 ml eter, iar extractul eteric se usucă pe CaCl₂.

După evaporarea solventului rezultă 20,89 g (84,6%) ulei alb gălbui, care se folosește ca atare la obținerea epoxidului (12).

C₅H₁₂O₄PBr (247)

Treo-dietil-(1-brom-2-hidroxi-propil)-fosforatul (25)

Se obține în modul descris mai sus pentru (25), folosind 17,8 g (0,1 moli) dietil-cis-1-propenilfosfonat (20). Se obține 24 g (87,3%) lichid uleios, de culoare galben intens.

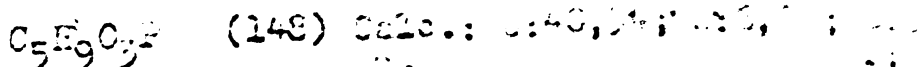


Ambii produși (25 și 26) au fost utilizați ca atare, fără alte operațiuni de purificare la obținerea epoxifosforatilor corespunzători (12 și 12 a), având în vedere dificultatea izolării substanțelor pure prin distilare.

Dimetil-propadienilfosforatul (27)

A. La o soluție conținând 15,7 g (0,1 moli) propadienilfosfonildiclorură (18) în 100 ml eter anhidru, sub agitare și răcire puternică cu gheață și sare, se adaugă în porțiuni mici astfel ca temperatura soluției să nu depășească 0°C, 20,2 g (14,65 ml; 0,2 moli) trietilamină proaspăt distilată, apoi la aceeași temperatură 6,4 g (5,09 ml; 0,2 moli) metanol absolut în 50 ml eter. Amestecul se mai agită încă 1 oră la temperatura camerei, apoi se lasă în repaus peste noapte. După îndepărtarea clorhidratului de trietilamină prin filtrare și evaporarea solventului, reziduul se distilă la presiune scăzută. Rezultă 8,36 g dimetilester (56,5%), $P_f = 96^\circ C/5 \text{ mm}$.

B. La o soluție conținând 15,75 g (0,1 moli) (18) în 100 ml eter anhidru, sub agitare și răcire cu un amestec de gheață și sare, se adaugă la 0°C, 30,3 g (21,98 ml; 0,3 moli) trietilamină proaspăt distilată. După agitarea amestecului timp de 1 oră la 0°C, se adaugă la aceeași temperatură 5,6 g (5,09 ml; 0,1 moli) alcool propargilic în 50 ml eter anhidru. Amestecul se mai agită încă 1 oră, apoi se adaugă la -5 - 0°C, 6,4 g (5,09 ml; 0,2 moli) metanol absolut. Se lasă în repaus peste noapte, se îndepărtează clorhidratul de trietilamină prin filtrare, iar filtratul, după evaporarea solventului, se fracționează la presiune redusă. Rezultă 7,16 g dimetilester (46,4%), $P_f = 96^\circ C/5 \text{ mm}$ identic cu produsul preparat prin metoda A.



gasit: C: 40,70; H: 4,61; P: 55,15

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}): ν ($\text{C}=\text{CH}_2$) 1962; ν (P-O-C) 1183, 1039; ν (PO) 1275.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm): 3,52 (d, 2- CH_3), 5,12 (m, 2 H); 5,45 (m, 1 H).

Dimetil-cis-propenil-1-fosfonatul (28)

O soluție de 15 g (0,1 moli) dimetilester (27) în 250 ml benzen anhidru, se tratează cu 0,8 g catalizator de Pd/C conținând 7% Pd și se hidrogenează la o ușoară suprapresiune (1,1 kgf/cm^2) la temperatura camerei. Cantitatea teoretică de H_2 a fost absorbită în 3,5 ore. Catalizatorul se îndepărtează prin filtrare, iar soluția benzenică se evaporă la presiune redusă. Se obține un lichid uleios de culoare galben pal.

Pentru caracterizarea produsului, a fost preparată o probă analitică prin distilare la presiune redusă.

$P_f = 53 - 55^\circ\text{C}/1 \text{ mm}$; 131/14 mm.

$d_4^{20} = 1,0378$; $n_D^{20} = 1,4368$.

$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_3\text{P}$ (150) Calc. : C:40,00; H:7,33; O:32,00; P:20,66.

Găsit : C:40,16; H:7,19; O:32,61; P:20,78.

Spectrul I.R. (CCl_4 ; cm^{-1}) : ν (P=O) 1260; ν (cis-C=C-) 1635.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm): 1,92 (m, 1 CH_3); 5,78 (m, 1 H); 6,89 (m, 1 H).

Diethyl-cis-propenil-1-fosfonatul (30)

Se prepară prin hidrogenarea catalitică a dietilesterului (29) în mod similar cu cel descris pentru dimetil-cis-1-propenilfosfonat (28).

$P_f = 57 - 58^\circ\text{C}/0,8 \text{ mm}$; 142 $^\circ\text{C}/14 \text{ mm}$.

$d_4^{20} = 1,0385$; $n_D^{20} = 1,4362$.

$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{O}_3\text{P}$ (178) Calc. : C:47,19; H:8,42; O:26,96; P:17,41.

Găsit : C:47,07; H:8,51; O:26,22; P:17,31.

Spectrul I.R. ν (P=O) 1248 ; ν (cis-C=C-) 1640.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm): 1,98 (m, 1 CH_3); 5,82 (m, 1 H); 6,90 (m, 1 H).

7.2. Dimetil și dietilesterii acidului (1)

- Dimetilesterul acidului cis-1,2-epoxipropilfosfonic (12)

Se obține prin epoxidarea cu apă oxigenată, sau acid peracetic, a cis-propenil-1-fosfonatului de dimetil (27), în modul descris, pentru epoxiacidul (1).

De asemenea, a fost obținut prin dehidrociorurarea dimetilesterului acidului 1-cloretoksi-metilfosfonic (11).

O soluție de 20,25 g (0,1 moli) dimetilester (11) în 300 ml eter anhidru, se adaugă în porțiuni mici, sub agitare și răcire, la o suspensie de 0,88 g (0,11 moli) hidrură de litiu în 200 ml eter. Amestecul de reacție se agită la temperatura camerei timp de 3 ore, apoi se filtrează, se îndepărtează solventul, iar reziduul se distilă la presiune redusă. Se obțin 12,86 g lichid incolor (randament 77%) P_f : 53 - 54°C/2,5 mm;

$C_5H_{11}O_4P$ (166) Calc. : C:36,15; H:6,67; O:38,55.

Găsit : C:36,31; H:6,72; O:38,11.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}): ν (epox) 840, 880; ν (P=O) 1240.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm): 1,48 (d, 3 H); 2,8 (m, 2 H);
3,8 (s, 6 H).

- Dietilesterul acidului cis-1,2-epoxipropilfosfonic (12 a)

A fost preparat atât prin epoxidarea directă cu apă oxigenată sau acid peracetic a dietilesterului acidului propenil-1-fosfonic (29), cât și prin dehidrobromurarea 1-brom-2-hidroxi-propilfosfonatului (26).

Reacția de dehidrobromurare are loc în condiții similare cu modul de lucru descris pentru obținerea epoxiacidului (1) din acidul 1-clor-2-hidroxipropilfosfonic (24).

Pornind de la 13,75 g (0,05 moli) bromhidridă (26), se obțin 6,98 g (randament 72%), dietilester (12 a). P_f : 64-65°C/3 mm.

$C_7H_{15}O_4P$ (194) Calc. : C:43,29; H:7,73; O:32,78; P:16,20.

Găsit : C:43,31; H:7,65; O:33,00; P:16,50.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) : ν (epoxi); 838, 880, ν (P = 1250.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm): 1,46 (d, 3 H); 2,80 (m,

7.3. Derivați halogenati ai acidului cis-1,2-epoxi- propilfosfonic

- Sarea disodică a acidului (±)-2-clor-(cis-1,2-epoxi- propil)-fosfonic (37)

La o soluție de 30 g (0,15 moli) acid (E)-2-Clorpropilfosfonic (35) în 200 ml apă se adaugă 0,5 g Wolframă de sodiu dihidrat, apoi pH-ul soluției se aduce la valoarea de 5-5,5, prin adăugarea unei soluții de hidroxid de sodiu 2 N.

La acest amestec se adaugă sub agitare, în decurs de 20 minute, 15 ml apă oxigenată 30%, menținând temperatura, prin răcire exterioară și printr-o viteză de adăugare corespunzătoare a perhidrolului, la 50 - 55°C (reacție exotermă). După agitarea amestecului timp de încă 1 oră la 55 - 60°C, soluția se răcește, se alcalinizează cu NaOH 1 N, până la pH = 8,5 și se concentrează la presiune redusă până la aproximativ o treime din volumul inițial. Prin răcire, cristalizează epoxidul (37) sub formă de cristale albe, aciculare. $P_t = 147^{\circ}\text{C}$. Se obțin 20,45 g (randament 66%).

$\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_4\text{ClPNa}_2$ (216,5) Calc. : C:16,62; H:1,84; O:29,56.
Găsit : C:16,72; H:2,01; O:29,32.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}) ν (P=O) 1440; ν (epox) 840, 886.

- Sarea disodică a acidului (±)-cis-2-brom-(1,2-epoxi- propil)-fosfonic (38)

A fost obținută folosind același mod de lucru, ca cel descris pentru 2-clorderivatul (37).

De asemenea, produsul a fost obținut și prin schimbarea metatetica a atomului de halogen (Cl), pornind de la sarea disodică a acidului (±)-trans-2-clor-1,2-epoxipropilfosfonic, cu bromură de potasiu.

La o soluție de 10,32 g (0,05 moli) sare disodică a acidului (±)-trans-2-clor-1,2-epoxipropilfosfonic (obținut prin metoda generală de epoxidare, pornind de la acidul Z-2-clorpropilfosfonic), în 100 ml etanol, se adaugă 7,15 g (0,06 moli) bromură de potasiu, apoi amestecul se încălzește la reflux timp de 12 ore, până la obținerea unei soluții omogene.

După răcire, clorura de sodiu se îndepărtează prin filtrare, iar produsul se izolează prin cristalizare din soluția care se concentrează la aproximativ o treime din volumul

inițial. Se obțin 10,70 g produs, sub formă de cristale albe, aciculare. $P_t = 156^\circ\text{C}$ (Randament 82%).

$\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_4\text{BrPNa}_2$ (261) Calc. : C:13,79; H:1,53; O:24,52.

Găsit : C:13,83; H:1,48; O:24,61.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}) \checkmark (P=O) 1452; \checkmark (epox) 880.

- Sarea disodică a acidului (\pm)-2-iod-(cis-1,2-epoxipropil)-fosfonic (39)

A fost obținută prin schimbarea metatetică a atomului de halogen din derivatul trans-(37), la fierbere cu iodură de potasiu în soluție de etanol, în modul descris mai sus. Randament : 81%. Cristale galbene sub formă de solzi, $P_t = 166^\circ\text{C}$.

$\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_4\text{IPNa}_2$ (308) Calc. : C:11,68; H:1,30; O:20,78.

Găsit : C:11,76; H:1,19; O:20,82.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}) \checkmark (P=O) 1456; \checkmark (epox) 872, 890.

- Acidul (\pm)-2,3-diclor-(cis-1,2-epoxipropil)-fosfonic (44)

La o soluție de 30 g (0,1 moli) dibenzil-1,2-propadienilfosfonat (40) în 200 ml tetraclorură de carbon, se adaugă în picături, sub agitare, o soluție de 17,75 g (0,25 moli) clor în 125 ml tetraclorură de carbon rece.

Soluția astfel obținută, se spală de 3 ori cu câte 50 ml soluție apoasă de bicarbonat de sodiu 5%, se separă și se usucă pe sulfat de magneziu anhidru (20g).

După evaporarea solventului, se obțin 32 g (88%), dibenzil(±)-2,3-diclorpropenil-1-fosfonat brut, sub formă de ulei de culoare galbenă. Produsul obținut se dizolvă în 100 ml benzen anhidru, se răcește la $5-10^\circ\text{C}$ și se adaugă 10,0 g (0,1 moli) acid perbenzoic în 50 ml benzen rece. Amestecul se agită la rece pînă cînd o probă luată din soluție nu mai prezintă reacție pozitivă la hîrtie impregnată cu KI-amidon.

Amestecul se extrage de trei ori cu câte 50 ml soluție de bicarbonat de sodiu 5%, iar soluția benzenică se usucă pe sulfat de magneziu.

După evaporarea solventului, se obțin 10,70 g (82%), dibenzil-(±)-2,3-diclor-(cis-1,2-epoxipropil)-1-fosfonat brut, sub formă de lichid incolor, mobil.

Prin fierberea timp de 12 ore a acestui produs în 100 ml trimetilclorsilan, extracția cu apă și prelucrarea extractului apos în mod similar cu cel descris pentru acidul (1), se obțin 7,22 g (54%) acid (44) sub formă de pulbere albă, amorfă, $P_t = 141^\circ\text{C}$.

$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_4\text{Cl}_2\text{P}$ (207) Calc. : C:17,39; H:2,41; O:30,91.

Găsit : C:17,50; H:2,35; O:31,09.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}) \downarrow (P=O) 1255; \downarrow (epox): 886, 894;
 \downarrow (P-OH) 2580.

- Acidul (±)-2,3-dibrom-(cis-1,2-epoxipropil)-
fosfonic (45)

Se obține în mod similar cu acidul (44), descris mai sus, pornind de la dibenzil-(E)-2,3-dibrompropenilfosfonatul, preparat la rândul său prin tratarea la rece cu brom, a dibenzil-1,2-propadienilfosfonatului (40).

Cristale alb-gălbui sub formă de solzi, $P_t = 162^\circ\text{C}$ (desco).

$\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_4\text{Br}_2\text{P}$ (296) Calc. : C:12,16; H:1,69; O:21,62.

Găsit : C:12,22; H:1,76; O:21,08.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}) \downarrow (P=O) 1246; \downarrow (epox) 880;
 \downarrow (P-OH) 2620.

7.3.1. Sinteza materiilor prime și intermediare

- Acidul (Z)-2-clorpropenilfosfonic (35)

La o soluție proaspăt preparată, conținând 7,1 g (0,1 moli) clor, în 100 ml tetrăclorură de carbon, se adaugă sub agitare și iradiere cu o lampă U.V., plasată la 30 cm de balon, o soluție de 12,2 g (0,1 moli) acid cis-propenil-1-fosfonic (2). După o agitare timp de încă 1 oră la temperatura camerei, soluția, inițial de culoare galbenă se decolorează complet.

La balonul de reacție se montează un refrigerent de distilare și se aplică progresiv vidul creat de o trompă de apă, concomitent cu încălzirea balonului pe o baie de ulei. După distilarea amestecului de solvenți, temperatura băii de ulei se ridică la $150-160^\circ\text{C}$, când se constată o degajare intensă de acid clorhidric din întreaga masă de reacție. După încetarea degajării de gaze, residuuul uleios, viscos se răcește și se recristalizează dintr-un amestec de cloroform-tetrăclorură de carbon

(1 : 1), obținând 6,78 g (55,8%) acid (Z)-2-clor-propenilfosfonic, sub forma unui solid amorf, ceros, δ , culoare albă, $P_f = 41^\circ\text{C}$.

$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{PCl}$ (156,5) Calc. : C:23,00; H:3,83; O:23,07.

Găsit : C:24,12; H:3,61; O:21,02.

Spectrul I.R. : (CCl_4 , cm^{-1}) : ν (P=O) 1200; ν (C=C) 1620;
 ν (P-OH) 2600.

- Acidul (Z)-2-brom-propenilfosfonic (36)

A fost obținut prin același procedeu cu cel descris pentru acidul (Z)-2-clorpropenil-fosfonic (25), cu un randament de 62,2%.

Produsul se prezintă sub forma de solid amorf, ceros, de culoare alb-gălbuie. $P_f = 51^\circ\text{C}$.

$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{PBr}$ (200,9) Calc. : C:17,90; H:2,98; O:23,59.

Găsit : C:18,21; H:3,07; O:23,04.

Spectrul I.R. : (CCl_4 , cm^{-1}) ν (P=O) 1252; ν (C=C) 1638;
 ν (P-OH) 2580.

- Dibenzil-1,2-propadienilfosforat (40)

A. La o soluție de 19,75 g (0,1 moli) trichlorura de fosfor și 30,3 g (0,3 moli) trietilamină, în 25 ml benzen, se adaugă sub agitare, la rece și sub atmosferă de azot, mai întâi 21,6 g (0,2 moli) alcool benzilic în 50 ml benzen, apoi 5,1 g (0,1 moli) alcool propargilic în 25 ml benzen.

După fierberea amestecului la reflux timp de 6 ore, răcire, filtrare și îndepărtarea solvenților, reziduul este un solid galben, care se distilă la presiune scăzută, 20,1 g dibenzilfosforat (40), $P_f = 74-76^\circ\text{C}/0,03$ mm. (Randament 68%).

$\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{P}$ (300) Calc. : C:68,00; H:5,66; O:11,20.

Găsit : C:68,16; H:5,52; O:10,91.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (P=O) 1260; ν (C=C) 1630, 1650;
 ν (COC) 1048, 1138.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 5,22 (m, 2 H-alenic), 3,52 (m, 1 H-alenic).

B. O soluție de 19,7 g (0,1 moli) trichlorura de fosfor și 30,3 g (0,3 moli) trietilamină în 100 ml eter, se tratează sub agitare la rece, cu o soluție de 21,6 g (0,2 moli) alcool benzilic și 5,1 g (0,1 moli) alcool propargilic în 50 ml eter.

După filtrarea clorhidratului de trietilamină, evaporarea solventului și distilarea reziduului, se obțin 26,4 g (88%) dibenzil-alenfosfonat (40), identic cu produsul obținut prin metoda A.

7.4. Acidul 2-fenil-(cis-1,2-epoxietil)-fosfonic și derivați (49)

La o soluție de 18,4 g (0,1 moli) acid 2-feniletilfosfonic (47) în 250 ml apă, se adaugă 17,8 g (0,1 moli) K-bromsuccinimidă și 5 picături de acid sulfuric concentrat. Amestecul de reacție se lasă în repaus timp de 24 ore.

Soluția astfel obținută, conținând bromhidriaza (48), se tratează cu 15,2 g (0,33 moli) hidroxid de sodiu în 50 ml apă. Amestecul se menține la temperatura camerei timp de 10 ore, după care se filtrează, iar filtratul se acidulează cu acid clorhidric 0,1 N până la pH 9,5 - 10, apoi se concentrează până la un volum de 100 ml. Soluția concentrată se răcește la 5°C, precipitatul format se izolează prin filtrare.

După uscare într-o etuvă de vid la 50°C/10 mm, se obțin 16,42 g (72%) epoxid (49), sub formă de cristale aciculare mari. $T_m = 121 - 128^\circ\text{C}$, care emană un miros dulceag de geraniol.

$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3 \cdot \text{Na}$ (206) Calc. : C:46,60; H:3,88; O:23,30.

Găsit : C:46,54; H:3,81; O:23,41.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}) ν (PO) 1138; ν (epox) 882; ν (POE) 2680.

Spectrul R.M.N. ($\text{CDCl}_3 \cdot \text{D}_2\text{O}$, δ , ppm) 2,84 (m, 2 H); 7,46 (s, 5 H) (fenil).

7.4.1. Sinteza materiilor prime și intermediare

- Acidul 2-fenil-etilenfosfonic (47)

1. La o suspensie formată din 104 g (0,5 moli) pentaclorură de fosfor în 500 ml benzen anhidru, sub agitare și răcire pușernică, se adaugă în picături și la intervale relativ mari (reacție foarte exotermă), o soluție de 20,8 g stiren în 50 ml benzen. Amestecul se mai agită la temperatura camerei încă 2 ore, apoi se lasă în repaus peste noapte, protejat de umiditatea atmosferică. După acest interval, conținutul balonului, de consistență nierei, se toarnă sub agitare în 2 l apă cu gheață. Amestecul de reacție, constând din două straturi de lichid limpede, se lasă în repaus timp de 24 ore la temperatura camerei

Într-un vas deschis, pentru a permite evaporarea parțială (parțială) a benzenului, când, la interfața celor două straturi de lichid, apare un precipitat voluminos, de culoare albă. După filtrare și uscare, rezultă 24,2 g (85,35%) acid (47) pur, sub forma unei mase cristaline albe.

Produsul este un amestec de izomeri cis-trans, constituit din aproximativ 2,80 g cristale mari aciculare, incolore, cu $P_t = 147,5^\circ\text{C}$ (forma cis) și 21,6 g solid granular, de culoare albă, $P_t = 152^\circ\text{C}$ (forma trans). Cristalele aciculare fiind relativ mari, acestea pot fi separate din amestec, manual (cu o pensetă subțire).

Produsul se purifică prin dizolvare în CH_2Cl_2 și soluție de NaOH diluat, apoi reprecipitarea cu o soluție diluată, caldă, de HCl și recristalizare din apă; Se obține acidul (47) pur, sub forma de izomer stabil (trans) cu $P_t = 157-157,5^\circ\text{C}$. Randamentul de purificare, (inclusiv recristalizarea din apă) este de 88%.

B. Într-un amestec format din 20,0 g (0,1 moli) stiren, 34,3 g (0,25 moli) tricloarea de fosfor și 300 ml metanol uscat, sub continuă agitare și răcire, astfel ca temperatura amestecului să nu depășească $10-15^\circ\text{C}$, se barbotează un curent slab de clor uscat, până când soluția devine galbenă, iar pe pereții balonului apar mici cristale de PCl_5 , ceea ce indică apariția unui exces de clor în soluție și terminarea reacției.

Hidroliza aductului și purificarea produsului se realizează în modul descris la varianta A. Rezultă 30,5 g (83%) produs pur în forma trans, $P_t = 157 - 157,5^\circ\text{C}$.

C. O soluție de 17,7 g (0,1 moli) acid 2-feniletinilfosfonic (51) în 200 ml metanol, se hidrogenează la presiunea atmosferică în prezența de 2 g catalizator $\text{NiCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Se absorbează 2,24 l hidrogen, îndepărtarea catalizatorului prin filtrare și evaporarea solvențului, se obține acidul (47) forma cis, $P_t = 147^\circ\text{C}$.

$\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2\text{P}$ (184) Calc. : C:52,17; H:4,89; O:20,00; P:12,94.

Anal. : C:51,92; H:4,88; O:20,10; P:12,94.

Spectrul i.r. (KBr , cm^{-1}): ν (2-3) 3300; ν (C-H) 3000-2800; ν (C=C) 1600; ν (C-O) 1100; ν (P-O) 1000-1100 (banda largă).

- Acidul 2-feniletinilfosfonic (51)

A. La un amestec format din 47 g (0,225 moli) pentaclorură de fosfor în 100 ml benzen, sub agitare și răcire puternică cu gheață și sare, se adaugă încet, 20,6 g (0,2 moli) fenilacetilena. Amestecul de reacție se lasă în repaus peste noapte, apoi se toarnă peste 250 ml apă cu gheață și se agită pînă la completa dizolvare. Se separă stratul organic, iar stratul apos se extrage de două ori cu cîte 100 ml eter.

Extractele eterice reunite se usucă pe $MgSO_4$, se filtrează și se evaporă solventul. Rezultă aproximativ 10,8 g (24,73%) acid 2-clor-2-fenil-etilenfosfonic (50), sub formă de cristale albe, aciculare cu $P_t = 158,5^\circ C$. După recristalizare din HCl 5 N, $P_t = 164^\circ C$.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}): ν (PC) 750; ν (C-Cl) 780; ν (PO) 1128; ν (C=C) 1680; ν (P-OH) 2500-2800 (bandă lățită).

B. 4,37 g (0,02 moli) acid (50) se refluxează timp de 6 ore în 100 ml soluție KOH 1 N. După răcire, amestecul se acidulează cu HCl 2 N și se extrage cu două porțiuni de cîte 50 ml eter. După evaporarea solventului, se obțin 3,34 g (92%) acid 2-fenil-etinilfosfonic cu $P_t = 143 - 143,5^\circ C$.

$C_8H_7O_3P$ (182) Calc. : C:52,75; H:3,84; O:26,37; P:17,03.

Găsit : C:52,89; H:3,96; O:26,40; P:16,75.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}): ν (PO) 1135; ν (C=C) 2200; ν (P-OH) 960-1020 și 2500 - 2800 (bandă lățită).

7.5. Acizi epoxifosfonici omologi ai Fosfonomicinei

- Acidul 2,3-epoxiopropilfosfonic (31)

Compusul (31) a fost preparat prin silanizarea cu trimetilclorsilan a dietilesterului (32), urmată de hidroliză, transformarea epoxiacidului în sare de dibenzilamoniu și retransformarea în acid liber prin tratarea cu Dowex-50 (H⁺).

Astfel, pornind de la 17 g (0,1 moli) dietilester (32) prin fierbere în 50 ml trimetilclorsilan și prelucrarea bis-(trimetilsilil)-esterului în mod similar cu procedeul descris pentru compusul (1), (pag.128), se obțin 9,8 g (71%) epoxiacid (31), P_t = 86 - 88°C. Sare de dibenzilamoniu, P_t = 136 - 137°C.

Sare de monobenzilamoniu, P_t = 168 - 170°C.

C₅H₇O₄P (138) Calc. : C:26,08; H:5,07; O:46,37; P:22,48.

Găsit : C:26,11; H:5,10; O:46,21; P:22,53.

Spectrul I.R. (KBr, cm⁻¹) √ (PO) 1250; √ (epox) 864, 340.

Spectrul R.M.N. (D₂O, δ, ppm) 1,7-2,3 (m, 2 H, PCH₂);

2,6-3,3 (m, 3 H, epox);

6,2 (s, 2 H, POE).

- Acidul 1,2-epoxiopropil-2-en-1-fosfonic (52)

La o soluție de 15 g (0,05 moli) dibenzil-propadienilfosfonat (40) în 100 ml benzen, se adaugă 10 g (0,05 moli) acid monoperftalic și 2 g fosfat disodic. Amestecul se refluxează timp de 3 ore, apoi se extrage de 3 ori cu câte 25 ml soluție apoasă de bicarbonat de sodiu 5%.

Soluția benzenică se concentrează la presiune redusă pînă la un volum de 25 ml, se adaugă 25 ml tritretilclorsilan, iar amestecul se refluxează timp de 8 ore. După extracție cu apă și prelucrarea extractului în modul descris anterior, se obține o ulei viscos (randament 70,8%), care după câteva zile se transformă într-o masă cerească, semisolidă.

C₅H₅O₄P (136) Calc. : C:26,47; H:3,67; O:47,85; P:21,91.

Găsit : C:26,52; H:3,61; O:47,11; P:21,71.

Spectrul I.R. (Nujol, cm⁻¹) √ (PO) 1160; √ (epox) 864, 340.

Spectrul R.M.N. (D₂O + CD₃COO₂, δ, ppm) 2,0 (d, 2 H, epox);

4,8 (s, 2 H, epox);

6,2 (s, 2 H, POE).

- Acidul 1,2-epoxietilfosfonic (50)

A fost obținut prin aplicarea metodei generale de deblocare a grupelor esterice, descrise anterior. Astfel, după fierberea la reflux a 7 g (0,05 moli) dietil ester (53) în 25 ml tricloroetilolan, extracția cu apă și prelucrarea extractului apos, se obțin 4,25 g (66%) masă albă cereasă, care după câteva zile se transformă într-un produs semicristalin. $P_t = 52^\circ\text{C}$. Sare de ciclohexilamoniu (monobazică), $P_t = 185^\circ\text{C}$.

$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{P}$ (124) Calc. : C:19,35; H:4,03; O:51,61; P:25,01.
Găsit : C:19,27; H:4,10; O:51,69; P:24,94.

Spectrul I.R. (Nujol, cm^{-1}) ν (PO) 1210; ν (epox) 838, 874.

Spectrul R.M.N. ($\text{D}_2\text{O} \cdot \text{CH}_2\text{CO}_2$, δ , ppm) 2,52(m, 1H, epox);
4,12(m, 2H, CH_2 epox).

- Diethyl esterul acidului 1,2-epoxietilfosfonic (53)

A fost obținut prin mai multe metode, care au condus la produse identice, cu randamente în general, comparabile.

A. La o soluție de 12,4 g (0,1 moli) clorhidrină (52) în 50 ml etanol, se adaugă sub agitare și răcire ($4-6^\circ\text{C}$), 3,2 g (0,11 moli) hidroxid de potasiu în 25 ml etanol. Se continuă agitarea amestecului la temperatura camerei timp de încă 10 ore, apoi după filtrare și concentrarea soluției etanolice, rezidul se distilă. Se obțin 5,54 g lichid incolor mobil (randament 52%). $P_t = 88 - 90^\circ\text{C}/2,5 \text{ mm}$; $66 - 68^\circ\text{C}/0,5 \text{ mm}$.

B. La o soluție de 12,4 g (0,1 moli) clorhidrină (52) în 100 ml etanol, se adaugă sub agitare, în porțiuni mici, la temperatura camerei, 50 ml etanol, conținând 7,48 g (0,11 moli) etoxid de sodiu (obținut prin dizolvarea a 2,53 g sodiu metalic). Se agită amestecul la temperatura camerei timp de 6 ore, apoi după evaporarea solvenților, rezidul se distilă la presiune scăzută. Se obțin 5,85 g (55%) produs identic cu cel obținut prin metoda A.

C. O soluție conștinând 24,0 g (0,15 moli) dihidroclorhidrină (52) în 100 ml etanol, se amestecă cu 50 ml etanol, apoi 50 ml soluție de hidroxid de sodiu 0,1 N, până la stingerea unui pH de 9,5 - 10. (adăugarea hidroxidului se face sub răcire cu gheață).

Amestecul se agită timp de 2 ore, apoi se adaugă nou 50 ml perhidrol, iar pH-ul soluției se ajustează la 6,5 - 7 prin adăugare de hidroxid de sodiu - soluție 0,1 N.

După agitarea amestecului timp de încă 2 ore, se adaugă 100 ml apă, soluția se saturează cu clorură de sodiu și se extrage de trei ori cu câte 50 ml cloroform. Din extractul, după pe sulfat de magneziu, se evaporă solvențul, iar rezidutul se distilă la presiune scăzută. Se obțin 7,65 g (48%) produs identic cu cele obținute prin metodele A și B. $P_2 = 126^{\circ}\text{C}/5 \text{ mm}$.

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_3\text{P}$ (164) Calc. : C:43,90; H:7,92; O:29,26; P:18,92.
Găsit : C:43,82; H:7,89; O:29,32; P:18,97.

Speclrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (PO) 1250; ν (POC) 1164;
(epox) 878.

Speclrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 1,3(t, 6 H); 4,1 (dq, 4 H);
2,32-3,32 (m, 3 H oxiran).

- Acidul cis-2,3-epoxibutilfosforic (65)

La o soluție de 12 g (0,1 moli) butil-2-on-1-fosforic (64), în 150 ml apă, se adaugă 2,5 g wolfram de sodiu diluat, apoi se ajustează pH-ul soluției la 6 - 6,5 prin adăugare de hidroxid de amoniu, soluție 1,5 N.

Soluția se încălzește la 50°C și se adaugă 25 ml perhidrol. Amestecul de reacție se mai agită la temperatura exactă timp de 2 ore, apoi se concentrează la presiune redusă până la un volum de 25 ml; se adaugă 200 ml metanol, se filtrează, iar filtratul se tratează cu 18 g (0,1 moli) dicitclohexilamină în 100 ml acetonă. După concentrarea soluției la jumătate de volum inițial, decolre și filtrare, se obțin 10,3 g acid bazic de dicitclohexilamoniu. $P_2 = 147^{\circ}\text{C}$ (la presiune scăzută).

Prin dizolvarea sării în 100 ml apă, agitarea cu 25 ml Dowex-50 (H^+), filtrare și concentrarea soluției se obțin 8,8 g epoxiacid liber sub formă de masă albă solidă.

$\text{C}_4\text{H}_9\text{O}_3\text{P}$ (157) Calc. : C:31,57; H:5,31; O:40,12; P:22,99.
Găsit : C:31,62; H:5,31; O:40,12; P:22,97.

Speclrul I.R. (Kujol, cm^{-1}) ν (PO) 1240; ν (epox) 878.

- Acidul 1,2-epoxi-3-hidroxi-propilfosfonic (55)

O soluție formată din 11,55 g (0,075 moli) acid 3-hidroxi-propenil-1-fosfonic (54) și 1,5 g wolfram de sodiu, în 50 ml apă, se tratează cu hidroxid de sodiu soluție 1 N, până la pH 9,5 - 10, apoi se adaugă în decurs de 30 minute, 45 ml perhidrol.

După prelucrarea amestecului de reacție în modul descris în rețeta anterioară, se obțin 6,7 g (55%) masă ceroasă, care după 3 zile se transformă într-un produs semicristalin. $T_m = 47 - 49^\circ\text{C}$. Sarea de dicitlohexilamoniu, $T_m = 97 - 98^\circ\text{C}$.

$\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_5\text{P}$ (154) Calc. : C: 23,37; H:4,54; O:51,94; P:20,15.
Găsit : C: 23,43; H:4,49; O:52,01; P:20,07.

Spectrul I.R. (Kujol, cm^{-1}) ν (PO) 1230; ν (epox) 378;
 ν (OH) 3300 (bandă largă).

Spectrul R.M.N. ($\text{D}_2\text{O} + \text{CD}_3\text{COCD}_3$, δ , ppm) 2,85 (m, 2 H);
- 5,05 (s, 1 H).-

7.5.1. Acizi epitio-fosfonici

- Acidul cis-1,2-epitio-propilfosfonic (56)

O soluție de 17,6 g (0,1 moli) sare de calciu a acidului (1), forma trans, în 200 ml apă, se tratează cu o soluție de acid clorhidric 0,1 N până la atingerea unui pH de 6,5-7, apoi se adaugă 19,4 g (0,2 moli) sulfocianură de potasiu (sau 12,8 g - 0,2 moli tiourea).

Amestecul se agită timp de 6 ore la temperatura camerei, apoi se lasă în repaus, la aceeași temperatură, timp de 12 ore. Soluția se concentrează la presiune redusă până la un volum de 100 ml, apoi se adaugă 200 ml acetone, precipitatul format se izolează prin filtrare, se spală pe filtru cu 25 ml izopropanol, se usucă într-o etuvă de vid la $50^\circ\text{C}/30$ mm.

Rezultă 8,25 g (44%) solid amorf de culoare albă, $T_m = 186^\circ\text{C}$.

$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3\text{POCa}$ (193) Calc. : C:18,65; H:3,10; O:24,87.
Găsit : C:18,70; H:3,06; O:24,61.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}) ν (PO) 1250; ν (POC) 1030.

Spectrul R.M.N. (D_2O , δ , ppm), 1,41 (s, 3H, CH_3);
2,8-3,4 (m, 2 H).

- Acidul 1,2-epitio-etilfosfonic (67)

A fost obținut în mod similar, cu acidul (66), descris anterior. Prin prelucrarea a 12,4 g (0,1 mol) epoxid acid (66), tratat în prealabil cu 15,8 g acetat de calciu, rezultă 5,95 g (51%) solid amorf, $P_t = 144^\circ\text{C}$ (sare de calciu, monohidrat).

$\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_3\text{PSCa}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (198) Calc. : C:12,12; H:3,53; O:32,32.
Găsit : C:12,16; H:3,60; O:32,41.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}) ν (PO) 1244; ν (POC) 1030.

Spectrul R.M.N. (D_2O , δ , ppm) 2,80-3,20 (m, 3 H, epitio).

- Acidul 2,3-epitio-propilfosfonic (68)

Urmind modul de lucru descris pentru obținerea acizilor (66) și (67), prin prelucrarea a 13,2 g (0,075 moli), epoxid acid (31), se obțin 9,60 g (61%) sare de calciu monohidrat a epitio-acidului (68).

$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{PSCa}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (210) Calc. : C:22,85; H:3,33; O:30,47.
Găsit : C:22,79; H:3,30; O:30,50.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}) ν (PO) 1280, ν (epitio) 1030.

Spectrul R.M.N. (D_2O , δ , ppm) 2,4 (m, 1 H, epitio);
3,32 (m, 2 H, CH_2 epitio).

7.5.2. Sinteza materiilor prime și intermediari

- Acidul 2-hidroxi-propil-1-en-1-fosfonic (53)

Un amestec de 29,1 g (0,15 moli) dietilester (52) în 100 ml acid clorhidric concentrat, se fierbe la reflux timp de 12 ore (după 6 ore se mai adaugă 100 ml acid clorhidric).

La sfârșitul perioadei de refluxare, care este constituit inițial din două straturi, devine omogen, și refrigerentul ascendent se înlocuiește cu un refrigerent la răcire și se distilă apa din amestec.

După prelucrarea rezidului uleios, în soluție apoasă pentru acidul propenilfosfonic (2), se obțin 7,8 g (27%) acid (54) pur, sub forma unui ulei viscos, de culoare gălbuie.

$\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_4\text{P}$ (133) Calc.: C:26,02; H:5,07; O:46,91; P:21,99.
Găsit : C:26,14; H:5,13; O:46,91; P:21,99.

Spectrul I.R. (Nujol, cm^{-1}) ν (PO) 1240; ν (OH) 3300.
 ν (OH) 3300.

Spectrul R.M.N. ($\text{D}_2\text{O} + \text{CD}_3\text{COCD}_3$, δ , ppm) 4,30 (d, 2H, OH);
5,02 (s, 2H, din OH); 6,50 (d, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$).

- Diilesterul acidului 3-hidroxiopropilfosfonic (53)

La o soluție de 38,6 g (0,2 moli) epoxifosfonat (32) în 150 ml etanol absolut, se adaugă în porțiuni mici și sub agitare, la temperatura camerei, 25 ml etanol, în care s-au dizolvat în prealabil, 0,15 g sodiu metalic (etoxidul de sodiu în cantitate catalitică).

Amestecul astfel obținut se fierbe apoi la reflux timp de 10 ore, etanolul se elimină la presiune redusă, reziduul se neutralizează cu o soluție de acid clorhidric-1-N, apoi se diluiază cu 100 ml benzen, iar precipitatul format se îndepartează prin filtrare.

După eliminarea solventului și distilarea la presiune redusă a reziduului, rezultă 25,6 g (66%) lichid incolor, $P_2 = 158^\circ\text{C}/2\text{ mm}$; $d_4^{20} = 1,1341$; $n_D^{20} = 1,4588$.

$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{O}_4\text{P}$ (194) Calc. C:43,30; H:7,73; O:32,99; P:15,98.
Găsit: C:43,26; H:7,76; O:33,03; P:15,95.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (PO) 1232; ν (C=O) 1630;
 ν (OH) 3300.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 2,02 (m, 4H din POCH_2);
5,04 (s, 2 H din OH);
6,55 (m, 2 H din CH=CH).

- Diilesterul acidului 2,3-epoxipropilfosfonic (32)

La 68,5 g (0,5 moli) epibromhidrină (34), încălzită pe o baie de ulei la reflux ($134 - 35^\circ\text{C}$), se adaugă sub agitare, în atmosferă de azot, 83 g (0,5 moli), trietilfosfit (33), proaspăt distilat. Adăugarea se face în porțiuni mici, în timp de 1,5 - 2 ore, pentru a evita spumarea intensă a amestecului, datorită degajării bromurii de etil. Amestecul se mai încălzește la aceeași temperatură, încă 6 ore, apoi se distilă la presiune scăzută. Rezultă 52,5 g (54%) lichid incolor, mobil, cu miros eteric.

$d_4^{20} = 1,1442$; $n_D^{20} = 1,4426$

$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{O}_4\text{P}$ (194) Calc. : C:43,30; H:7,73; O:32,99; P:15,98.
Găsit : C:43,22; H:7,69; O:33,08; P:16,10.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (PO) 1230; ν (PO) 1160;
 ν (epox) 858, 870.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 1,28 (t, 6H, CH_2OCP);
1,7-2,3 (m, 2H, POCH_2);
2,4-3,3 (m, oxiran).

- Diethyl-2-clor-1-hidroxietyl-fosfonat (59)

Un amestec de 39,25 g (0,5 moli) cloracetaldhidă, 10 g (0,5 moli) dietilfosfit și 10 picături de trietilamină, se agită la temperatura camerei timp de 6 ore, apoi se lasă în repaus peste noapte. După distilarea amestecului la presiune scăzută, obțin 62,78 g (55%) lichid incolor, $P_f = 126^\circ\text{C}/2 \text{ mm}$.

$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{ClO}_4\text{P}$: (216,5). Calc.: C:33,25; H:6,46; O:29,56.
Găsit: C:33,31; H:6,41; O:29,12.

Spectrul I.R. (Nujol, cm^{-1}) ν (PO) 1252; ν (CO) 1158;
 ν (OH) 3280.

Spectrul R.M.N. (CDCl_3 , δ , ppm) 1,31 (t, 3 H, CH_3CO);
3,92 (m, 2 H, ClCH_2);
4,28 (dq, 2 H, POCH_2);
4,98 (s, 1 H, OH).

- Diesterul acidului vinilfosfonic (57)

La o soluție de 8,35 g hidroxid de potasiu în 30 ml etanol absolut, se adaugă în porțiuni mici, sub agitare și răcire (reacția puternic exotermă), 36,75 g (0,15 moli) dietil-2-clor-1-hidroxietyl-fosfonat (56). Amestecul se agită la temperatura camerei timp de 1 oră, apoi se încălzește la reflux timp de 2 ore. După răcire, filtrare și evaporarea solventului, reziduul se distilă la presiune scăzută. Se obțin 20,18 g lichid incolor, mobil, $P_f = 74 - 76^\circ\text{C}/5 \text{ mm}$.

La păstrare, produsul manifestă o accentuată tendință de polimerizare.

$d_4^{20} = 1,0542$; $n_D^{20} = 1,4333$

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_3\text{P}$ (164) Calc.: C:43,90; H:7,93; O:30,09; P:18,08.
Găsit: C:43,98; H:7,93; O:30,09; P:18,08.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (PO) 1260; ν (CO) 1140;
 ν (C=C) 1640.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 1,25 (t, 6H, CH_3);
3,75 (m, 3 H, $\text{CH}=\text{CH}_2$);
4,02 (m, 4 H, POCH_2)

Spectrul U.V. (etanol) λ_{max} 178 ($\log \epsilon$ 3,157).

- Octil-2-brometilfosfonat (56)

Un amestec de 12,10 g (0,1 mol) trietilfosfit și 75,2 g (0,1 mol) 1,2-dibrometan, se încălzesc la reflux timp de 4 ore la temperatura amestecului aproximativ 155°C. Prin distilare la presiune scăzută, se obțin 22 g (90%) lichid incolor, $P_f = 88-90^\circ\text{C}/3\text{mm}$

$\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Br}_2$ (245) Calc. : C:29,38; H:5,71; O:19,59.
Găsit : C:29,44; H:5,80; O:19,43.

- Acidul butil-2-en-1-fosfonic (64)

Un amestec de 50 g (0,2 moli) tributilfosfit și 79,8 g (0,2 moli) 1-butinibromură se agită la temperatura camerei, timp de 10 ore, aplicându-se o ușoară depresie (150 mm) de la o pompă de apă. În continuare, amestecul se agită încă 10 ore la 100°C, apoi se distilă la presiune scăzută. Rezultă 33,18 g (66%) lichid incolor, uleios. $P_f = 95 - 97^\circ\text{C}/2\text{ mm}$ (62).

O soluție de 12,50 (0,05 moli) (62) în 500 ml metanol, hidrogenează la o ușoară suprapresiune de hidrogen, la temperatura camerei, în prezență de 0,5 g catalizator Lindlar modificat (3).

După filtrare și evaporarea solventului, se obțin 10,5 g (84%) 2-butil-2-en-1-fosfonat (63), sub formă de ulei, ușor colorat în galben.

Prin fierberea a 10 g eter (63) cu 50 ml acid clorhidric concentrat, timp de 10 ore și prelucrarea amestecului în apă deșeură pentru acidul 2-en-1-fosfonic (2), se obțin 10 g (100%) acid (64), sub formă de ulei, care la păstrare se transformă într-o masă albă, cereasă. $P_t = 41^\circ\text{C}$.

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_2$ (152) Calc. : C:42,10; H:5,92; O:31,57; P:20,41.
Găsit : C:42,14; H:6,01; O:31,61; P:20,24.

Spectrul I.R. (NaCl, cm^{-1}) ν (PO) 1254; ν (C=C) 1620;
 ν (OH): 2800.

7.6. Acizi epoxifosfinici și derivați

- Acidul 1,2-epoxipropil-metilfosfinic (69 a)

A fost obținut prin epoxidarea cu apă oxigenată, în prezență de wolframă de sodiu, a etilesterului (72), în modul descris pentru epoxiacidul (1), pH-ul mediului fiind reglat prin adăugare de bicarbonat de sodiu, soluție 10%, sau de hidroxid de amoniu.

Prin epoxidarea a 14,8 g (0,1 mol) ester (72), după evaporarea solventului, se obțin 9,67 g (59%) epoxid, sub formă de lichid incolor mobil.

Epoxiesterul astfel obținut, se fierbe la reflux cu 25 ml trimetilclorsilan, apoi soluția se prelucrează în modul descris anterior, obținând 7,37 g (92%) acid liber.

Izolarea acidului din soluția alcoolică (n-propanol) s-a făcut prin intermediul sării de dicitclohexilamină, $P_t = 144^\circ\text{C}$, apoi trecerea soluției apoase printr-o coloană cu 60 ml schimbător de ioni "Dowex-50" (H^+) eluarea cu apă și evaporarea apei, a condus la acidul liber (69 a), sub formă de solzi cu reflexe argintii. $P_t = 76 - 78^\circ\text{C}$.

Sare de sodiu, $P_t = 112^\circ\text{C}$.

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_3\text{P}$ (164) Calc. : C:43,90; H:7,92; O:29,26; P:18,92.
Găsit : C:43,84; H:7,98; O:29,12; P:19,06.

Spectrul I.R. (KBr, cm^{-1}) \uparrow (PO) 1242; \uparrow (epox) 842, 870;
 \uparrow (POH) 2620 (bandă largă).

Spectrul R.M.N. (D_2O , δ , ppm) 1,42 (d, 3 H, CH_2);
2,23 (d, 1 H, CH).

- Acidul 1,2-epoxipropil-etilfosfinic (69 b)

Se obține în mod similar cu compusul (69 a) aplicând metoda descrisă mai sus, pornind de la derivatul etilfosfinic (73). (Randament total 51%). Plăci solzoase, sidefii. $P_t = 68 - 70^\circ\text{C}$.

Sare de dicitclohexilamină - 121°C ; sare de sodiu -
99 - 100°C .

$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_3\text{P}$ (150) Calc. : C:40,00; H:7,33; O:32,00; P:20,67.
Găsit : C:40,11; H:7,22; O:31,86; P:20,81.

Spectrul I.R. (Nujol, cm^{-1}) ν (PO) 1240; ν (epox) 840, 880.
 ν (POH) 2660 (bandă largă)
Spectrul R.M.N. (D_2O , δ , ppm) 1,22 (m, 3 H, CH_3CP);
2,44 (m, 2 H, epox).

- acidul 2,3-epoxipropil-metilfosfinic (84)

A fost obținut prin silanizarea cu trimetilclorsilan, esterului (76 a), extracția cu apă, trecerea în sare de diciclohexilamină și tratarea cu schimbător de ioni "Dowex-50", în modul descris la obținerea acizilor (69 a) și (69 b).

Prin prelucrarea a 8,2 g (0,05 moli) ester (76 a), se obțin 5,57 g (randament total 82%) acid (84) sub formă de lei viscos, care la păstrare se transformă într-o masă semisolidă, grasă.

Sare de diciclohexilamină, $P_t = 107 - 108^\circ\text{C}$.

$\text{C}_4\text{H}_9\text{O}_2\text{P}$ (156) Calc. : C:35,29; H:6,61; O:35,29; P:22,81.
Găsit : C:35,35; H:6,56; O:35,23; P:22,86.

Spectrul I.R. (Nujol, cm^{-1}) ν (PO) 1260; ν (epox) 840;
 ν (POH) 2700.

Spectrul R.M.N. (D_2O , δ , ppm) 1,23 (d, 3 H, CH_3); 1,75 (d, 2H, PCH_2); 2,59 (m, 3 H, oxiran).

- acidul 2,3-epoxipropil-etilfosfinic (85)

A fost sintetizat în mod similar cu acidul (84), porțina de la esterul (77 a), cu un randament total de 78%. Ulei albicios, viscos. Sare de diciclohexilamină, $P_t = 99 - 100^\circ\text{C}$.

$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_2\text{P}$ (150) Calc. : C:40,00; H:7,33; O:32,00; P:20,67.
Găsit : C:39,88; H:7,39; O:32,12; P:20,61.

Spectrul I.R. (Nujol, cm^{-1}) ν (PO) 1250; ν (epox), 830, 880;
 ν (POH) 2650.

Spectrul R.M.N. (D_2O , δ , ppm) 1,19 (m, 3 H, CH_3CP);
1,7 (m, 2 H, PCH_2);
3,3-2,4 (m, 3 H, oxiran).

7.6.1. Estarii ai acizilor epoxifosfinici

- Metil-(2,3-epoxipropil)-metilfosfinat (76)

La o soluție de 13,4 g (0,1 mol) metil-alilmetilfosfinat (75) în 150 ml cloroform, sub agitare și răcire, se adaugă 8,36 g (0,1 moli) acid peracetic.

Amestecul se menține sub agitare, la temperatura camerei, timp de 10 ore, apoi se lasă în repaus (cu agitare ocizională), timp de 48 ore. Amestecul se spală cu 50 ml soluție de bicarbonat de sodiu 2%, se separă stratul organic, se usucă pe sulfat de magneziu, se evaporă solvenții, iar reziduul se distilă la presiune scăzută. Rezultă 8,1 g (52%) lichid incolor, cu miros eteric pătrunzător. $P_f = 86^\circ\text{C}/2 \text{ mm}$;

$$d_4^{20} = 1,1496 ; \quad n_D^{20} = 1,4626.$$

$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_3\text{P}$ (150) Calc. : C:40,00; H:7,33; O:32,00; P:20,67.
Găsit : C:40,08; H:7,26; O:31,96; P:20,70.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (PO) 1240; ν (epox) 836, 870.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 1,78 (m, 6 H); 2,6 (m, 3 H).

- Metil-(2,3-epoxipropil)-alilfosfinat (77)

A fost obținut în mod similar cu compusul (76) descris mai sus. Pornind de la 14,8 g (0,1 moli) alilfosfinat (75), se obțin 9,18 g (56%) epoxifosfinat (77), lichid incolor, $P_f = 98^\circ\text{C}/3 \text{ mm}$.

$$d_4^{20} = 1,1509 ; \quad n_D^{20} = 1,4612$$

$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_3\text{P}$ (164) Calc. : C:43,90; H:7,92; O:29,26; P:18,92.
Găsit : C:43,85; H:8,01; O:29,31; P:18,93.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (PO) 1240; ν (epox) 840 - 844.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 1,75-2,18 (dd, 2 H, POCH_2);
2,6-3,2 (m, 3 H, epox);
5,02 (m, 1 H, OH).

- Metil-(2,3-epoxipropil)-alilfosfinat (76 a)

- Alil-(2,3-epoxipropil)-alilfosfinat (77 a)

Sinteza celor doi compuși a fost efectuată aplicând metoda descrisă pentru epoxifosfinații (76) și (77), pornind de la stilesterii (82) și respectiv (83), cu randament 48 - 52%. Ulei incolor, viscos, $P_f = 112^\circ\text{C}/2,5 \text{ mm}$.

(76 a) $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_3\text{P}$ (164) Calc. : C:43,90; H:7,92; O:29,27; P:18,93
Găsit : C:43,83; H:7,97; O:29,33; P:18,92

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (PO) 1260; ν (epox) 840, 860.

$C_{17}H_{15}O_2$ (278) Calc.: C:47,19; H:3,42; O:26,96; P:17,43.
Găsit: C:47,24; H:3,36; O:27,01; P:17,39.

Ulei încolor, $n_D^{20} = 1,20^{10}/2$ mm.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (C=O) 1260; ν (epox) 830, 830.

Ampli epoxidofosfinați, au fost utilizați după sinteză, în sinteza acizilor 2,2-epoxidofosfinici corespunzători (84) și (85).

7.3.1. Sinteză intermediară prin epoxidofosfinat

- 2,2-epoxidofosfinatul de etil (72)

În o soluție de 25,4 g (0,2 moli) metil-diclorfosfină (CH_3Cl_2) și 4,4 g (0,4 moli) trietilamina în 250 ml benzen, se adaugă cu agitare și încălzire, mai întâi 9,2 g (0,2 moli) etanol, apoi 11,2 g (0,2 moli) alcool propargilic.

După agitarea amestecului la temperatura camerei timp de 2 ore, se răcește, timp de încă 3 ore, clorhidratul de trietilamină se îndepărtează prin filtrare, iar soluția benzenică se prelăvează în nouă descriș pentru obținerea propădie-
fosfinatului (72).

Se obțin 25,1 g (80%) rețil-propădienfosfinat de etil, sub formă unui ulei de culoare închisă, care se supune distilației în 200 ml etanol, în prezență de 0,25 g catalizator de P_2O_5 , 10%.

După îndepărtarea solventului și distilarea rezidului, se obțin 12,35 g (80%) fosfinat (72), lichid încolor, mobil, $n_D^{20} = 1,17^{10}/15$ mm.

$C_{17}H_{15}O_2$ (278) Calc.: C:47,19; H:3,42; O:26,96; P:17,43.
Găsit: C:47,19; H:3,42; O:26,96; P:17,43.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (C=O) 1260, ν (C=C) 1640;
 ν (C=C) 1640.

- 2,2-epoxidofosfinatul de etil (73)

Ampli obținut în mod similar cu fosfinatul (72), por-
tând în el etil-diclorfosfină (71), cu un randament total de 72%.
Lichid încolor, mobil, $n_D^{20} = 1,17^{10}/15$ mm.

$C_{17}H_{15}O_2$ (278) Calc.: C:47,19; H:3,42; O:26,96; P:17,43.
Găsit: C:47,19; H:3,42; O:26,96; P:17,43.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) ν (C=O) 1260; ν (C=C) 1640;
 ν (C=C) 1640.

Sinteza alchilfosfinaților (74, 75, 82, 83) -

- Metil-alilmetilfosfinat (74)

La 54,5 g (0,45 moli) bromură de alil încălzită la reflux, se adaugă sub agitare, în decurs de 30 minute, 16,2 g (0,15 moli) metilfosfonit de dimetil (78). (Bromura de alil se ia într-un exces de 3 : 1 față de fosfonit).

Amestecul de reacție se refluxează timp de 6 ore, excesul de bromură de alil se îndepărtează la presiune scăzută, (trompă de apă), iar reziduul se distilă în vid. Rezultă 13,47 g (67%) lichid incolor, mobil, $P_f = 104^\circ\text{C}/10\text{ mm}$.

$$d_4^{20} = 1,0308 ; \quad n_D^{20} = 1,4590.$$

$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_2\text{P}$ (134) Calc. : C:44,77; H:8,20; O:23,88; P:23,15.

Găsit : C:44,71; H:8,27; O:23,31; P:23,21.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) \nearrow (POC) 1030; \nearrow (C=C) 1640.

In mod similar au fost obținuți, următorii alilfosfinați :

- Etil-alilmetilfosfinat (75)

Pornind de la etilfosfonitul de dimetil (79), cu un randament de 59%. Lichid incolor, mobil, $P_f = 90^\circ\text{C}/5\text{ mm}$.

$$d_4^{20} = 1,0348 ; \quad n_D^{20} = 1,4582.$$

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_2\text{P}$ (148) Calc. : C:48,64; H:8,78; O:21,62; P:20,96.

Găsit : C:48,67; H:8,73; O:21,58; P:21,02.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) \nearrow (POC) 1040; \nearrow (C=C) 1634.

- Metil-aliletilfosfinat (82)

S-a sintetizat pornind de la metilfosfonitul de di-
etil (80), cu un randament de 62%.

Lichid incolor, mobil, $P_f = 96^\circ\text{C}/8\text{ mm}$.

$$d_4^{20} = 1,0402 ; \quad n_D^{20} = 1,4572.$$

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_2\text{P}$ (148) Calc. : C:48,64; H:8,78; O:21,62; P:20,96.

Găsit : C:48,58; H:8,82; O:21,69; P:20,91.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) \nearrow (POC) 1028; \nearrow (C=C) 1030.

- Bis-dimetilfosforit (67)

Se-a sintetizat purtând de la etilfosforitul de dietil, cu un randament de 55%. Lichid incolor, mobil, $P_2 = 21-22^{\circ}\text{C}/10\text{ mm.}$

$$n_D^{20} = 1,0322 ; \quad n_D^{20} = 1,4541$$

$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{O}_2\text{P}_2$ (162) Calc. : C:51,55; H:9,26; O:19,75; P:19,14.

Gasit : C:51,78; H:9,32; O:19,73; P:19,17.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) \uparrow (200) 1030; \uparrow (C=O) 1644.

Sinteză dieteril-alchilfosforitilor (78, 79, 80, 81)

Dimetilfosforiții au fost sintetizați prin două metode: esterificarea directă a alchilalcofosforinilor corespunzătoare cu etanol sau etanol (metoda 1) sau prin trecerea alchilidiclorfosforinilor în bis-dimetilamoniți și alcooliza acestora (metoda 2), obținând produse identice.

- Dietil-dimetilfosforit (78)

1. La o soluție de 12,8 g (0,4 moli) metanol și 20,2 g (0,2 moli) dietilamoniți, în 150 ml eter anhidru, sub atenție de urgență și agitare intensă, se adaugă la -10°C , o soluție de 23,4 g (0,2 moli) metilidiclorfosforin în 100 ml eter. Reacția se mai agită la temperatura camerei timp de 2 ore, se îndepărtează cantitativ de dietilamoniți prin filtrare, din filtrat se elimină solvantul, iar rezidutul se distilă la presiune scăzută. Se obține 7,35 g (55%) lichid incolor, mobil, $P_2 = 62^{\circ}\text{C}/500\text{mm.}$

2. La o soluție de 54 g (1,2 moli) dimetilamoniți în 200 ml eter anhidru, sub agitare și răcire la -10°C , se adaugă o soluție de 35,1 g (0,3 moli) metilidiclorfosforin în 150 ml eter. Reacția de reacție se agită la rece timp de 2 ore, apoi încă o dată la temperatura camerei. Cantitativ de dimetilamoniți format în reacție se îndepărtează prin filtrare, iar din filtrat se evaporă solvantul. Rezidutul (aproximativ 27 g) reprezintă bis-dimetilamoniți și alchilidiclorfosforin, se tratează cu 28,8 g metanol (pentru 1), iar amestecul se agită timp de 2 ore. După eliminarea amestecului de reactivi, rezidutul se distilă la presiune scăzută, 11,78 g (43%) lichid incolor, mobil, $P_2 = 62-63^{\circ}\text{C}/500\text{mm.}$

$$d_4^{20} = 1,0525 ; \quad n_D^{20} = 1,4174.$$

$C_3H_9O_2P$ (108) Calc. : C:33,33; H:8,33; O:29,62; P:28,72.
Găsit : C:33,39; H:8,26; O:29,71; P:28,64.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) $\bar{\nu}$ (PC) 780; $\bar{\nu}$ (POC) 1080.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 1,23 (d, 3 H, CH_3P); 1,78 (s, 6 H, CH_3C).

- Dietil-metilfosfonit (80)

A fost sintetizat prin metoda B, cu un randament de 91%.
Lichid incolor, mobil, $P_f = 48 - 50^\circ C/50$ mm.

$$d_4^{20} = 1,0520 ; \quad n_D^{20} = 1,4168.$$

$C_5H_{13}O_2P$ (136) Calc. : C:44,12; H:9,56; O:23,53; P:22,79.
Găsit : C:44,19; H:9,61; O:23,45; P:22,75.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) $\bar{\nu}$ (PC) 810; $\bar{\nu}$ (POC) 1068.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 1,57 (d, 3 H, CH_3P);
1,81 (t, 6 H, CH_3C); 3,50 (m, 4 H, OCH_2).

- Dimetil-etilfosfonit (79)

A fost obținut prin metoda A, cu un randament de 41%.
Lichid incolor, $P_f = 75 - 76^\circ C/230$ mm.

$$d_4^{20} = 1,0546 ; \quad n_D^{20} = 1,4140.$$

$C_4H_{11}O_2P$ (122) Calc. : C:39,34; H:9,01; O:26,23; P:25,42.
Găsit : C:39,26; H:9,11; O:26,20; P:25,45.

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) $\bar{\nu}$ (PC) 808; $\bar{\nu}$ (POC) 1080.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 1,48 (d, 3 H, CH_3P);
1,86 (t, 6 H, CH_3C);
3,44 (m, 4 H, OCH_2).

- Dietil-etilfosfonit (81)

A fost sintetizat prin metoda B, cu un randament de 94%.
Lichid incolor, $P_f = 61^\circ C/35$ mm.

$$d_4^{20} = 1,0538 ; \quad n_D^{20} = 1,4201.$$

$C_6H_{15}O_5P$ (150) Calc. : C:47,99; H:10,07; O:21,33; P:20,61.
Găsit : C:48,03; H:10,11; O:21,23; P:20,58.

Spectrul i.r. (COCl_2 , cm^{-1}) $\bar{\nu}$ (PC) 812; $\bar{\nu}$ (POC) 1080.
 Spectrul r.m.n. (CCl_4 , δ , ppm) 1,14 (m, 3 H, CH_3CP);
 1,76 (t, 6 H, CH_3C);
 2,0 (m, 2 H, CCH_2P);
 3,48 (m, 4 H, OCH_2).

- Clorura acidului metilfosfonos (metil-diclorofosfina) (70)

Într-un balon cu 4 gâturi, de formă conică, alungită, prevăzut cu agitator mecanic, tub de barbotare, termometru de imersiune și refrigerent cu manta, conținând ca agent de răcire acetona-zăpadă carbonică, se introduce 200 g (1,5 moli) clorură de aluminiu, fin pulverizată și 137,5 g (87,35 ml, 1 mol.) triclorură de fosfor. Amestecul se încălzește la $75-78^\circ\text{C}$, apoi sub agitare energetică, se introduce un curent slab de clorură de metil (cu un debit de 1,5 - 2 l/oră). După aproximativ 1 oră, când amestecul devine mai fluid, debitul de clorură de metil se mărește la 4,5 - 5 l/oră. Spre sfârșitul reacției; (după aproximativ 3,5 - 4 ore), amestecul devine din nou vâscos; la acest punct, debitul de clorură de metil se reduce sub 0,5 l/oră, continuând agitarea și încălzirea până la formarea unei paste semi-solide. Când la sfârșitul reacției se absoarbe o cantitate de aproximativ 50,5 g (1 mol Cl_2Cl).

Se înlocuiește condensatorul cu zăpadă carbonică, cu un refrigerent ascendent simplu, dar protejat față de umiditatea atmosferică și se lasă să se degaje clorura de metil nereacționată.

Masa de reacție se lasă să se răcească, apoi cu răcire intensivă, cu gheață, se adaugă 600 ml dietilftalat pentru dizolvarea complexului format. Soluția limpede astfel formată, se încălzește la 70°C și se degazează reducând presiunea în mod progresiv până la 2-3 mm.

După răcirea soluției la temperatura camerei, sub agitare energetică, se adaugă într-o singură porțiune, 81,2 g (0,667 moli) pulbere de stibiu metallic și se răcește balonul din exterior, pentru a compensa efectul reacției exoterme, astfel ca temperatura amestecului să nu depășească $55 - 60^\circ\text{C}$. După dizolvarea aproape integrală a stibiului metallic (când culoarea amestecului se deschide de la cenușiu închis la alb), se distilă produsul brut la $75 - 80^\circ/10$ mm, iar distilatul cules într-un recipient rece cu zăpadă carbonică în acetona, se rectifică; $P_f = 80,5 - 81,5^\circ/760$ mm.

Rezultă aproximativ 102 g (87 - 88% randament mediu stabilit din mai multe experiențe) lichid incolor, care la păstrare depune un solid de culoare galbenă.

Produsul obținut după o a doua rectificare, are o puritate de 98,2% (determinat gazcromatografic).

$$d_4^{20} = 1,3026 ; \quad n_D^{20} = 1,4941$$

CH_3PCl_2 (117).

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) \nearrow (PC) 780, 820.

Spectrul R.M.N. (CCl_4 , δ , ppm) 1,76 (d, 1 CH_3 , $J_{\text{CH}_3\text{P}} = 18$ Hz).

- Diclorura acidului etilfosfonos (etildiclorofosfina) (71)

Se obține în modul descris pentru (70), utilizând pentru formarea complexului 133,5 g (1 mol) clorură de aluminiu, 137,5 g (87,35 ml, 1 mol) triclorură de fosfor și 77,4 (1,2 moli) clorură de etil, cu deosebirea că în locul tubului de barbotare pentru clorura de metil, se utilizează o pîlnie picurătoare, răcită cu acetonă-zăpadă carbonică, din care se adaugă reactantul, cu o asemenea viteză, încît la capătul condensatorului cu zăpadă carbonică-acetonă, să se mențină un reflux moderat. Se obțin 99 g (75,5%) lichid incolor $P_f = 113 - 114^\circ\text{C}/760$ mm.

După o a doua rectificare la $59 - 60^\circ\text{C}/130$ mm, -produsul are o puritate de 98,6% (determinat gazcromatografic).

$$d_4^{20} = 1,2988 ; \quad n_D^{20} = 1,4922.$$

$\text{C}_2\text{H}_5\text{PCl}_2$ (131)

Spectrul I.R. (CCl_4 , cm^{-1}) \nearrow (PC) 780, 810; \nearrow (PCC) 1090.

Spectrul R.M.N. (C_6D_6 , δ , ppm) 1,14 (m, 1 CH_3 , $J_{\text{CH}_3\text{P}} = 15$ Hz);
2,0 (m, 1 CH_2 , $J_{\text{CH}_2\text{P}} = 15$ Hz);
 $J_{\text{CH}_3-\text{CH}_2} = 7,5$ Hz).

7.7. Sinteza fosfona și fosfinoepoxizilor marcați cu P^{32}

- Acidul (\pm)-cis-1,2-epoxipropilfosfonic (P^{32}) (86)

Acidul (86) a fost sintetizat prin aplicarea metodei descrise la pagina 125 pentru sinteza fosfomicinei, prin epoxidarea acidului (2) cu apă oxigenată, cu deosebirea că aducerea pH-ului mediului de reacție, s-a făcut cu o soluție de bicarbonat de sodiu 10%, iar în final a fost obținut un amestec racemic.

Pentru realizarea sintezei într-un timp cât mai scurt, nu au mai fost efectuate operațiile de purificare a intermediarilor, aceștia fiind utilizați ca atare în etapele următoare de sinteză.

Conform rețetei descrise pentru obținerea propadienilfosfonatului (13), (pag. 136), o soluție de 1,375 g triclorură de fosfor P^{32} (10 m Ci/g) și aceeași cantitate de triclorură de fosfor nemarcată (în total 0,02 moli) și 3,13 g (0,031 moli) trietilamină, în 25 ml benzen, a fost tratată cu 1,48 g alcool tert-butilic în 10 ml benzen, apoi cu 0,56 g alcool propargilic.

După prelucrarea amestecului de reacție în modul descris, s-au obținut 3,1 g di-(tert-butil)-propadienilfosfonat (13), brut, care după hidrogenare, urmată de fierbere cu 10 ml acid clorhidric concentrat și prelucrarea amestecului de reacție în modul indicat pentru obținerea acidului (2) (pag. 129 - metoda B), a conșus la 2,15 g acid brut.

Prin epoxidarea acidului (2), cu 2,7 ml perhidrol, au fost izolați 0,66 g (randament total 31%) acid (1) sub formă de sare monosodică - monohidrat, cu o activitate specifică de 1,634 mCi/g.

- Acidul cis-1,2-epoxipropil-metilfosfinic (P^{32}) (87)

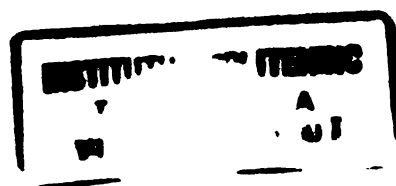
Metil-epoxipropilfosfinatul radioactiv (87) a fost sintetizat prin aplicarea metodei descrise pentru sinteza compusului neradioactiv (69 a) (capitolul 7.6).

Pentru obținerea intermediarului (72) - esterul etilic al acidului cis-propenil-metilfosfinic, s-a utilizat metil-diclorfosfina marcată radioactiv, obținută în modul descris anterior (compusul 70). Spre deosebire însă de sinteza compusului radioactiv (86), descrisă mai sus, în cazul epoxifosfinatului (87), purificarea intermediarilor nu a putut fi evitată, aceste operațiuni fiind efectuate concomitent cu izolarea compusilor respectivi.

Pornind de la 1,718 g triclorură de fosfor P^{32} (activitate specifică inițială 10 mCi/g), aceeași cantitate de triclorură de fosfor nemarcată (în total 0,025 moli), s-au obținut 1,41 g (48%) metildiclorfosfină (70).

Prin esterificarea succesivă a acestui compus, mai întâi cu 0,55 g etanol, apoi cu 0,07 g alcool propargilic, s-au obținut 1,20 g (85%) etil-propadienil-metilfosfinat (72).

După hidrogenare, epoxidare cu perhidrol și deblocarea grupei esterice cu trimetilclorsilan, urmată de hidroliză, s-au izolat 0,756 g (52%) compus (37) sub formă de sare de solid monohidrat, avînd o activitate specifică inițială de 0,807 mU/g.



8. B I B L I O G R A F I E

=====

- 1.- D.Purdelea și R.Vîlceanu. Chimia compușilor organici ai fosforului și ai acizilor lui. Ed.Acad. R.S.R., București, 1965;
- 2.- J.Cheyamol, P.Chabrier și G.A.Carayon. Biol Med. 52, (5), 527, (1963);
- 3.- J.Cheyamol, P.Chabrier, G.Deysson și G.A.Carayon. Biol.Med. 56, (6), 519, (1967);
- 4.- H.Bauer. J.Amer.Chem.Soc. 63, 2137, (1941);
- 5.- M.J.Klotz. J.Amer.Chem.Soc. 66, 459, (1944);
- 6.- M.J.Klotz și H.R. Guttman. J.Amer.Chem. Soc. 67, 558, (1945);
- 7.- M.J.Klotz, E.Burkhard și J. Urquard. J. Amer. Chem. Soc. 74, 203; (1952);
- 8.- O.G.Arhipova și T.J.Medvedi. Ghig. Trudî i profzab. 1963, (12), 33;
- 9.- D.Hendlin, E.O.Stapley, M.Jackson, H. Wallick, A.K.Miller, F.J.Wolf, T.V.Miller; L.Chaiet, F.M.Kahan, E.L.Foltz și H.B.Woodruff. Science, 166, (3901), 121, (1969);
- 10.- B.G.Christiensen, W.J.Lanza, T.R.Beattie și A.A.Patchett. Science, 166, (3901), 123, (1969);
- 11.- J.L.Strominger. Biochem. Biophys. Acta. 30, 645, (1958);
- 12.- K.G.Gunetilike și R.A.Anwar. J.Biol. Chem. 243, 5770, (1968);
- 13.- J.E.Glankowski, G.Gal, R.Purich, A.J.Davidson și M. Sletzinger. J.Org.Chem. 25, (10), 3510, (1970);
- 14.- R.A.Fireston. U.S.Pat. 1.924.093, 20 febr. 1970. Chem. Abstr. 72, 132971, (1971);
- 15.- S.H.Pines și S.Karady. U.S.Pat. 1.924.148, 16 apr. 1970. Chem. Abstr. 72, 132975 (1971);

- 16.- R.A.Fireston și E.J.Glanowski. U.S.Pat. 1.924.105, 16 apr. 1970. Chem. Abstr. 72, 132952, (1971);
- 17.- M.Sletzinger și S.Karady. U.S.Pat. 2.002.863, 3 dec. 1970, Chem. Abstr. 74, 53988, (1971);
- 18.- J.S.Kittredge și E.Roberts. Science, 164, 37, (1969);
- 19.- A.K.Miller. Chemotherapie, 8, 154, (1964);
- 20.- A.N.Pudovik și M.N.Frolova. Zhur. obschei Khim. 22, 2052, (1952);
- 21.- A.N.Pudovik și B.A.Arbutov. Izv.Akad.Nauk S.S.S.R. Otd. Khim. Nauk. 1949, 522;
- 22.- J.A.Cade. J.Chem. Soc. 1959, 2266; 2272;
- 23.- S.Kaufman. U.S.Pat. 2.843.614. 15 mai 1958, Chem.Abstr. 53, 2090, (1959);
- 24.- V.M.Ignatiev, B.I.Ionin și A.A.Petrov. Zhur. Obschei Khim. 36, 1505, (1966);
- 25.- V.Mark. Mechanisms of molecular migrations. vol.II. Interscience, New-York, 1969, p.319;
- 26.- A.A.Petrov, B.I.Ionin și V.M.Ignatiev. Tetrahedron Lett. 1968, 15;
- 27.- E.F.Schoenewaldt. U.S.Pat. 1.924.231, 5 febr. 1970. Chem. Abstr. 72, 132972, (1971);
- 28.- V.Mark și J.R. Van Wazer. J.Org. Chem. 29, 1006, (1964);
- 29.- B.I.Ionin și A.A.Petrov. Zhur. Obschei Khim. 34, 1174, (1964);
- 30.- A.V.Fedorova și A.A.Petrov. Uspehi Khim. 33, 3, (1964);
- 31.- A.N.Pudovik, I.M.Aladjeva și L.N.Iahovenko Zhur. Obschei Khim. 35, 1210, (1965);
- 32.- G.B.Payne, P.H.William. J.Org. Chem. 24, 54, (1959);
- 33.- V.M.Ignatiev, B.I.Ionin și A.A.Petrov. Zhur. Obschei Khim. 37, 1898, (1967);
- 34.- I.Martin, S.Mochales, S.Hernandez și M.J.Martinez. Ann. Inst. Farmacol. Espan. 17-18, 453, (1970);
- 35.- B.I.Ionin și A.A.Petrov: Zhur. Obschei Khim. 32, 2387, (1962);
- 36.- A.Deneș, în "Substanțe chimice de luptă". Ed.Militară,

- București, 1971, p. 128;
- 37.- R.Schuman, U.S.Pat. 1.924.084, 8 ian. 1970. Chem. Abstr. 73, 4027, (1970);
- 38.- J.R.Van Wazer. Phosphorus and its compounds. Interscience. New-York, London. 1958, vol.2;
- 39.- A.N.Pudovik. Zhur. Obschei. Khim. 20, 97, (1950);
- 40.- A.N.Pudovik și I.M.Aladjeva. Zhur. Obschei Khim. 33, 707, (1963);
- 41.- V.Mark. Tetrahedron Lett. 1962, 281;
- 42.- A.Boiselle și N.J.Meinhardt. J.Org. Chem. 27, 1828, (1962);
- 43.- A.N.Pudovik, I.M.Aladjeva și L.N.Iakovenko. Zhur. Obschei Khim. 33, 3443, (1963);
- 44.- A.N.Pudovik și A.N.Aladjeva. Dokladi Akad. Nauk S.S.S.R. 151, 1110, (1963);
- 45.- V.Mark, C.H.Dungan, M.M.Crutchfield și J.R.Van Wazer. Topics in Phosphorous chemistry. Interscience, New-York, London, 1970, vol.5, p.227;
- 46.- A.N.Pudovik și V.K.Krupnov. Zhur. Obschei Khim. 38, 304, (1968)
- 47.- G.B.Payne și P.H.Williams. J.Org. Chem. 24, 54, (1959);
- 48.- R.Belcher și B.Fleet. J.Chem. Soc. (London), 1965, 1740;
- 49.- B.G.Christensen și L.D.Carma. U.S.Pat. 2.002.415, 26 noiembrie 1970. Chem. Abstr. 75, 77031, (1971);
- 50.- A.Cramm. J. Amer. Chem. Soc. 78, 2518, (1956);
- 51.- L.F.Hatch și A.C.Mopre. J. Amer. Chem. Soc. 66, 285, (1944);
- 52.- A.Rosawsky. Heterocyclic compounds with three and four-membered rings. Part.I. vol.19, din seria "The Chemistry of Heterocyclic compounds" Interscience, New-York, 1964;
- 53.- A.D.Cross. Quart. Rev. 14, 317, (1960);
- 54.- I.Els. J. Amer. Chem. Soc. 80, 3777, (1958);
- 55.- A.Hochstein și J. Woodward. J. Amer. Chem. Soc. 92, 3225, (1960);
- 56.- F.M.Kahan și P.J.Cassidy. Ger. Pat. 2.048.375. 22 apr.

1971. Chem. Abstr. 75, 40440, (1971);
- 57.- B.G.Christiensen și W.I.Leanza. Brit. Pat. 1.244.910, - . . .
2 sept. 1971. Chem. Abstr. 75, 129940, (1971);
58. V.Schenk. H.Hargie și N.W.Tarbell. J.Amer. Chem. Soc. 75,
2274, (1953);
- 59.- L.Landquist. Chem. and Ind: 1953, 973; . . . - . . .
- 60.- J.Patrick. H.Williams and W.Webb.: J. Amer. Chem. Soc. 80,
6688, (1958);
- 61.- J.Patrick, H.Williams and W.Webb. J.Amer. Chem. Soc. 80,
6689; (1958);
- 62.- R.A.B.Bannard. Canad. J. Chem. 31, 976, (1953); . . . - . . .
- 63.- J.B.Connant și B.B.Coyne. J. Amer. Chem. Soc. 44, 2530,
(1922);
- 64.- M.J.Kabacnik și E.S.Shepelova. Izv. Akad. Nauk S.S.S.R.
1950, 39; Chem. Abstr. 44, 7257, (1950); - . . .
- 65.- M.J.Kabacnik și E.S.Shepelova. Izv. Akad. Nauk S.S.S.R.
1951, 185; Chem. Abstr. 45, 10.191, (1951);
- 66.- M.S.Kharasch, R.A.Mosher și I.S.Bengelsdorf. J.Org. Chem.
25, 1000, (1960);
- 67.- A.K.Hell. U.S.Pat. 2.593.213 (1948); Chem. Abstr. 45,
304, (1951);
- 68.- Houben-Weyl. Methoden der organischen Chemie. vol.XIII/1.
Organische phosphorverbindungen. Georg Thieme,
Verlag. Stuttgart, 1963, p. 362;
- 69.- G.M.Kosolapoff, U.S.Pat. 2.389,576 (1945); Chem. Abstr.
40, 1536, (1946);
- 70.- G.M.Kosolapoff și W.F.Huber. J.Amer. Chem. Soc. 68, 2540,
(1946);
- 71.- E.Bergmann și A.Bondi. Ber. 66, 278, (1933);
- 72.- G.M.Kosolapoff. U.S.Pat. 2.389.576, (1945); Chem. Abstr.
40, 1536, (1946);
- 73.- A.V.Dogadina, Y.D.Nechaev, B.I.Ionin și A.A.Petrov. Zhur.
Obschei Khim. 41, 1662, (1971);

- 74.- M.S.Chatta și A.M.Aquiar. J.Org. Chem. 36, 2719, (1971);
- 75.- A.P.Rakov și A.V.Alekseev. J. Of. Gen. Chem. U.S.S.R. (engl), 43; 275, (1973);
- 76.- V.F.Martinov și V.B.Timofeev. Zhur. Obschei Khim. 34, 3890, (1964);
- 77.- T.Agawa, T.Kubo și Y.Oshiro, Synthesis, 1971, 27;
- 78.- R.H.Churi și C.E. Griffin. J. Amer. Chem. Soc. 88, 1824, (1966);
- 79.- B.G.Liorber și A.I. Razumov. Zhur. Obschei Khim. 36, 314, (1966);
- 80.- B.G. Christensen, G.L.Walford și C.H.Shunk Ger. Pat. 2.002.807 (1970); Chem. Abstr. 73, 109.900, (1970);
- 81.- B.G.Christensen, G.Burton, T.R.Beattie și W.J.Lanza. Ger. Pat. 1.805.677; Chem. Abstr. 72, 67089, (1970);
- 82.- B.G.Cristiensen, T.R.Beattie și D.W.Graham. Fr. Pat. 2.034.480; Chem. Abstr. 75, 88759; (1971);
- 83.- C.C.Culvenor, W.Davies și K.E. Pausacker. J. Chem. Soc. 1946, 1050;
- 84.- E.Bărbulescu, N. Bărbulescu și C.Greff. Reacții ale compușilor organici. Ed. Tehnică, București, 1972, p. 205;
- 85.- M.Murayama, S.Matsumuru, I.Ezure și E.Ozaki. Brev. Jap. 7.301.072 (1973); Chem. Abstr. 78, 159.866, (1973);
- 86.- F.M.Kahan, J.S.Kahan, P.J.Cassidy și H.Knapp. Ann. New-York Acad. Sci. 235, 364, (1974);
- 87.- S.Goto, I.Dogasaki, Y.Karmeko, M.Ogawa, T.Takio și Sh. Kuwahara. Chemotherapy (Tokio), 23, 1653, (1975); Chem. Abstr. 83, 188419, (1975);
- 88.- S.Mitsubishi, T.Tanaka și S.Kurashige. Chemotherapie, (Tokio), 23, 1649, (1945); Chem. Abstr. 83, 188420, (1975);
- 89.- J.Borowski și H.Linda. Ard. Immunol. Ther. Exp. 24, 191, (1976);

- 90.- D.Hendlin, M.J.Martinez și V.Mochales. U.S. Pat., 935.309, (1975); Chem. Abstr. 84, 116004, (1976);
- 91.- F.Guichard. Ber. dtsh. Chem. Ges. 32, 1572, (1899);
- 92.- A.Michaelis, Ann. 1896, 293;
- 93.- V.Zaharkin. Izv. Akad. Nauk. S.S.S.R. 1958, 1006;
- 94.- R.B.Fox. J. Amer. Chem. Soc. 72, 4147, (1950);
- 95.- M.S.Kharasch, E.W.Jensen și S.Weihause J. Org. Chem. 14, 429, (1949);
- 96.- M.S.Kharasch și E.W.Jensen. U.S.Pat. 2.636.893, (1953);
- 97.- J.P.Clay. J. Org. Chem. 16, 892, (1951);
- 98.- F.W.Hoffman. J. Amer. Chem. Soc. 84, 851, (1962);
- 99.- S.A.Pianfett și L.D.Quin. J.Amer. Chem. Soc. 84, 851, (1962);
- 100.- A.N.Kinnear și E.A. Perren. J.Chem. Soc. 1952, 3439;
- 101.- L.Maier. Angew. Chem. 71, 574, (1959);
- 102.- L.Maier. Helv. Chim. Acta. 46, 2026, (1963);
- 103.- Gefter E.L. Brevet U.R.S.S. 159.527, (1963);
- 104.- Gefter E.L. Brevet U.R.S.S. 160.026; (1972);
- 105.- A.Doneș, N.Luță și A.Lazanu. Sinteza și caracterizarea unor alchidiclorfosfine inferioare. Sesiunea de comunicări științifice a Academiei Militare, București, 6 octombrie 1976;
- 106.- M.Bals. Terapia infecției. Ed. Medicală, București, (1972), p. 318;
- 107.- H.Ericson. Scand J. Clin. Lab. Investig. 12, 423, (1966);
- 108.- J.B.Reesor, B.J.Perry și E.Scherlock. Can. J. Chem. 38, 1416, (1960);
- 109.- N.N.Girotra și N.L.Wendler. Tetrahedron Lett. 1969, 4647;
- 110.- L.J.Bellamy. The infrared spectra of complex molecules. J.Willey, New-York, (1962); p. 53;
- 111.- J.H.Wotiz și D.E. Mancuso. J. Org. Chem. 22, 207, (1957);
- 112.- E.M.Popov, M.J.Kabacinik și L.S.Maianț. Usp. Khim. 30, 846, (1961);

- 113.- M.Avram și Gh.D.Mateescu. Spectroscopia în infraroșu - aplicații în chimia organică. Ed. Tehnică, București, 1966, p.346;
- 114.- C.N.R.Rao. Chemical applications of infrared spectroscopy. Academic Press, New-York, 1963;
- 115.- K.Hunger. Chem. Ber. 101, 3530, (1968);
- 116.- L.W.Daasch și D.S.Smith. Analytical Chem. 23, 853, (1951);
- 117.- R.C. Morris și V.J.L.Winkle. U.S.Pat. 2.728.789 (1955); Chem. Abstr. 50, 10759, (1956);
- 118.- D.C.Rowlands. U.S.Pat. 2.728.791, (1955); Chem. Abstr. 50, 10759, (1956);
- 119.- G.Kamai și E.A. Gherasimova. Tr. Kazan Khim. Tehn. Inst. 23, 138, (1957); Chem. Abstr. 52, 9946, (1958);
- 120.- M.J.Karplus. J. Chem. Phys. 30, 11, (1959);
- 121.- C.A. Reilly și J.D.Swalen. J.Chem. Phys. 32, 1378, (1960);
- 122.- M.J. Karplus. J. Amer. Chem. Soc. 85, 2870, (1963);
- 123.- Proces tehnologic pentru obținerea glicerinei. Vol. Obținerea clorurii de alil. M.I.Ch. Petro-Chim-Ploiești. 1970;
- 124.- R.F.White, J.Birnbaum, R.T. Mayer, J. Brocke, J.M. Chernerda și A.L.Demain. Appl. Microbiol. 22, 55, (1971);
- 125.- O.Cedor și B.Hansson. Acta. Chem. Scand. (Seria B. Org. Chem. and Biochem.), 30, 574, 1976.
- 126.- H.H.Jaffé și M.Orchin. Theory and applications of ultra-violet spectroscopy. John Wiley, New-York, 1962, p. 449.
- 127.- W.D.Celmer și J.A. Solomons. J. Amer. Chem. Soc. 25, 1372, (1953);
- 128.- H.Shafer, W.J.A. Vandenhauvel, R.Ormond, F.E. Kuehl și F.J.Wolf. J.of.Chromatogr. 52, 111, (1970);
- 129.- C.D.Nenițescu. Chimie organică. Ed.didactică și pedagogică, București, 1966, Ed.VI. vol.1, p.500;

- 130.- J.A.Washington, Antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae and nonfermenting Gram-negative Bacilli - Mayo Clin. Proc. 44, (1969), 811; A.W.Kimbal. Arch. Exptl. Path. Pharmacol. 174, (1932), 540;
- 131.- U.Hackenberg, Arch. Exp. Path. Pharmacol. 1959, (1), 236;
- 132.- U.Hackenberg și H.Barling. Arch. Exp. Path. Pharmacol. 1959, (5), 437;
- 133.- S.Trippett. Specialist Periodical Reports; Organophosphorus Chemistry. The Chemical Soc.London. 1971; vol.II, p: 108;
- 134.- V.M.Clarck și D.W.Hutchinson. Progr. Org. Chem. 7, (1968), 75;
- 135.- G.Schräder. Die entwicklung neuer insektizider phosphorsäure-ester. Verlag Chemie GMBH, Weinheim - Bergstr. 1963, p. 11;
- 136.- L.E.Tammelin. Scand. J., Clin. Lab. Invest. 5, (1953), 267;
- 137.- J.P.Koch, S. Hayashi și E.C.C. Lin. J.Biol. Chem. 239, (1964), 3106;
- 138.- M.R.J.Salton. Microbiological cytology, in "Comprehensive biochemistry" vol. 23. Cytochemistry. Elsevier, Amsterdam, 1968, p. 127;
- 139.- Wark E. Nature, 201, (1964), 1107;
- 140.- J.M.Ghuysen, J.L. Strominger și D.J.Tipper. Bacterial cell walls, in "Comprehensive biochemistry", vol. 26 A. Extracellular and supporting structures. Elsevier, Amsterdam, 1968, p. 53;
- 141.- J.L.Lynch și F.C. Neuhaus, J. Bacteriol. 91, (1966), 1822;
- 142.- J.L.Strominger, E. Ito, R.H.Threnn. J.Amer.Chem.Soc. 82, (1960), 998;
- 143.- U.Roze și J.L.Strominger. Mol. Pharmacol. 2, (1966), 92;
- 144.- W.G.Struve, R.K.Sinha și F.C. Neuhans. Biochemistry, 5, (1966), 82;

- 145.- F.E.Young, *Nature*, 207, (1965), 104; J.L. Strominger și D.J.Tipper, *Amer.J.Med.* 39, (1965), 708;
- 146.- H.H.Martin. *J.Gem. Microbiol.* 36, (1964), 441; J.G.Levin și D.B.Sprinson. *J.Biol.Chem.* 239, (1964), 1142;
- 147.- F.Gibbson. *Biochem. J.* 90, (1964), 256;
- 148.- F.M.Kahan, J.S.Kahan, P.J.Cassidy și H.Krap. *Ann. N.Y.Acad. Sci.* 235, (1974), 364;
- 149.- P.S.Venkateswaran, E.J.J.Lugtenberg și H.C.Wu, *Biochem. Biophys. Acta.* 293, (1973), 570;
- 150.- M.L.Zaremba, D.Dzierżanowska, E.Marawska și M.Bobrowski. *Proc.Intern. Congr. Chemother.* 7th 1971; *Advan. Antimicrob. Antineoplastic Chemother.* 1972, 739;
- 151.- A.Rodriguez, J.Martin - Diez, S.Mochales și J.M.Mata *Ann. Inst. Farmacol. Espan.* 21, (1974), 317;
- 152.- S.Goto, I.Dogasaki, M.Ogawa și T.Takita. *Chemotherapy (Tokio)*, 23, (1975), 1653; *Chem.Abstr.* 83, (1975), 188419;
- 153.- K.Ninomiya, K.Watamabe, S.Kobata și I.Machizuki. *Chemotherapy (Tokio)* 23, (1975), 1662; *Chem. Abstr.* 83, (1975), 188490;
- 154.- M.J.Martinez, A.Gallago. *Future trends Chemoter. Roc.Int. Symp. 1974. Barcelona.* *Chem.Abstr.* 83, (1975), 126853;
- 155.- E.F.Gale. *The molecular basis of antibiotic action.* Ed. University of Hull. 1972;
- 156.- J.Borowski, L. și L.H. Jerzi. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 24, (1976), 131;
- 157.- D.Hendlin. M.M.Justo, M.Sagnario și S.Edward. *U.S.Pat.* 3.935.309 (27.01.1976); *Chem.Abstr.* 34, (1976), 116004;
- 158.- B.G.Cristensen, G.Purton și N.G.Steinberg. *U.S.Pat.* 3.873.547 (25.03.1975); *Chem. Abstr.* 83, (1975), 482112;

- 159.- B.M.Frost; M.E.Valiant, L.Benson și E.L.Dulamey, *Avian Dis.*
18, (1974), 578; Chem. Abstr. (1975),
80429;
- 160.- R.A.Fireston: U.S.Pat. 3.660.432; (02.05.1972), Chem. Abstr.
77, (1972), 34695;
- 161.- W.C.Lunma și J.M. Chemerda. U.S. Pat. 3.658.668, (25.04.1972);
Chem. Abstr. 77, (1972), 152356;
- 162.- R.A. Firestone. U.S. Pat. 3.679.711 (25.07.1972), Chem.
Abstr. 77, (1972), 140285;
- 163.- A.L. Demain și R.F. White. U.S. Pat. 3.681.198 (01.08.1972);
Chem. Abstr. 77, (1972), 112496;
- 164.- R.A. Firestone, U.S. Pat. 3.668.197, (06.06.1972), Chem.
Abstr. 77, (1972), 114560