

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Medicinální chemie



Bc. Natalie Jaklová

Microfluidní reaktory pro chemickou syntézu
Microfluidic reactors for chemical synthesis

Diplomová práce

Školitel: doc. Dr. Ing. Petr Klusoň, DSc.
Školitel specialista: Ing. Petr Stavárek, Ph.D.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 17. 6. 2021

Podpis:

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli doc. Dr. Ing. Petru Klusoňovi, DSc. za ochotu, pomoc a podnětné rady při vedení mé diplomové práce.

Velké díky patří mému školiteli specialistovi Ing. Petru Stavárkovi, Ph.D. za podnětné rady při vyhodnocování výsledků a pomoc při sepisování diplomové práce.

Dále bych ráda poděkovala Ing. Haně Vychodilové, CSc. za neocenitelnou pomoc při provádění experimentů, podnětné rady a přátelský přístup.

Rovněž děkuji Ing. Petře Cuřínové, Ph.D. a Ing. Janě Bernáškové, Ph.D. za pomoc při analytickém stanovení látek.

Dále bych ráda poděkovala Ing. Ladislavu Cvakovi, Ph.D. za konzultace tématu diplomové práce.

Mé největší díky patří mým rodičům za jejich nedocenitelnou podporu a trpělivost během celého studia i psaní této práce.

Abstrakt

Hlavním tématem diplomové práce bylo převedení vsádkově prováděné N-alkylační reakce do kontinuálního režimu. Zkoumanou N-alkylační reakcí byla přeměna methylesteru kyseliny 10 α -methoxydihydrolysergové na methylester kyseliny 1-methyl-10 α -methoxydihydrolysergové. Reakce se využívá ve farmaceutickém průmyslu při výrobě Nicergolinu, který je účinným lékem pro pacienty trpící demencí či Alzheimerovou chorobou. Tato methylační reakce probíhá ve dvou vzájemně nemísitelných kapalných fázích. Ke zvýšení rychlosti reakce je využíváno katalýzy fázovým přenosem, která umožňuje průběh reakce v celém objemu organického rozpouštědla, nejen na fázovém rozhraní. Tato N-alkylační reakce je exotermní a probíhá s vysokou rychlostí. Motivací k převedení reakce do kontinuálního uspořádání je lepší kontrola a řízení reakce a vyšší bezpečnost provozu z důvodu intenzivnějšího odvodu reakčního tepla a manipulace s menšími objemy reakčních komponent. Práce se specificky zabývá vlivem reakčních podmínek na průběh reakce v mikrofluidním reaktoru a jejich optimalizací.

Pro provedení reakce v průtočném uspořádání byl nejprve zvolen skleněný mikročipový reaktor se schopností produkce gramových množství látky za hodinu. V tomto uspořádání bylo provedeno několik sérií experimentů. Byl sledován stupeň konverze výchozí látky, selektivita vzniku produktu reakce a vznik vedlejších produktů v závislosti na teplotě, době zdržení, přebytku alkylačního činidla. Kontinuální syntéza produktu byla doplněna o neutralizační krok pomocí kyseliny octové a amoniaku.

Po ukončení optimalizace procesu v mikročipovém reaktoru byla reakce převedena do většího měřítka, kdy produkce látky může dosahovat až kilogramových množství za hodinu provozu experimentálního zařízení. Pro tento účel byl vybrán nerezový reaktor LONZA ve spojení s modulárním mikroreaktorovým systémem a membránovým separátorem pro oddělení fází. Podmínky pro reakci v tomto měřítku vycházely z optimalizovaných podmínek z experimentů vedených na předchozí aparatuře. Bylo provedeno několik sérií pokusů, kdy byl sledován stupeň konverze, selektivita vzniku produktu a vznik vedlejších produktů v závislosti na době zdržení a průtoku vodného roztoku hydroxidu.

Klíčová slova: *Nicergolin, katalýza fázovým přenosem, methylace, mikroreaktor*

Abstract

The main topic of the Diploma Thesis is the conversion of the batch N-alkylation reaction into a continuous regime. It is the reaction of 10 α -methoxydihydrolysergic acid methyl ester to 1-methyl-10 α -methoxydihydrolysergic acid methyl ester. It represents one step in the industrial synthesis of Nicergoline, a pharmaceutical used for senile dementia treatment. This methylation reaction is performed in two immiscible liquid phases. Phase-transfer catalysis is used to increase the efficiency of the reaction, which allows the reaction to proceed in the entire volume of the organic solvent, not only at the phase interface. The reaction is rapid, with an exothermic character. The advantages of continuous arrangement are better control of the reaction, increased operational safety due to handling smaller volumes of reaction components, and more intensive removal of heat of the reaction. The Thesis deals with the influence of reaction conditions on the course of the reaction in a microfluidic reactor.

The glass microchip reactor was chosen to perform the reaction in a flow arrangement. This reactor could produce up to grams of the product per hour. Several series of experiments were performed on this apparatus. The conversion of the starting material, and selectivities to the product and the side products were observed depending on the temperature, flow rate and molar excess of the methylating agent. The continuous synthesis of the reaction product was extended by involving a neutralization step with acetic acid and ammonia.

When the optimization process was finished, the scale up of the reaction was attempted. Product production can be up to kilograms per hour at this scale of reaction. The stainless LONZA reactor, modular microreactor system and membrane separator were chosen for this purpose. The membrane separator was used for separating organic and aqueous phase. The conditions for this reaction come out from optimized reaction conditions at previous experiments. The conversion of the starting material, the selectivity to the product and side products were again observed depending on the flow rate and flow of aqueous hydroxide solution.

Key words: *Nicergoline, phase-transfer catalysis, methylation, microreactor*

Obsah

Abstrakt	4
Abstract	5
Použité zkratky a symboly	8
1. Úvod	9
2. Cíle práce.....	10
3. Teoretická část.....	11
3.1. LUME.....	11
3.1.1. LUME a Nicergolin	11
3.1.2. Výroba Nicergolinu	12
3.1.3. Alkylace LUME.....	12
3.1.4. Průběh methylace LUME ve vsádkovém uspořádání	13
3.2. Katalýza fázovým přenosem.....	15
3.2.1. Historie.....	15
3.2.2. Typy katalýzy fázovým přenosem	15
3.2.3. Mechanismus katalýzy fázovým přenosem	16
3.2.4. Fázové přenašeče a jejich vlastnosti	19
3.2.5. Vliv aniontu na PTC	23
3.3. Mikroreaktory a průtočné systémy	24
3.3.1 Dvoufázový tok v mikroreaktorech	24
3.3.2. Průmyslové aplikace a aplikace ve farmaceutickém průmyslu	26
4. Experimentální část	28
4.1. Chemikálie.....	28
4.2. Methylace v mikročipové aparatuře	28
4.3.1. Popis reakčního uspořádání	28
4.3.2. Popis experimentu.....	30
4.4. Methylace v reaktoru LONZA.....	35

4.4.1. Popis reakčního uspořádání	35
4.4.2. Popis experimentu.....	36
4.4.3 Membránový separátor ZAIPUT	38
4.5. Analytické stanovení	40
5. Výsledky a diskuse.....	42
5.1. Výsledky NMR a MS analýzy.....	42
5.2. Předpokládaný mechanismus průběhu N-methylace LUME	43
5.3. Aparatura s mikročipovým reaktorem.....	44
5.3.1. Výpočet průtoků pro reakční komponenty.....	44
5.3.2. Optimalizace podmínek reakce v mikročipovém reaktoru	47
5.4. Aparatura s reaktorem LONZA.....	58
5.5. Porovnání mikročipového reaktoru a reaktoru LONZA.....	66
5.6. Náměty pro další studium N-methylační reakce	69
6. Závěr.....	71
7. Literatura	72

Použité zkratky a symboly

DMS – dimethylsulfát

ESI – elektrosprejová ionizace

GLPTC – katalýza fázovým přenosem plyn-kapalina

LLPTC – katalýza fázovým přenosem kapalina-kapalina

LUME – methylester kyseliny 10 α -methoxydihydrolysergové

MeLUME – methylester kyseliny 1-methyl-10 α -methoxydihydrolysergové

MMDL – 1,6-dimethyl-8beta-hydroxymethyl-10 α -methoxy-ergolin

MDL– 6-methyl-8beta-hydroxymethyl-10 α -methoxy-ergolin

MS – hmotnostní spektrometrie

NMR – nukleární magnetická rezonance

PEG – polyethylenglykol

PTC – katalýza fázovým přenosem

Q1 – kvartérní sůl vznikající od produktu (MeLUME)

Q2 – kvartérní sůl vznikající z výchozí látky (LUME)

SLPTC – katalýza fázovým přenosem pevná fáze-kapalina

TEAH – tetraethylamonium hydroxid

Použité matematické zkratky

A – plocha píků [*mV*·*s*]

c – koncentrace [*mol/dm*³]

M – molární hmotnost [*g/mol*]

n – látkové množství [*mol*]

p – tlak [*Pa*]

Q_n – molární průtok [*mol/min*]

Q_v – objemový průtok [*ml/min*]

S – selektivita [-]

T – teplota [$^{\circ}$ *C*]

V – objem [*ml*]

w – hmotnostní zlomek [-]

X – stupeň konverze [-]

τ – doba zdržení [*s*]

ρ – hustota [*g/cm*³]

1. Úvod

V posledních letech došlo k velkému vývoji v oblasti zařazení kontinuálního provedení reakcí do farmaceutického průmyslu a výroby speciálních chemikálií. Tento trend nastal zejména pro nesporné výhody průtočných systémů. Ve většině reakcí dochází ke snížení reakční doby a tím urychlení produkce. Manipulace s menšími objemy reakčních komponent snižuje rizika při práci s toxickými, výbušnými či jinak nebezpečnými látkami. Další výhodou je poměrně snadné zvětšování měřítka, kdy není často nutná složitá optimalizace reakčních podmínek. V této oblasti se také stále více uplatňují tzv. mikroreaktory. Ty jsou vhodné pro svoje velmi dobré vlastnosti při transportu hmoty a tepla, což umožňuje provádět reakce za mírnějších reakčních podmínek atd.

Studovanou reakcí byla běžně vsádkově prováděná N-alkylace methylesteru kyseliny 10 α -methoxydihydrolysergové, za vzniku methylesteru kyseliny 1-methyl-10 α -methoxydihydrolysergové. Reakce probíhá za podmínek katalýzy fázovým přenosem, kdy organickou fází tvoří výchozí látka a alkylační činidlo rozpuštěné v dichlormethanu a vodnou fází roztok hydroxidu sodného a roztok tetraethylamonium hydroxidu, který je využíván jako katalyzátor. Tato reakce je součástí výrobního postupu syntézy léčiva Nicergolinu. Léčivo je využíváno u pacientů trpících Alzheimerovou chorobou nebo demencí. Prostupuje hematoencefalickou bariérou a působí na receptory v centrální nervové soustavě. Dochází k podpoře kognitivních funkcí pacienta.

2. Cíle práce

Prvním cílem diplomové práce bude navržení a sestavení aparatury s mikročipovým reaktorem pro kontinuální provedení methylační reakce methylesteru kyseliny 10 α -methoxydihydrolysergové s dimethylsulfátem za vzniku methylesteru kyseliny 1-methyl-10 α -methoxydihydrolysergové. Tato reakce se v současné době provádí v provozu pouze ve vsádkovém uspořádání. Následně bude provedena optimalizace podmínek reakce. Optimalizovanými parametry budou teplota, doba zdržení a přebytek alkylačního činidla se záměrem dosáhnout vysokého stupně přeměny výchozí látky a vysoké selektivity žádaného produktu reakce.

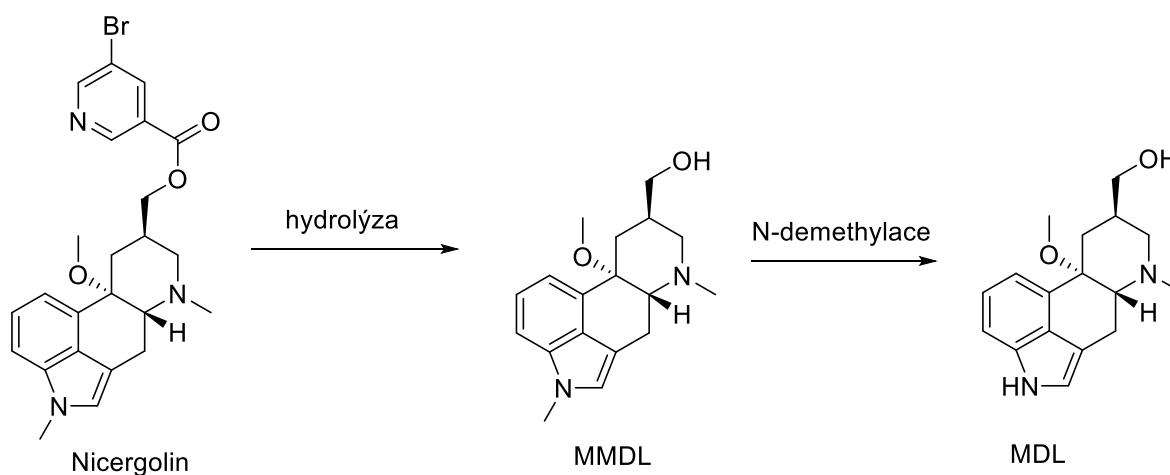
Druhým cílem diplomové práce bude zvětšení měřítka reakce z mikročipového reaktoru umožňující produkci řádově g/h do reaktoru LONZA umožňující produkci řádově kg/h. Po převedení reakce do většího měřítka bude opět následovat optimalizace podmínek. Sledovanými parametry budou změna doby zdržení a koncentrace reagujících látek.

3. Teoretická část

3.1. LUME

3.1.1. LUME a Nicergolin

LUME (methylester kyseliny 10 α -methoxy-lumilysergové) je jedním ze syntetických derivátů námelových alkaloidů, látek přírodně se vyskytujících ve sklerociu, který vytváří vřeckovýtrusná houba paličkovice nachová. LUME vzniká jako meziprodukt při syntéze farmaceutického přípravku Nicergolinu (Obr. 1). Léčivo obsahující Nicergolin se využívá při léčbě poruch periferního prokrvení, dále je předepisován pacientům, kteří trpí senilním a presenilním syndromem cévního či degenerativního původu, kde nasazení této léčby zlepšuje schopnost kognitivních funkcí. Nicergolin se vyznačuje velmi dobrým průnikem přes hematoencefalickou bariéru do mozku, kde zlepšuje transport kyslíku, snižuje viskozitu krve a zasahuje do systému řady neurotransmiterů. Léčivo je podáváno v podobě tablet a k jeho vstřebání dochází v trávicím traktu. I přes velmi vysokou hodnotu vstřebání je jeho biologická dostupnost nízká. Léčivo podléhá tzv. first-pass efektu v játrech, kdy dochází k metabolickým přeměnám na jeho deriváty. Nejčastějšími deriváty jsou MMDL (Obr. 1) (1,6-dimethyl-8beta-hydroxymethyl-10 α -methoxy-ergolin) a MDL (Obr. 1) (6-methyl-8beta-hydroxymethyl-10 α -methoxy-ergolin). Léčivo i jeho metabolity jsou z těla vylučovány ledvinami. Laboratorně byla prokázána vysoká afinita k α_1 -adrenoreceptorům. Molekula Nicergolinu na těchto receptorech působí jako antagonist, projevem vazby léčiva na receptor je vasodilatace cév, snížení cévního odporu a zvýšení průtoku krve. Dále má Nicergolin pozitivní efekt na dráhy dopaminu, acetylcholinu a noradrenalinu^{1,2}.



Obr. 1 Degradace Nicergolinu v játrech

3.1.2. Výroba Nicergolinu

Prvním krokem při syntéze Nicergolinu je fotoadice methanolu v přítomnosti silné minerální kyseliny, nejčastěji se využívá kyselina sírová nebo kyselina chlorovodíková. Jako výchozí látka je využívána buď kyselina lumilysergová, kyselina 1-methyl lysergová^{3,4} nebo lysergol⁵.

U produktů vznikajících fotoadicí kyseliny lysergové nebo lumilysergové je následující reakcí alkylace. Způsoby alkylace produktů vznikajících fotoadicí kyseliny lysergové jsou podrobněji popsány níže. Právě převod této alkylační reakce do kontinuálního režimu je hlavním tématem diplomové práce. Produktem reakce je MeLUME (methylester kyseliny 1-methyl-10 α -methoxydihydrolysergové). Po alkylační reakci následuje redukce esterové skupiny na alkohol za použití tetrahydridohlinitanu lithného³. Pokud pro fotoadiční reakci využijeme jako výchozí látku kyselinu 1-methyl lysergovou vzniká přímo produkt MeLUME. Ten je následně redukován na alkohol pomocí tetrahydridoboritanu sodného⁴. Poslední krok syntézy je shodný pro oba popsané postupy. Dochází k esterifikaci alkoholu s chloridem kyseliny 5-bromonikotinové.

Fotoadicí methanolu s lysergolem získáme 10 α -methoxy lysergol, který je alkylován pomocí methyljodidu v dimethylsulfoxidu za přítomnosti alkalických hydroxidů. Dalším krokem této syntézy je reakce 1-methyl-10 α -methoxy lysergolu s nadbytkem kyseliny 5-bromonikotinové v přítomnosti dicyklohexylkarbodiimidu jako kondenzačního činidla⁵.

3.1.3. Alkylace LUME

Součástí syntézy Nicergolinu je reakce zahrnující metylaci LUME a vznik MeLUME (methylester kyseliny 1-methyl-10 α -methoxydihydrolysergové), který je dále zpracováván až na konečný produkt. Pro metylaci je možné využít celou řadu reakčních podmínek a methylačních činidel.

Jeden z přístupů je popsán v americkém patentu (US3228943), kde je pro metylaci využíván methyl halogenid, preferován je methyl jodid, v kapalném amoniaku s přídavkem kovového draslíku a v přítomnosti amidu sodného či draselného³.

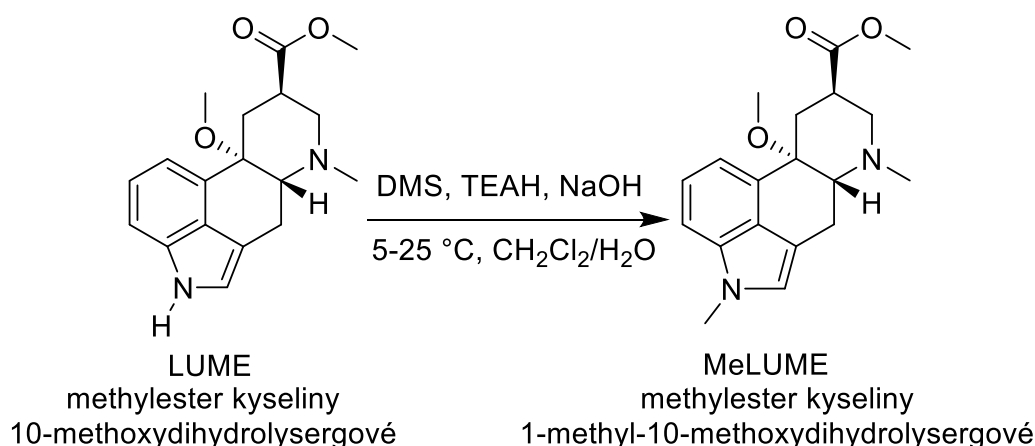
Jiný americký patent (US4754037) využívá pro metylaci methyl karbonát v přítomnosti hydridů nebo alkoholátů alkalických kovů v nepolárním aprotickém rozpouštědle. Další složkou reakční směsi je katalyzátor fázového transferu např. kvartérní amoniové soli⁶.

Jeden z českých patentů (CS234498) se zabývá přípravou MeLUME postupem využívajícím k metylaci alkyhalogenid nebo dialkylsulfát, v přítomnosti vodného roztoku

hydroxidu sodného či draselného a tetraethylamonium hydroxidu, který slouží jako katalyzátor fázového přenosu. Alkylační reakce je prováděna při teplotě blízké 0°C⁷.

3.1.4. Průběh methylace LUME ve vsádkovém uspořádání

Při vsádkovém provedení methylační reakce (Obr. 2) jsou nejprve připraveny výchozí roztoky. Do jedné Erlenmayerovy baňky je připravena směs 50% vodného roztoku hydroxidu sodného a 20% vodného roztoku tetraethylamonium hydroxidu. Do dalších dvou baněk roztoky LUME a DMS (dimethylsulfát) v dichlormethanu. Po přípravě jsou roztoky vychlazeny na požadovanou teplotu 5 °C. Průběh reakce je následující: do baňky se směsí hydroxidu sodného a TEAH jsou společně přivedeny oba připravené roztoky LUME a DMS. Poté co jsou roztoky smíchány, se zapne magnetické míchadlo a celá směs se míchá po dobu 30 sekund. Přitom dochází ke zvýšení teploty asi o 10 až 15 °C, protože reakce je exotermická. Následně je reakční směs přelita do děličky, ve které dojde k rozdělení vodné a organické fáze. Vodná fáze je odpuštěna a k organické fázi je přidána kyselina octová (slouží pro neutralizaci zbytkového hydroxidu sodného) v takovém množství, aby pH výsledného roztoku bylo neutrální. Vše se promíchá a následně se ke směsi přidá 25% vodný roztok amoniaku, pro neutralizaci nadbytku dimethylsulfátu a úpravě pH směsi na bazickou hodnotu, a znovu se vše promíchá. Po rozdělení této směsi na vodnou a organickou fázi, je vodná fáze oddělena a extrahována dichlormethanem. Oddělená organická fáze je extrahována vodou. Extrakce je opakována třikrát.



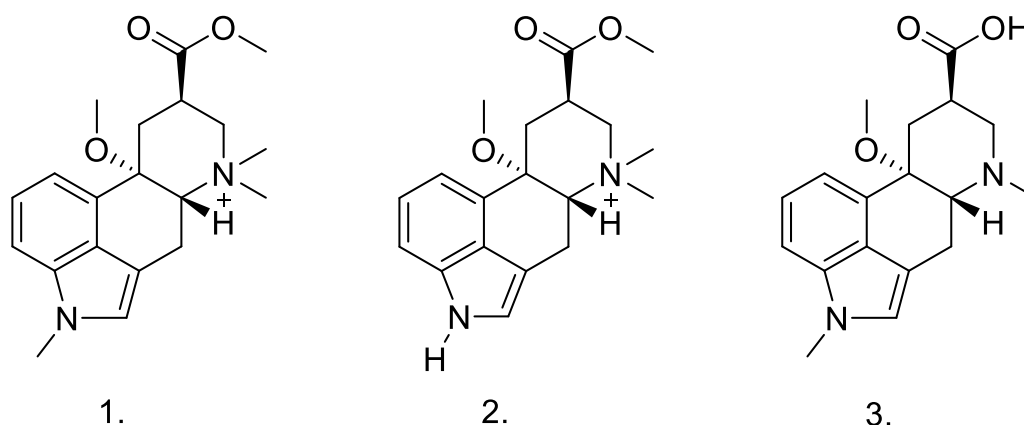
Obr. 2 Schéma methylační reakce

V průběhu methylační reakce je možné pozorovat vznik několika vedlejších produktů. Nejčastější vedlejší reakcí byla kvarternizace dusíku v poloze N6. Byl pozorován vznik kvartérní soli výchozí látky i produktu reakce. Příčina vzniku jednotlivých kvartérních solí se liší. Kvartérní amoniiová sůl žádaného produktu reakce (Q1) (Obr. 3, číslo 1) vzniká v důsledku nadbytku methylačního činidla v reakční směsi. Avšak je nutné využít mírný nadbytek

methylačního činidla, aby došlo k úplné přeměně výchozí látky na produkt. Pro omezení vzniku kvarterní amoniové soli produktu reakce je do reakční směsi po její neutralizaci přidáván roztok amoniaku, který reaguje s přebytečným množstvím dimethylsulfátu.

Kvartérní amoniová sůl může také vznikat přeměnou výchozí látky (Q2) (Obr. 3, číslo 2). Vznik tohoto vedlejšího produktu bylo možné pozorovat při nedostatečném přísunu hydroxidu sodného, v důsledku čehož nedocházelo k odtržení vodíku na indolovém jádře.

Další pozorovanou vedlejší reakcí byla hydrolyza esteru produktu, ke které dochází působením hydroxidu sodného. Pro eliminaci vzniku kyseliny (Obr. 3, číslo 3) je při vsádkovém uspořádání po ukončení reakce směs přelita do děličky, kde dojde k rozdělení na vodnou a organickou fázi. Vodná fáze, tj. roztok hydroxidu, která je v tomto případě těžší než organická, je následně oddělena. Po oddělení vodné fáze je do organické fáze přidána kyselina octová pro neutralizaci zbytkového NaOH⁸.



Obr. 3 Vedlejší produkty methylace LUME: 1. kvartérní amoniová sůl od MeLUME – Q1, 2. kvartérní amoniová sůl od LUME – Q2, 3. kyselina od MeLUME

3.2. Katalýza fázovým přenosem

Provedení reakcí mezi substráty, z nichž jeden je lokalizován v organické fázi a druhý ve fázi vodné, je zpravidla velmi pomalé a neefektivní. Reakce probíhá pouze na fázovém rozhraní. Zvýšení efektivity a rychlosti takových reakcí umožňuje tzv. katalýza fázovým přenosem (PTC, Phase Transfer Catalysis). Při reakci tohoto typu je využíváno fázových přenašečů, jejichž chemická struktura umožňuje přítomnost v obou fázích. Jako efektivní fázové přenašeče se ukázaly soli s velkým organickým kationem. Mezi nejpoužívanější přenašeče, jak v laboratořích, tak v průmyslové praxi, patří kvartérní amoniové nebo fosfoniové soli^{9,10}. Dále se k tomuto účelu využívají tzv. crown ethery a kryptandy a podandy^{11,12}.

3.2.1. Historie

Základy této metody byly položeny na konci 60. a začátku 70. let 20. století. Již dříve se objevovaly články zabývající se tematikou katalýzy fázovým přenosem. Jedna z takových studií byla prezentována Jarroussem, který popsal alkylační reakci ve dvoufázovém režimu a rozpoznal katalytický účinek kvartérních amoniových solí^{13,14}. Největší příspěvek je připisován Markoszovi, Starksovi a Brandstörmovi, kteří se nezávisle na sobě věnovali studiu těchto reakcí a návrhu mechanismu průběhu¹¹⁻¹³. Starks v jedné ze svých průkopnických prací zavedl pro takto prováděné reakce pojem katalýza fázovým přenosem, který byl obecně přijat a je využíván dodnes. Ve stejné práci zveřejnil mechanismus PTC systémů, který je popsán níže¹⁵.

3.2.2. Typy katalýzy fázovým přenosem

Katalýzu fázovým přenosem je možné rozdělit do dvou základních systémů: na rozpustnou PTC a nerozpustnou PTC. Při nerozpustné PTC je katalyzátor ukotven na pevném nosiči. Dalším možným kategorizováním je dělení podle využívaných skupenství jednotlivých reagentů. Podle tohoto dělení je možné rozdělit reakce probíhající pomocí PTC na: kapalina-kapalina PTC (LLPTC), plyn-kapalina PTC (GLPTC), pevná fáze-kapalina PTC (SLPTC). Nejvíce využívané jsou reakce prováděné v soustavách LLPTC a SLPTC^{11,12,14}.

Při LLPTC obsahuje reakční systém organický reaktant, který může být čistý (pokud je v kapalně fázi) nebo v rozpouštědle, druhou fází je vodný roztok sloužící jako rezervoár reagujících aniontů. Touto fází je velmi často koncentrovaný roztok hydroxidu sodného nebo draselného.

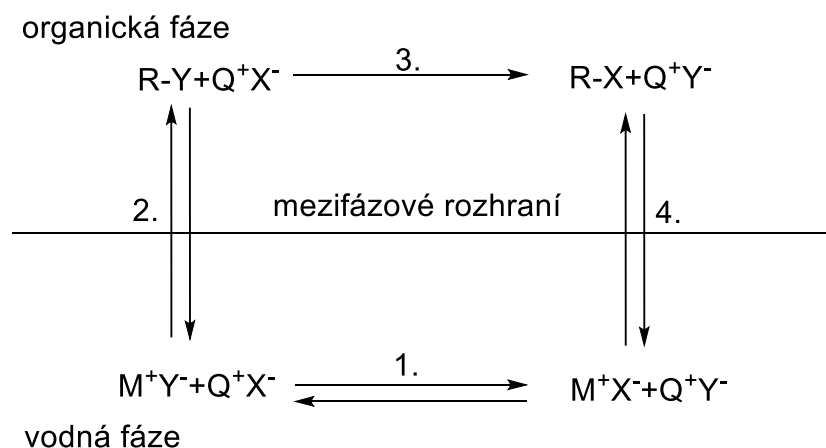
Při SLPTC je vodný roztok zaměněn za pevnou formu anorganické soli, nejčastěji se využívá hydroxid sodný nebo uhličitán sodný. Výhodou pevné formy anorganické soli je absence vody, která v roztoku solvatuje anion a tím ovlivňuje jeho aktivitu. Větší aktivita nehydratovaných aniontů je výhodná pro méně reaktivní anionty či slabší nukleofily^{11,12,14}.

Nevýhodou tohoto způsobu je nižší účinnost výměny mezi pevným povrchem soli a kapalnou fází a tvorba nové soli, která může blokovat výměnu na pevné fázi¹⁴.

3.2.3. Mechanismus katalýzy fázovým přenosem

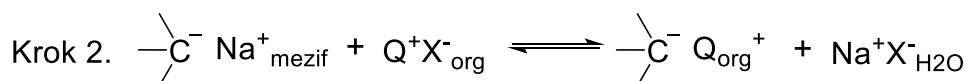
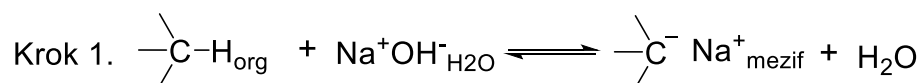
3.2.3.1. Mechanismus katalýzy fázovým přenosem kapalina-kapalina

V roce 1971 Starks zveřejnil první popis mechanismu PTC (Obr. 4). Nejprve dochází k rozpuštění fázového přenašeče, v podobě halogenidu kvartérní amoniové soli Q^+Y^- , ve vodné fázi a k záměně halogenidového aniontu s aniontem M^+X^- obsaženým ve vodné fázi (Obr. 4, číslo 1.). V článku¹⁵ je popsána záměna bromoniového aniontu s kyanidovým aniontem. Následně dochází k transportu zaměněného aniontu Q^+X^- do organické fáze pomocí objemného, v organické fázi rozpustného kationtu fázového přenašeče (Obr. 4, číslo 2.). V organické fázi dochází k reakci substrátu R-Y s přenášeným aniontem Q^+X^- za vzniku požadovaného produktu reakce R-X a vzniku vazby mezi kationtem fázového přenašeče a aniontem z původního substrátu Q^+Y^- (Obr. 4, číslo 3). Tato sloučenina následně opět přechází do vodné fáze, kde dochází znovu k záměně aniontu (Obr. 4, číslo 4.)^{13,15,16}. Tento mechanismus je aplikovatelný na reakce, které jsou katalyzované za neutrálních podmínek, kdy se pro vodnou fázi nevyužívají hydroxidy a nedochází k deprotonaci substrátu¹¹.



Obr. 4 Schéma Starksova extrakčního mechanismu¹⁵

U reakcí katalyzovaných za bazických podmínek (vodnou fází je zde například koncentrovaný roztok hydroxidu sodného) bylo předpokládáno, že také dochází k přesunu hydroxidového aniontu do organické fáze pomocí přenašeče. Následně zde dochází k samostatnému kroku deprotonace organického substrátu za vzniku vody, která je absorbována koncentrovaným roztokem hydroxidu. Podle pozdějších pozorování byla tato teorie přehodnocena a byl navržen mezifázový mechanismus (Obr. 5).

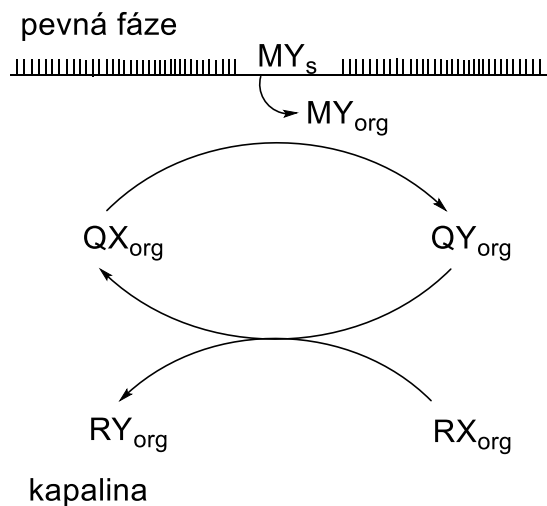


Obr. 5 Schéma Makoszova mezifázového mechanismu¹⁴

Podle tohoto mechanismu dochází k deprotonaci substrátu na mezifázovém rozhraní organická/vodná fáze. Takto vzniklé anionty jsou v této oblasti uzavřeny. Vstupu do organické fáze je zamezeno, protože kationty pro tvorbu iontového páru nemohou přecházet do organické fáze, ale zároveň aniont nemůže vstoupit do vodné fáze díky vysoké iontové síle roztoku hydroxidu, která zmenšuje rozpustnost. Po přidání katalyzátoru dojde ke spárování aniontu s lipofilním kationtem a tím k přechodu do organické fáze, kde dochází k požadované reakci. Vzniklá sůl z kationtu katalyzátoru a aniontu vzniklého reakcí se substrátem může znovu podstoupit výměnu na rozhraní a tím přivést další reakční partnery do organické fáze^{12,14,17}.

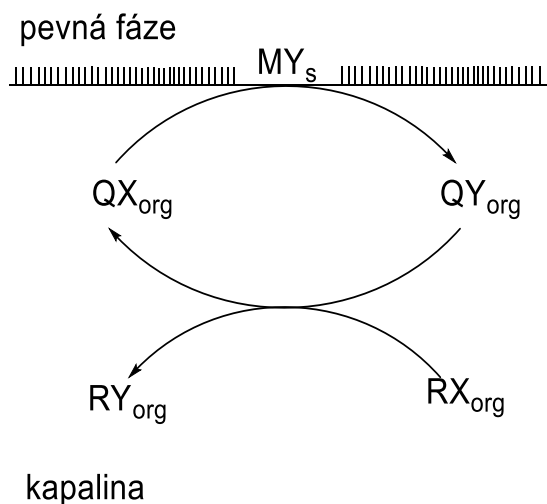
3.2.3.2. Mechanismus katalýzy fázovým přenosem kapalina-pevná fáze

Pro reakce probíhající v podmínkách katalýzy kapalina-pevná fáze byly pozorovány dva mechanismy. Prvním mechanismem je tzv. homogenní rozpouštěcí mechanismus (Obr. 6), který předpokládá velmi omezenou možnost rozpustnosti pevné fáze ve fázi organické. Poté, co se malá část pevné fáze rozpustí, dochází k iontové výměně s katalyzátorem fázového přenosu. Následně reaguje katalyzátor společně s organickým substrátem, dochází k jeho obnově a může znovu podstoupit iontovou výměnu^{11,18}.



Obr. 6 Homogenní rozpouštěcí mechanismus¹¹

Druhým je tzv. heterogenní mechanismus (Obr. 7), u kterého nedochází k rozpuštění pevné fáze v organickém rozpouštědle. Iontová výměna probíhá přímo na jejím povrchu. Aniont z pevné fáze je následně přenesen pomocí kationtu fázového přenašeče do organické fáze, ve které proběhne reakce se substrátem^{11,18}.



Obr. 7 Heterogenní rozpouštěcí mechanismus¹¹

U reakcí prováděných mezi pevnou fází a kapalinou bylo pozorováno, že pokud dojde k úplnému odstranění vody z reakční směsi, reakce neprobíhá^{19,20}. Pokud ovšem do reakce přidáme malé množství vody, dojde k rapidnímu zvýšení její rychlosti. Vysvětlením tohoto jevu můžeme nalézt v narušení krystalové struktury anorganické soli a vytvoření slabého filmu na povrchu pevné fáze, ve kterém je anorganická sůl rozpuštěna. Tento film umožňuje efektivnější výměnu aniontů mezi katalyzátorem fázového přenosu a anorganickou solí. Vrstva přidané vody se nazývá omega fáze^{11,12,18,21}. Pokud je k reakci přidán nadbytek vody, dochází ke zvýšení hydratace nukleofilu, který reaguje v organické fázi a tím dochází ke snížení jeho aktivity, což se následně projeví snížením rychlosti reakce^{12,20}.

3.2.4. Fázové přenašeče a jejich vlastnosti

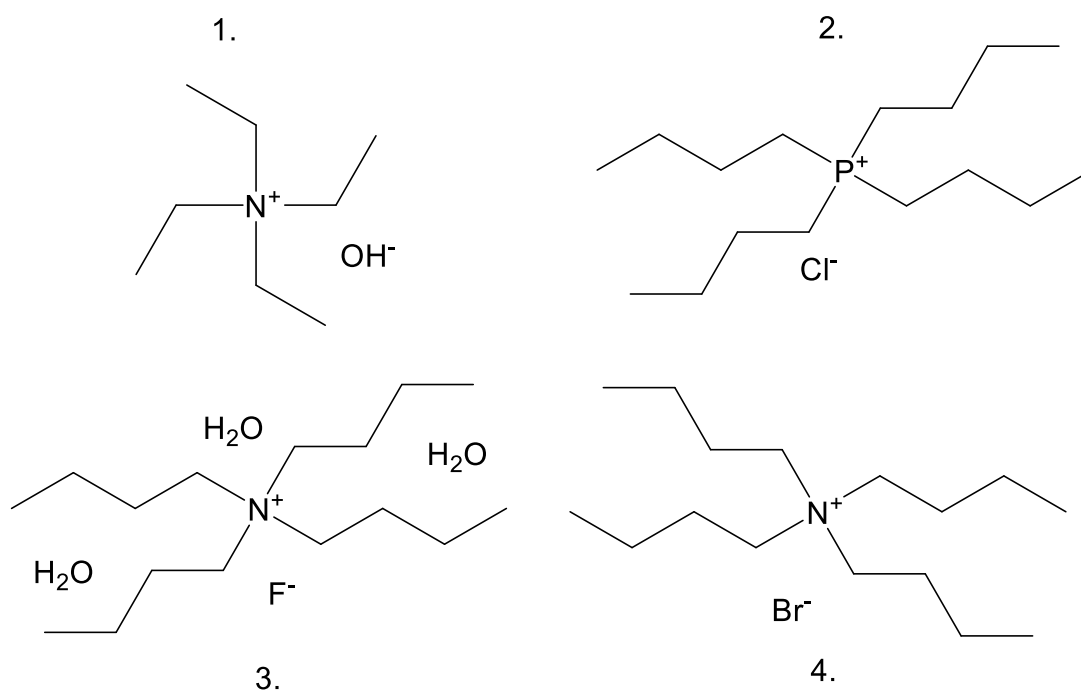
Při výběru katalyzátoru pro fázový přenos jsou rozhodujícími faktory reaktivita, selektivita, jednoduchá separace od produktu reakce a odolnost vůči rozkladu. Při využívání katalýzy fázovým přenosem v průmyslovém měřítku jsou dalšími rozhodujícími faktory také dostupnost, cena, toxicita a možnost recyklace^{11,12,18}

3.2.4.1. Kvartérní soli

Nejčastěji používanými kvartérními solemi jsou kvartérní amoniové a fosfoniové soli (Obr. 8). Výhodou těchto katalyzátorů je jejich velká univerzálnost, stabilita a nízká nebo žádná toxicita. V porovnání s ostatními katalyzátory dosahují srovnatelné aktivity jako kryptandy a v řadě případů vyšší aktivity než crownethery. Proto jsou tyto látky nejvíce využívanými katalyzátory fázového přenosu i v průmyslových aplikacích. Jsou v současnosti nejvyužívanějšími katalyzátory pro uspořádání kapalina-kapalina¹¹.

Kationty kvartérních solí mají schopnost vytvářet s anionty lipofilní, nábojově neutrální iontový pár, který je snadno rozpustný jak v polárních, tak nepolárních organických rozpouštědlech. Při reakcích záleží na struktuře kationtu používaného katalyzátoru. Strukturou kationtu lze podpořit či potlačit vznik vedlejších produktů reakce. Například při alkylaci 2-naftolu za bazických podmínek docházelo při použití tetramethylamonium bromidu přednostně k C-alkylaci, kdežto při použití více stericky náročného tetra-n-butylamonium bromidu k O-alkylaci. Důvodem je slabší vazba stericky více náročného kationtu na atom kyslíku. Schopnost ovlivňovat strukturu produktu pomocí struktury kationtu katalyzátoru je využíváno při selektivní PTC přípravě enantiomerních látek²².

Změnou struktury katalyzátoru může být ovlivněna rychlost reakce. Touto problematikou se zabývali Herriott a Picker, kteří na základě experimentů s různými katalyzátory určili několik trendů. Prvním závěrem jejich pozorování je prokázaná větší efektivita katalýzy při použití velkých kvartérních iontů. Velké kationty vytvářejí s přenášeným aniontem slabý iontový pár, aniont vykazuje větší reaktivitu. Dalším závěrem je, že více symetrické ionty jsou při reakci efektivnější než ionty, které mají pouze jeden dlouhý řetězec. Pokud máme katalyzátory se stejným aniontem a pouze měníme délku řetězců na aniontu, bylo pozorováno zvýšení reakční rychlosti se zvětšující se délkou řetězce^{13,23}.



Obr. 8 Příklady katalyzátorů: 1. tetraethylamonium hydroxid, 2. tetrabutylfosfonium chlorid, 3. tetrabutylamonium fluorid trihydrát, 4. tetrabutylamonium bromid

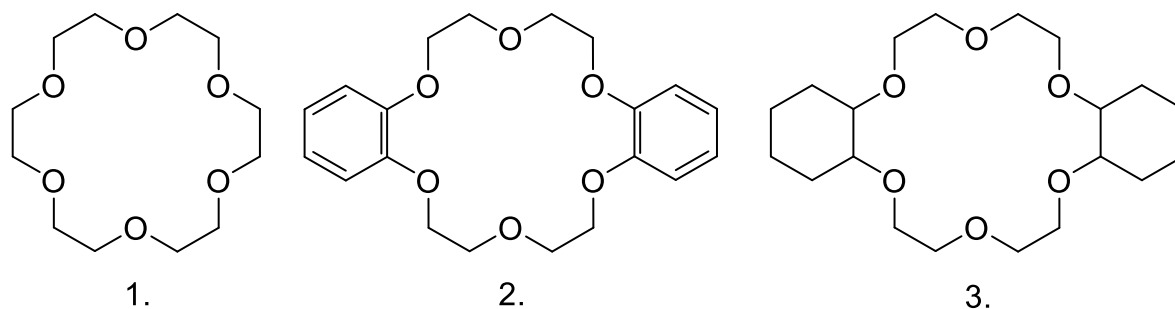
Obecně lze při výběru katalyzátoru porovnávat kvartérní soli podle následujících kritérií. Prvním kritériem je schopnost kvartérního kationtu přenášet reaktivní nukleofilní aniont přes mezifázové rozhraní. Druhým kritériem je reaktivita přeneseného aniontu v organické fázi, která závisí na vazbě mezi kationtem a aniontem²².

Pro přípravu kvartérních amoniových solí se využívá několik postupů. Jedním z nich je využití Menšutkinovy reakce. Nejčastěji se tato reakce využívá při přípravě chirálních katalyzátorů fázového přenosu¹². Při reakci dochází k přímé kvarternizaci výchozího terciárního aminu pomocí alkyl nebo aryl halogenidu. Nejčastěji se jako alkylační činidlo využívá bromid nebo jodid. Vzniklé kvartérní soli ovšem mohou vykazovat menší aktivitu při PTC reakci. Proto jsou často tyto látky využívány jako výchozí, pro přípravu reaktivnějších katalyzátorů pomocí aniontové záměny. Při aniontové záměně je využíváno dvou různých fází. Jednu fázi tvoří vodný roztok vybrané anorganické soli a druhou roztok kvartérní amoniové soli v organickém rozpouštědle. Výměna aniontů je ovlivněna relativní stabilitou vznikajícího iontového páru a dále pak rozdělovacím koeficientem mezi organickou a vodnou fází vzniklého iontového páru. Dalším faktorem je hydratace aniontu. U velmi hydrofilních aniontů, např. fluoridový, hydrogensíranový anion, nedochází k výměně a jejich kvartérní soli se připravují jiným způsobem.

3.2.4.2. *Crownethery a kryptandy*

Crownethery (Obr. 9) jsou makrocyclické sloučeniny polyetherů, které specificky komplexují kationty a tím usnadňují rozpustnost solí v málo polárních rozpouštědlech. Vytvořením komplexu kation-crownether se zvýší disociace iontového páru a vzniká nesolvatovaný, velmi reaktivní anion. Rozpustnost crownetherů závisí na přítomnosti aromatického kruhu či alkylového řetězce ve struktuře molekuly. Crownethery nesoucí více než jedno benzenové jádro v molekule jsou velmi málo rozpustné ve vodě a těžko rozpustné i ve většině organických rozpouštědel. Pokud hydrogenujeme aromatické kruhy, dojde ke zvýšení rozpustnosti v organických rozpouštědlech. Při výběru crownetheru, jako katalyzátoru pro reakce za podmínek katalýzy fázovým přenosem, je rozhodující rozdělovací

poměr crownetheru ve vodné a organické fázi a konstanta stability mezi ligandem a solí v organické fázi. Crownethery se nejčastěji využívají pro uspořádání kapalina-pevná fáze^{13,24,25}.

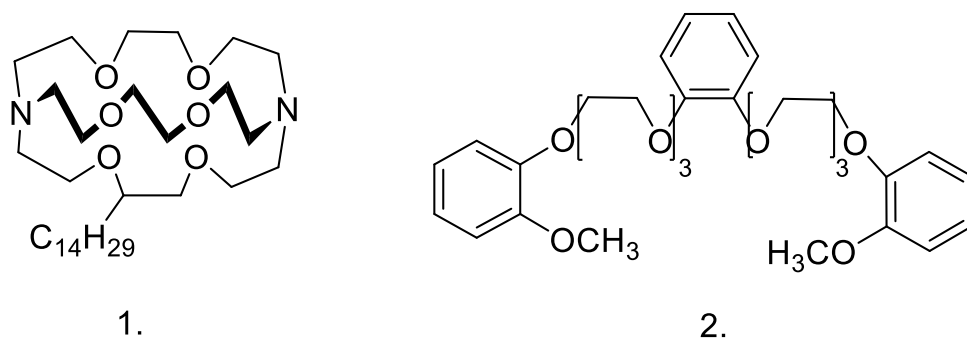


Obr. 9 Struktury crownetherů využívaných při PTC: 1. [18]-crown-6
2. dibenzo-[18]-crown-6, 3. dicyklohexyl-[18]-crown-6

Kryptandy (Obr. 10, číslo 1.) jsou polycyklické sloučeniny multidentátních ligandů. Spojené cykly vytváří kavitu, která velice pevně váže kation. Tento komplex je následně i s anionem přenesen do organické fáze, kde anion reaguje se substrátem. Problémem komerčního využití kryptandů je jejich složitá syntéza, vysoká cena a toxicita^{13,24}.

3.2.4.3. Polyehylenglykol a jeho deriváty

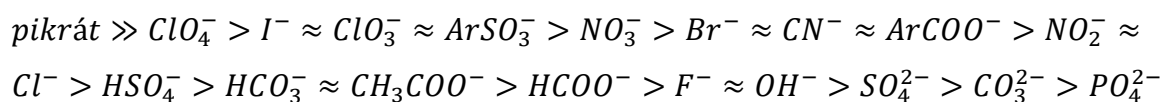
Polyehylenglykol (PEG) a jeho deriváty se také vyznačují schopností vytvářet komplex s kationtem. Acyklická molekula umožňuje rychlejší vznik i rozpad komplexu a nově vznikající kavita je více flexibilní. Stejně jako crownethery a kryptandy, tvoří PEG komplexy s kationty alkalických kovů a kovů alkalických zemin. V porovnání s cyklickými molekulami však váží kationty s mnohem nižší konstantou stability. Snížení této konstanty je způsobeno právě acyklickou strukturou. V PTC reakcích jsou využívány dlouhé řetězce PEG (Obr. 10, číslo 2.), které na svých koncích nesou elektron odtahující skupiny. Vytvořený komplex s kationtem je dostatečně stabilní pro správný průběh reakce. Nejčastěji se PEG využívají pro reakce probíhající v soustavě kapalina-pevná fáze. Výhodou je jejich nízká cena, snadná dostupnost, stabilita, nízká toxicita a biodegradabilita^{11,12,24}.



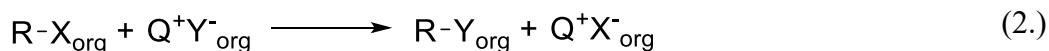
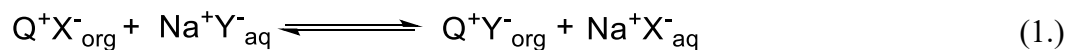
Obr. 10 Struktury využívané pro PTC: 1. kryptand, 2. PEG

3.2.5. Vliv aniontu na PTC

Mezifázový přenos při PTC je ovlivněn vlastnostmi aniontu reagentu i aniontu katalyzátoru. Důležitým faktorem je schopnost přechodu kvartérní soli do organické fáze, která je závislá na mnoha faktorech. Jedním je hydratační sféra aniontu, jeho elektronegativita, dále pak vlastnosti použitého organického rozpouštědla, iontová síla vodné fáze a v neposlední řadě struktura kationtu. Na základě experimentálních pozorování byla stanovena následující řada relativní schopnosti extrakce jednotlivých aniontů, která je téměř konstantní a není ovlivněna dalšími faktory:



Při provedení reakce dochází k ustanovení rovnováhy iontové výměny, kterou lze popsat rovnicí (1.):



Poloha této rovnováhy je určena vztahem energií solvatace a hydratace obou aniontů. Pokud zvolíme aniont kvartérní amoniové soli (Q^+X^-) s vysokou hodnotou hydratační energie (OH^- , Cl^- , F^-) dosáhneme posunu rovnováhy směrem doprava, a tím zvýšení koncentrace reagujícího aniontu (Q^+Y^-) v organické fázi. Z toho plyne, že pro efektivní průběh PTC reakce je výhodné, aby aniont [Q^+X^- , rovnice (2.)], vznikající během reakce substrátu s katalyzátorem, byl hydrofilnější než aniont [Q^+Y^- , rovnice (2.)], který do reakce se substrátem vstupuje. V případě, že by odstupující aniont v reakci byl lipofilnější než aniont vstupující, došlo by k jeho hromadění v organické fázi a postupnému vyčerpání katalyzátoru a ukončení reakce^{12,14,24}.

3.3. Mikroreaktory a průtočné systémy

Mikroreaktory jsou zařízení malých rozměrů, která se zpravidla využívají v laboratorním měřítku pro studium proveditelnosti reakcí v průtočném uspořádání. V těchto zařízeních, ale i ve větších průtočných systémech, je jednodušší kontrolovat a měnit nastavené podmínky reakce (teplota, tlak, průtok). Mikro měřítko umožňuje zvýšení provozní bezpečnosti, zejména snížením množství používaných chemikálií a možností monitorovat reakci v reálném čase. Zároveň tyto systémy umožňují bezpečněji provádět reakce při vysoké teplotě a tlaku. Mikroreaktory a průtočné systémy se vyznačují efektivním přenosem tepla a hmoty, což umožňuje zvýšení reakční rychlosti a tím produktivity v porovnání se vsádkovým uspořádáním. Pro zvýšení efektivity reakce je možné kombinovat provedení reakce v průtočném režimu spolu s dalšími technologiemi, jako jsou mikrovlnné záření, elektrochemie, fotochemie, 3D tisk, sonikace²⁶⁻³⁰. Dalším výhodou průtočných režimů je možnost snadného zvětšování měřítka reakce. To jde provést několika způsoby. Jedním je paralelní zapojení většího množství reaktorů, druhým, zvětšení samotného reaktoru. V mikroreaktorech a průtočných systémech je možné provádět reakce jednofázové i vícefázové²⁷.

3.3.1 Dvoufázový tok v mikroreaktorech

Nejběžnější vícefázové syntézy vedené v mikroreaktorech jsou reakce, kdy jednou reagující fází je plyn a druhou kapalina nebo reakce dvou nemísitelných kapalin. Vzhledem k malým rozměrům mikroreaktorů v nich převládají povrchové jevy, na rozdíl od konvenčních zařízení, kde převládají zpravidla síly setrvačné a gravitační.

3.3.1.1. Typy režimu toku při reakci kapalina-plyn v mikroreaktorech

V závislosti na provozních podmínkách je možné pozorovat u reakcí mezi plynou a kapalnou fází několik typů režimu toku. Prvním režimem je tzv. bublinový tok, kdy plyn proudí ve formě malých bublin dispergovaných v kapalině. Průměr těchto bublin je mnohem menší než průměr kanálku. Dalším režimem je tzv. Taylorův tok, u kterého dochází ke vzniku uspořádaného toku protáhlých válcovitých bublin plynu, jež před sebou tlačí píšť kapaliny. Tyto válcovité bubliny vyplňují téměř celou výšku kanálku, pouze u stěny zůstává tenký film kapaliny. Dalším typem toku je vířivý tok, který vzniká z Taylorova toku změnou podmínek, zejména rychlosti průtoku. Při nárůstu rychlosti proudění dochází k nestabilitě Taylorových bublin, jejich částečnému rozpadu a vzniku menších bublin. S dalším zvyšováním průtoku plynu je možné pozorovat tzv. anulární tok, který lze charakterizovat tvorbou kontinuálního toku plynné fáze středem reakčního kanálu a toku kapalně fáze okolo tohoto proudu plynu.

V při reakci kapalina-plyn je možné pozorovat také paralelní tok obou fází, nebo kombinace výše zmíněných toků dohromady^{31,32}

3.3.1.2. Typy režimu toku kapalina-kapalina v mikroreaktorech

Při reakci dvou nemísitelných kapalin vystupuje jedna kapalina jako kontinuální fáze a druhá kapalina jako fáze dispergovaná. U reakcí probíhajících ve dvou nemísitelných kapalinách je možné, v závislosti na reakčních podmínkách, pozorovat různé režimy toku. Režimy je možné rozdělit podle vzhladu na následující druhy.

1. kapénkový tok (angl. droplet flow) lze charakterizovat jako tok kapek, jejichž velikost je menší než průřez reakčního kanálku.
2. přerušovaný tok (angl. slug flow) lze charakterizovat jako tok kapek, které svojí velikostí vyplní celý průřez reakčního kanálku. Speciálním podtypem přerušovaného toku je tzv. segmentovaný tok. Jedná se o uspořádaný tok, kdy kapky kapalin mají stejnou velikost.
3. anulární tok (angl. annular flow) lze charakterizovat jako typ toku, kdy jedna fáze protéká středem reakčního kanálu a druhá fáze tvoří prstenec okolo středového toku

Vznik jednotlivých režimů toku je ovlivněn mnoha faktory. Jedním faktorem může být charakter kanálku (materiál, geometrie a struktura), druhým faktorem jsou vlastnosti používaných kapalin (viskozita, hustota, mezifázové napětí, kontaktní úhel) a třetím faktorem jsou podmínky reakce (tlak, teplota, poměr průtoků obou kapalin)^{33,34}. Všechny tyto faktory lze popsat několika základními parametry. Prvním parametrem je Reynoldsovo číslo, které popisuje vztah mezi setrvačnou silou a viskozitou. Pomocí tohoto čísla lze určit, zda je proudění laminární nebo turbulentní. Druhým parametrem je Bondovo číslo, které vyjadřuje vliv povrchového napětí na tvar kapky. Třetím parametrem je kapilární číslo, které vyjadřuje účinek viskozity proti mezifázovému napětí mezi dvěma nemísitelnými kapalinami. Dalšími důležitým parametrem je tzv. Webrovo číslo, jehož základem je Reynoldsovo a kapilární číslo, porovnává setrvačné účinky a povrchové (mezifázové) napětí³⁴. Materiál, ze kterého je vyrobený mikroreaktor, ovlivňuje smáčivost stěn kapalnou fází. Schopnost smáčivosti lze vyjádřit kontaktním úhlem mezi fází a stěnou³¹. Se zvyšujícím se kontaktním úhlem dochází k přechodu od neuspořádaného toku přes přerušovaný tok až po kapénkový tok^{31,34}. Pokud zvýšíme viskozitu kontinuální fáze podpoříme vznik kapénkového proudu. Obecně platí, že pokud přerušovaný tok je pravděpodobnější u nízkých průtoků obou fází a pokud dojde ke zvýšení průtoku kontinuální fáze, dochází k změně na kapénkový tok^{31,34}.

U reakcí prováděných za PTC podmínek mohou být mikroreaktory alternativou k vsádkovému reaktoru s mechanickým mícháním. Pro reakce probíhající Starksovým mechanismem je výhodný segmentovaný tok, který nahrazuje mechanické míchání. Možností manipulace s velikostí segmentů dispergované fáze a kontinuální fáze v segmentované toku je možné zvyšovat povrch mezifázového rozhraní a tím zvýšit rychlost mezifázového přenosu. Zvýšením rychlosti mezifázového přenosu (u reakcí limitovaných mezifázovým přenosem hmoty) může tak dojít k výraznému zvýšení celkové rychlosti reakce a tím i jejího výtěžku³⁵.

3.3.2. Průmyslové aplikace a aplikace ve farmaceutickém průmyslu

Velká část syntéz v průmyslu chemických specialit a při výrobě léčiv je vedena ve vsádkovém uspořádání. V posledních letech se ovšem projevuje, zejména ve farmaceutickém průmyslu, velký tlak na výrobu nových látek. Firmy jsou nuceny flexibilně reagovat na náhlé změny v poptávce, které mohou vznikat například i v době pandemie. Proto stále častěji začínají do farmaceutického průmyslu a syntézy speciálních chemikálií vstupovat průtočné systémy, které kromě výše zmíněných výhod, umožňují nepřetržitou výrobu a její snadné navýšení^{29,36}. Dále se ukázala velmi výhodnou možnost spojení syntetických kroků reakce s jejím následným zpracováním (např. separace, neutralizace atd.) v jedné průtočné aparatuře^{26,37}.

Zvýšení bezpečnosti procesu je možné demonstrovat na provedení nitračních reakcí. Kyselina dusičná, jedno z nejběžněji používaných nitračních činidel, je silné oxidační činidlo a vyznačuje se korozivními vlastnostmi. Nitrační reakce jsou velice často exotermického charakteru. Jejich provedení v mikroreaktoru umožňuje lepší kontrolu reakčních podmínek, tím zvýšení bezpečnosti a potlačení vzniku vedlejších produktů. V praxi byla použita mikroreaktorová aparatura pro syntézu nitroglycerinu s produkcí okolo 10 kg/h³⁰, dále nitrace 2-ethylhexanolu na 2-ethylhexyl nitrát, který se používá jako dieselové aditivum. Tato reakce byla prováděna v nerezovém mikroreaktoru a bylo dosaženo 97,2 % konverze s reakčním časem 7,2 s při 35°C²⁶. Posledním příkladem propojení nitrační reakce a mikroreaktorových systémů je výroba léčiva Naproxcinod, působící jako protizánětlivá látka pro pacienty s osteoartritidou. Pro syntézu tohoto léčiva byla sestavena mikroreaktorová aparatura zahrnující nitrační reakci, neutralizaci a zpracování. Aparatura je navržena tak, aby bylo možné vyrábět až několik set tun léku ročně^{30,38}.

Příkladem provedení přímé N-alkylace v mikroreaktoru je reakce s aromatickými aminy, například alkylace anilinu pomocí benzylbromidu v dimethylformamidu. Při porovnání procesu ve vsádkovém uspořádání a průtočném režimu je pozorováno zvýšení reaktivity a

selektivity v mikroreaktoru. Výhodou mikroreaktorového uspořádání je velmi efektivní míchání a díky průtoku dochází k zabránění reakce sekundárního aminu s ještě nezreagovaným alkylhalogenidem. Na základě těchto výsledků byl tento průtočný systém využit v syntézách např. při syntéze indobufenu. Tato látka působí jako inhibitor agregace krevních destiček při jejich zvýšené aktivitě³⁹.

Provedení reakce v průtočném systému za podmínek katalýzy fázovým přenosem lze demonstrovat na vybraných příkladech. Prvním je N-alkylační reakce s různými substráty. Nejprve bylo provedeno několik orientačních sérii pokusů ve vsádkovém uspořádání, při kterých byly získány nejlepší podmínky. Pro průtočné uspořádání byl využit tubulární reaktor, na který navazoval membránový separátor pro oddělení fází. Výhodou trubkového reaktoru byla možnost zvýšení hodnoty teploty a tlaku, a právě zařazení membránové separace. Po optimalizaci podmínek bylo dosaženo 91 % konverze³⁷. Dalším příkladem je paralelní zapojení mikroreaktorů pro syntézu karbamátů. Prvním krokem byla reakce vodného roztoku azidu sodného a roztoku benzoylchloridu v toluenu, kdy docházelo ke vzniku organického azidu. Následovala separace na membránovém separátoru. Po oddělení fází byla provedena následná reakce v dalším mikroreaktoru za vzniku isokyanátu. Pak reakční směs procházela přes další separátor a v posledním mikroreaktoru docházelo k reakci isokyanátu s alkoholem a vzniku karbamátu^{30,40}.

Dále byly mikroreaktory aplikovány pro tříkrokovou syntézu Ibuprofenu, jednoho z nejvíce využívaných nesteroidních antiflogistik^{28,36,38}, nebo k syntéze steroidních intermediátů, kde bylo využito spojení průtočného uspořádání s fotochemií, za pomoci fotomikroreaktoru³⁸. Pro zvládnutí epileptických záchvatů se využívá Rufinamid, jehož syntéza byla také provedena za pomoci mikroreaktorů^{27,28}, totéž platí pro Imatinib, lék, který se využívá pro terapii myeloidní leukémie a dalších^{28-30,36,38}.

4. Experimentální část

4.1. Chemikálie

Pro syntézu methylesteru kyseliny 1-methyl-10 α -methoxydihydrolysergové byla používána rozpouštědla destilovaná voda a dichlormethan. Dichlormethan byl v kvalitě pro HPLC analýzu. Výchozí látkou byl methylester kyseliny 10 α -methoxydihydrolysergové (TEVA Pharmaceuticals CR, s.r.o.). Jako alkylační činidlo bylo při reakci používán dimethylsulfát (Sigma-Aldrich). Katalyzátorem fázového přenosu byl tetraethylamonium hydroxid (Lachner). Vodnou fází reakce tvořil roztok hydroxidu sodného (Lachner). Při provedení reakce bylo dále používány kyselina octová v 98% čistotě a 25% vodný roztok amoniaku (Sigma-Aldrich)

Pro mobilní fázi HPLC analýzy byly použity acetonitril (Lachner) v kvalitě pro HPLC a destilovaná voda s přidavkem triethylaminu. Triethylamin (Lachner) byl opět v kvalitě pro HPLC.

4.2. Methylace v mikročipové aparatuře

Převedení vsádkově prováděné methylace do průtočného režimu bylo provedeno v několika krocích. Prvním krokem kontinualizace bylo navržení aparatury, ve které by byly kontinuálně dávkovány výchozí látky (LUME, DMS, TEAH, NaOH). U výsledné reakční směsi nebylo provedeno zpracování, tedy neutralizace kyselinou octovou a hydrolyza nadbytku DMS pomocí roztoku amoniaku. Toto uspořádání reakční směsi sloužilo k otestování proveditelnosti reakce v kontinuálním uspořádání. V dalším kroku byl zařazen přídavek kyseliny octové pro neutralizaci přítomného hydroxidu sodného. Tím došlo k omezení vzniku vedlejšího produktu kyseliny po neutralizaci esteru hydroxidem. Následujícím krokem bylo snížení vzniku vedlejšího produktu kvartérní soli od MeLUME (Q1) způsobené nadbytkem DMS v reakci, přidavkem roztoku amoniaku do vialky ihned po odběru vzorku. Následně bylo řešeno kontinuální dávkování kyseliny octové a přídavek amoniaku do sběrné vialky před odběrem vzorku. Tato úprava vedla k výraznějšímu snížení vzniku kvartérní soli od produktu reakce. Poslední úpravou v kontinuálním provedení v mikročipovém reaktoru bylo zařazení temperace výstupní kapiláry, která je součástí reakčního prostoru.

4.3.1. Popis reakčního uspořádání

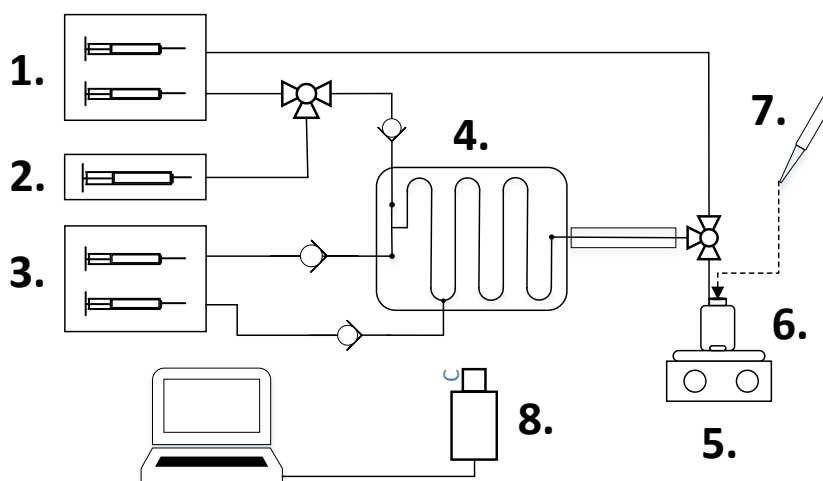
Pro methylační reakci výchozí látky LUME na produkt MeLUME byla navržena aparatura skládající se, mimo jiné, ze tří lineárních dávkovačů (CHEMTRIX, Kd Scientific). Dávkování reakčních komponent bylo zajištěno stříkačkami zakončenými šroubovacím

závitem *luer lock*. Pro dávkování LUME a DMS (Obr. 11, číslo 3.) bylo využíváno nejprve skleněných stříkaček (SGE) o objemu 2,5 ml, následně pro problémy s podtékáním byly i pro tyto reagenty byly využívány plastové stříkačky (TERUMO) o objemu 5 ml. K dávkování hydroxidů (Obr. 11, číslo 1 a 2) se využívaly plastové stříkačky (TERUMO) o objemu 5 ml. Propojení s mikročipovým reaktorem bylo zajištěno kapilárou (PEEK, 1/32“ x 0,5 mm/0,02“). Kontaminaci jednotlivých reakčních proudů bylo zabráněno instalováním zpětných klapek na jednotlivé větve aparatury před vstupem do mikročipového reaktoru.

Pro prováděnou reakci byl zvolen mikročipový reaktor typu 3225 (Obr. 11, číslo 4) umístěný v jednotce, která umožňuje regulaci teploty potřebnou pro reakci. Nastavená teplota byla kontrolována pomocí termočlánku umístěného vedle čipu. Parametry využívaného čipu jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 1 Parametry mikročipového reaktoru

Typ μčipu	Objem (μl)	Šířka (μm)	Výška (μm)	Délka (mm)	Průřez (mm ²)	Obvod (μm)	Povrch (mm ²)
3225	10,0	300	120	304	0,033	737	223



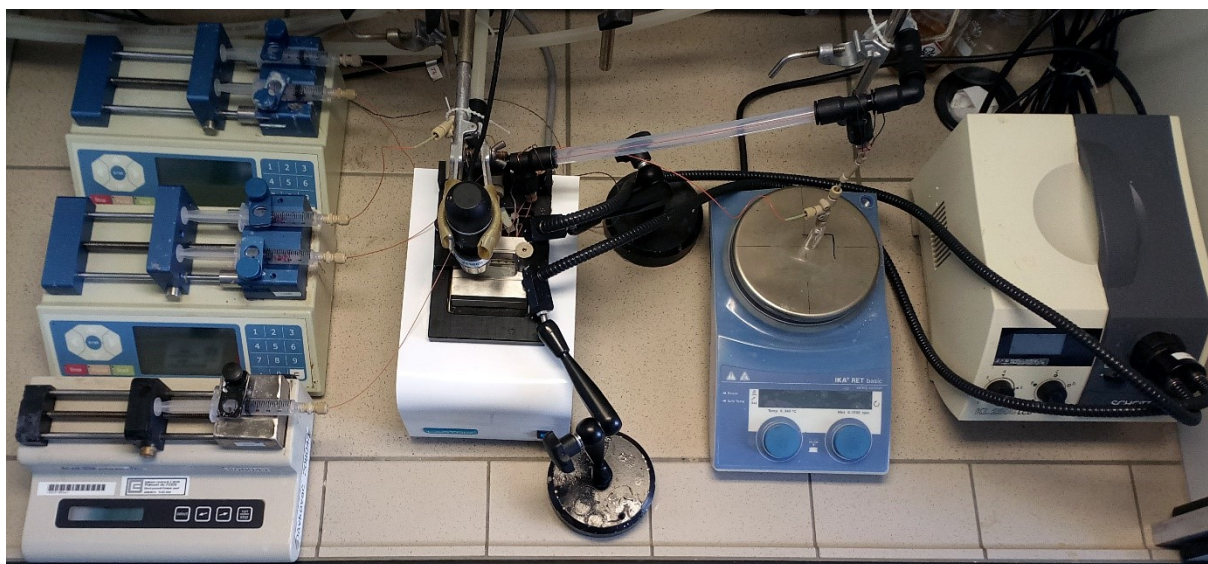
Obr. 11 Schéma mikročipové aparatury: 1. NaOH, kyselina octová; 2. tetraethylamonium hydroxid (TEAH); 3. LUME, dimethylsulfát (DMS); 4. mikročipový reaktor; 5. magnetická míchačka; 6. sběrná vialka; 7. vodný roztok amoniaku; 8. digitální mikroskop

Na výstupu z reaktoru byla připojena kapilára (PEEK, 1/32“ x 0,5 mm/0,02“) o délce 45 cm a objemu 88,4 μl, která představovala další reakční prostor. Kapilára byla svedena do sběrné vialky (Obr. 11, číslo 6.). V této vialce byla předem připravena směs acetonitrilu a kyseliny octové (pouze v prvních sériích pokusů). Intenzivní míchání směsi bylo zajištěno magnetickou míchačkou (Obr. 11, číslo 5.). Po ukončení odběru vzorku byl pipetou k roztoku přidán amoniak. Toto uspořádání bylo použito pro provedení pokusů, kdy byla studována

proveditelnost reakce v kontinuálním uspořádání. Po ukončení této skupiny pokusů byla aparatura modifikována tak, aby došlo ke snížení vzniku vedlejších produktů. Hlavní změnou bylo zařazení kontinuálního dávkování kyseliny octové.

Pro tuto úpravu reakce bylo nutné změnit umístění jednotlivých stříkaček s reaktanty. Aby bylo docíleno rovnoměrného dávkování NaOH a kyseliny octové, bylo nutné zaměnit pozice hydroxidů. Hydroxid sodný byl společně s kyselinou octovou přesunut na lineární dávkovač CHEMTRIX (Obr. 11, číslo 1.), který umožňuje dávkování dvou proudů. Pro dávkování kyseliny octové byla využita plastová stříkačka (TERUMO) o objemu 5 ml. Pro umožnění dávkování obou komponent stejnou rychlostí proudu bylo nutné pozměnit koncentraci hydroxidu sodného. Reakci kyseliny octové a reakční směsi umožňovalo zařazení spojky tvaru “T” před koncem výstupní kapiláry. Dávkování amoniaku nebylo pozměněno. Charakter průtoků reaktantů čipem byl opticky sledován pomocí digitálního mikroskopu.

V dalších prováděných experimentech byl studován vliv teploty od (5 do 25 °C) na reakci. Do aparatury byla zařazena možnost temperování výstupní kapiláry, a to pomocí trubkového chladiče, kterým byla kapilára protažena. Ohřívání či chlazení zajišťoval kryostat Huber MiniStat 125.



Obr. 12 Detail mikročipové aparatury s lineárními dávkovači (vlevo), chladičí jednotkou s mikročipovým reaktorem (uprostřed), magnetickou míchačkou a světelným zdrojem (vpravo)

4.3.2. Popis experimentu

Prvním krokem reakce byla příprava reakčních roztoků. Nejprve byl namíchán 50% (hm.) hydroxid sodný, dále byly připraveny roztoky LUME a DMS. Roztok LUME byl

připraven rozpuštěním 5 g LUME v dichlormethanu a doplněním do 25 ml. Roztok DMS byl připravován smícháním 0,9 ml dimethylsulfátu s dichlormethanem a doplněním DCM do 25 ml. Množství použitého DMS se měnilo v závislosti na hodnotě molárního přebytku vztaženého k LUME, který se pohyboval od 1,1 do 1,35. Z důvodu vysoké toxicity DMS je třeba s roztokem manipulovat velice opatrně v digestoři. Posledním reaktantem byl 20% roztok tetraethylamonium hydroxidu.

Tabulka 2 Složení reakční směsi

	Reaktanty			
	LUME	DMS	NaOH	TEAH
Molární hmotnost (g/mol)	314,38	126,13	39,97	147,26
Reakční směs (mol %)	3,4	4,1	86,0	6,4

Před začátkem experimentu bylo nutné spustit program Labview, pomocí kterého bylo možné kontrolovat teplotu mikročipového reaktoru a Labbox, který umožnil změnit teplotu temperační jednotky. Pro měření teplotních závislostí byla výstupní kapilára temperována ve výměníku typu trubka v trubce. Teplota kapaliny v tomto výměníku byla regulována pomocí kryostatu, který byl spuštěn vždy s dostatečným předstihem před začátkem pokusu k ustálení požadované teploty. Před zahájením odběru vzorku bylo nutné nechat reakci ustálit, aby se stabilizovaly nastavené teploty a průtoky reaktantů. Doba ustalování byla 10 minut.

Tabulka 3 Reakční podmínky

T °C	$V_{\text{čip}}$ μl	$V_{\text{kapilára}}$ μl	V_{celkem} μl
5 – 30	10	88,4	98,4

Pokusy byly zahajovány nastavením průtoku 100 μl, aby došlo k rychlému naplnění aparatury a následně byly průtoky sníženy na požadovanou hodnotu. Hodnoty jednotlivých průtoků byly dopočítány ze zvoleného průtoku výchozí látky.

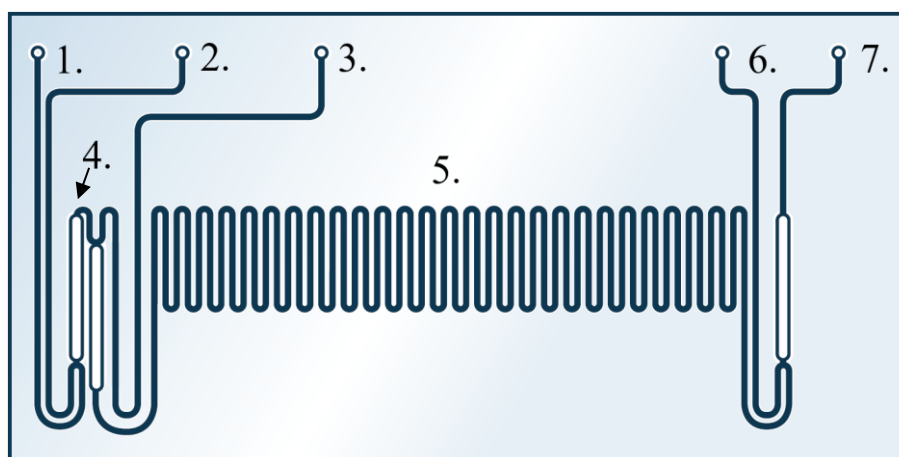
Tabulka 4 Průtoky reakčních komponent

$Q_{V,LUME}$ μl/min	$Q_{V,DMS}$ μl/min	$Q_{V,NaOH}$ μl/min	$Q_{V,TEAH}$ μl/min	$Q_{V,celkem}$ μl/min	τ min
5	5	4,2	4,3	18,5	5,3
10	10	8,3	8,7	37,0	2,7
15	15	14,3	13,3	57,7	1,7
20	20	19,0	17,3	76,3	1,3
25	25	23,7	21,7	95,3	1,0
30	30	28,5	26,0	114,5	0,9

Při provedení pokusu bylo třeba dbát na přesné pořadí spuštění jednotlivých lineárních dávkovačů s reakčními komponenty tak, aby se zamezilo krystalizaci a tím ucpání mikročipového reaktoru vysráženými krystalky hydroxidu sodného nebo LUME. Při provedení reakce byl pozorován vznik krystalů, pokud došlo ke kontaminaci LUME větve hydroxidem sodným. Tomuto jevu bylo zamezeno spuštěním lineárního dávkovače hydroxidu sodného, teprve ve chvíli, kdy ostatní roztoky již do reaktoru proudily. Při ukončení pokusu bylo také třeba bít na sled vypínání, nejprve vypnout lineární dávkovač hydroxidu, následně počkat až do reakčního kanálu nebyl dávkován žádný hydroxid a následně bylo možné vypnout lineární dávkovač LUME a DMS. Pokud došlo k ucpání vysráženým hydroxidem sodným v LUME větvi, bylo třeba reakci zastavit a provést proplach pomocí destilované vody. Dále docházelo k ucpání LUME větve následkem odpaření dichlormethanu, pokud se zastavil lineární dávkovač na delší dobu, například při výměně stříkaček při nedostatku jednotlivých reakčních komponent. Ucpání se předcházelo předpřípravou dalších stříkaček naplněných reakčními roztoky a při výměně nebyl lineární dávkovač zcela zastaven, ale došlo pouze ke snížení průtoku roztoků do reakce na 5 μl/min. Pokud došlo k ucpání LUME větve, bylo nutné pokus ukončit, větev vedoucí do čipu odšroubovat a následně vše promýt dichlormethanem. Pokud takto nedošlo k odstranění ucpání, musely být jednotlivé komponenty čištěny pomocí ultrazvuku.

Nejprve byl do reakční aparatury dávkován proud roztoku TEAH (Obr. 11, č. 2.). Poté, co došlo k naplnění celé aparatury tímto roztokem, byl spuštěn lineární dávkovač s roztoky DMS a LUME (Obr. 11, č. 3.). Tyto dva roztoky byly do reakce dávkovány za použití jednoho lineárního dávkovače, aby byl zajištěn přesný poměr dávkování a došlo k eliminaci vzniku vedlejších produktů. Jako poslední byl do reakce dávkován hydroxid sodný (Obr. 11, č. 1.).

Větve hydroxidů byly v aparatuře nejprve svedeny do jedné, pomocí spojky ve tvaru „T“, a jejich směs byla následně přivedena přes zpětnou klapku do prvního vstupu mikroreaktoru (Obr. 13, č. 1.). Druhým vstupem byl do čipu přiveden roztok LUME (Obr. 13, č. 2.), oba proudy procházely integrovaným statickým mixérem, ve kterém dochází k jejich promíchání. Za integrovaným mixérem (Obr. 13, č. 4.) se do směsi, třetím vstupem v mikroreaktoru, přidával DMS (Obr. 13., č. 3.)



Obr. 13 Detail mikročipového reaktoru: 1. vstup hydroxidy; 2. vstup LUME; 3. vstup DMS; 4. integrovaný mixér; 5. reakční kanálek; 6. vstup pro zhášedlo; 7. výstup

Přítomnost všech roztoků v mikročipovém reaktoru a stabilitu jejich dávkování je možné kvalitativně pozorovat s využitím digitálního mikroskopu, který promítá zvětšený obraz mikročipového reaktoru na monitor počítače. V reaktoru bylo možné pozorovat kapalinová rozhraní v místech mísení proudů zpravidla před integrovanými statickými mísiči. Bylo možné pozorovat fázová rozhraní mezi LUME a TEAH a také mezi TEAH a NaOH. Další fázové rozhraní bylo možné pozorovat při vstupu DMS do reakce. Po připojení třetího proudu (DMS) následuje druhý integrovaný mísič a reakční kanál. Na konci reakčního kanálu směs procházela třetím integrovaným statickým mísičem a přes výstup (Obr. 13, č. 7.) a výstupní kapiláru byla vedena do sběrné vialky (Obr. 11, číslo 6) umístěné na magnetické míchačce.

Do sběrné vialky bylo před začátkem pokusu pipetováno 8 ml acetonitrilu a 100 μ l kyseliny octové, pro zajištění dostatečného míchání bylo do vialky vloženo magnetické míchadlo. Kyselina octová byla do reakce přidávána pro neutralizaci hydroxidu sodného. Tím došlo k zamezení hydrolyzy esterových skupin na kyselinu. Sběr byl ukončen po nasbírání minimálně 200 μ l reakční směsi, do předpřipraveného roztoku, za ustáleného režimu toku reakční směsi. Ustálený režim toku byl takový, kdy nedocházelo k viditelným fluktuacím průtoků. Nejčastěji se objevovali nepravidelnosti průtoku hydroxidu sodného a LUME. Pravidelné dávkování bylo kontrolováno pomocí digitálního mikroskopu. Po skončení odběru

reakční směsi do roztoku acetonitrilu a kyseliny octové bylo do vialky přidáno 50 μ l amoniaku, který sloužil k odstranění nezreagovaného dimethylsulfátu a k vyrovnání pH výsledného vzorku, tak aby pH bylo bazické. V roztoku reakční směsi byl pozorován vznik bílých krystalů vysráženého octanu sodného. Před odběrem vzorku k analýze bylo nutné nechat vzniklý octan sodný sedimentovat. Následně byl ze sběrné vialky odebrán vzorek o objemu 1 ml, který byl analyzován pomocí kapalinové chromatografie.

Po optimalizaci výše zmíněného postupu bylo pokračováno v procesu kontinualizace (popsáno výše). Do stávající aparatury byl zařazen pátý proud, který přiváděl k reakční směsi kontinuálně dávkovanou kyselinu octovou. Stříkačka s roztokem kyseliny octové byla umístěna na společný lineární dávkovač s roztokem hydroxidu sodného, a k reakční směsi byla přivedena přes spojku tvaru „T“. Na spojku přivádějící kyselinu navazovala kapilára vedoucí do sběrné vialky. Do sběrné vialky, byl přichystán roztok 8 ml acetonitrilu a 50 μ l 25 % roztoku amoniaku (Obr. 11, číslo 7.). Z každé sady experimentů bylo odebráno 5 vzorků v ustáleném režimu. Než byly vzorky analyzovány byly krátkodobě skladovány v lednici při teplotě 5 °C.

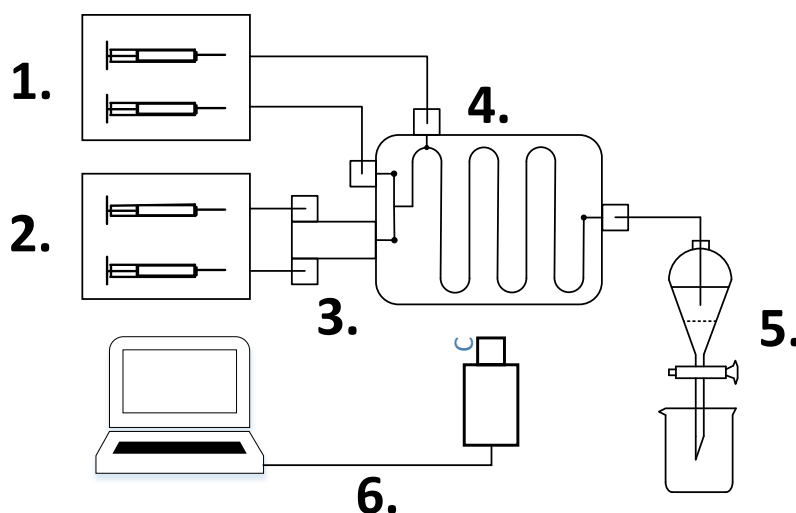
Po ukončení experimentu byl vždy proveden proplach aparatury rozpouštědly. Stříkačky LUME a DMS byly naplněny dichlormethanem, stříkačky od hydroxidů destilovanou vodou. Aparatura byla opakovaně promývána, aby se předešlo zanesení reaktoru zbytky reakčních činidel, případně krystalků a tím jeho ucpání.

4.4. Methylace v reaktoru LONZA

Po dokončení optimalizace průběhu reakce v mikročipové aparatuře bylo provedeno otestování reakce ve větším měřítku, pro tento účel byl využit nerezový reaktor LONZA (EHRFELD). Při provedení reakce v tomto uspořádání byl zařazen krok separace vodné a organické fáze pomocí membránového separátoru.

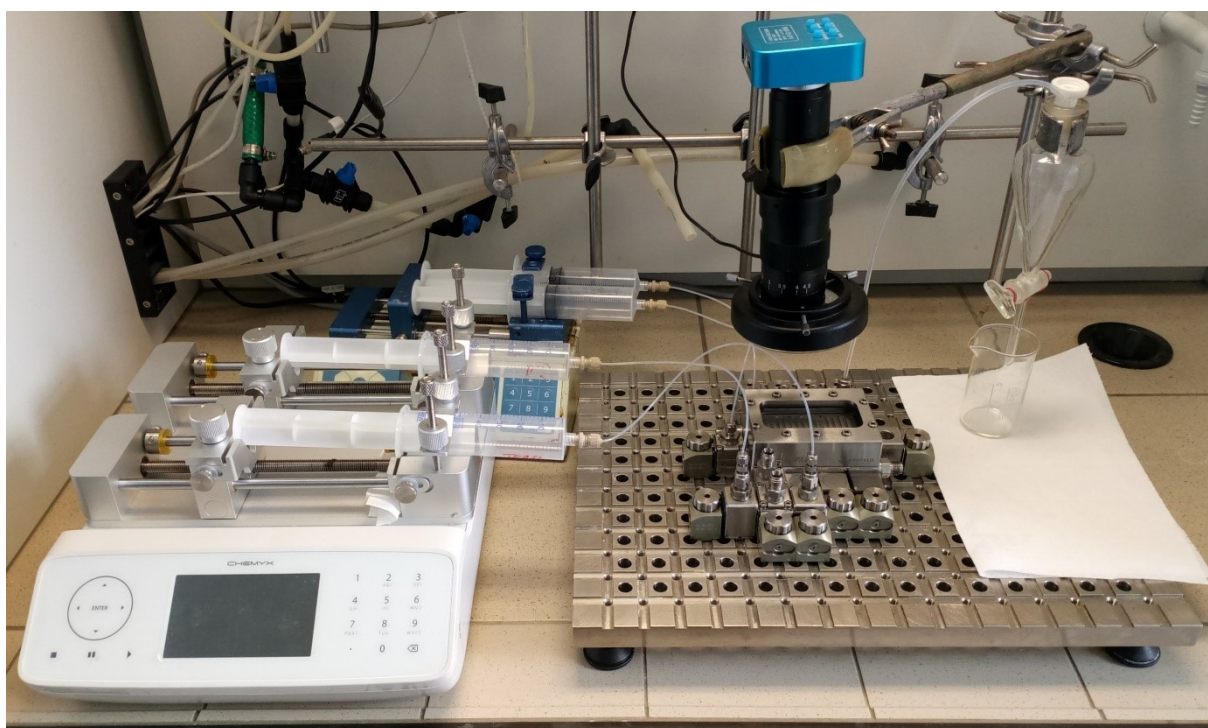
4.4.1. Popis reakčního uspořádání

Jedním z cílů práce bylo otestování proveditelnosti reakce a optimalizace podmínek pro větší měřítko, než je mikročipový reaktor. Pro větší měřítko byl vybrán nerezový reaktor (LONZA) (Obr. 14, č. 4) a modulární mikroreaktorový systém (EHRFELD) (Obr. 15). Na základní nerezovou desku byl umístěn reaktor, do kterého byly jedním vstupem přes mixér (Obr. 14, č. 3) přivedeny obě větve hydroxidů, druhým vstupem větev pro dávkování LUME a třetím vstupem bylo přivedeno DMS (Obr. 14, č. 1). Dávkování reakčních komponent zajišťovaly lineární dávkovače (CHEMTRIX), na které byly umístěny plastové stříkačky (HWS, TERUMO) o objemu 50 ml. Propojení mezi vstupními jednotkami a stříkačkami zajišťovaly kapiláry (Tub Tflz Nat 1/16x 040x50ft). Za výstup z reaktoru byla umístěna výstupní jednotka, která byla propojena kapilárou (FEP Tubing OD 1/8" x ID 1/16") o délce 24 cm a objemu 0,45 ml se vstupem do separátoru. Ze separátoru byly vyvedeny dvě kapiláry, jedna s vodnou fází (obsahující hydroxid) a druhá s organickou fází. Na konec kapiláry s organickou fází byla umístěna spojka tvaru „T“, kterou byla přiváděna kyselina octová. Z této spojky ústila kapilára do sběrné vialky, do které byl před odběrem vzorku jednorázově přidán amoniak.



Obr. 14 Schéma aparatury s LONZA reaktorem: 1. LUME a DMS; 2. NaOH, tetraethylamonium hydroxid (TEAH); 3. statický mixér; 4. LONZA reaktor; 5. dělicí nálevka; 6. digitální mikroskop

Po provedení prvních pokusů bylo zjištěno, že studovaná reakční směs znehodnotila hydrofobní membránu separátoru, a tudíž nedocházelo k efektivnímu dělení fází. Proto byl separátor nahrazen děličkou (Obr. 14, č. 5.), do které byl po stanovenou dobu jímán vzorek. Z odebraného vzorku bylo odebrán 1 ml, ke kterému byla přidána kyselina octová a následně amoniak. Při odběru vzorku do děličky bylo třeba nahradit výstupní kapiláru, nová kapilára měla délku 48 cm a objem 0,95 ml.



Obr. 15 Detail aparatury s LONZA reaktorem (uprostřed), dělicí nálevkou (vpravo) a lineárními dávkovači (vlevo)

4.4.2. Popis experimentu

První experimenty byly prováděny pro ověření těsnosti aparatury a otestování schopnosti dělení reakční směsi na vodnou a organickou fázi. Pro odzkoušení těsnosti byla připravena pumpa a injekční stříkačka s vodou. Po naplnění aparatury bylo sledováno, zdali nedochází k úniku kapaliny u jednotek modulárního systému. Po dokončení těchto testů byly provedeny experimenty pro kontrolu správného průběhu separace. Pro tyto účely bylo využito dávkování vody, jako náhrada vodné fáze s hydroxidem a dichlormethanu, jako náhrada fáze organické s reakčními komponenty. Byla pozorována vysoká účinnost separace. Na tyto experimenty navázaly pokusy, kdy byla destilovaná voda zaměněna za 50% hydroxid sodný, který je využíván i při studované methylační reakci. Separace na hydrofobní membráně probíhala bez obtíží. Proto bylo přistoupeno k provedení samotné reakce.

Nejprve byly připraveny roztoky výchozí látky, kdy bylo naváženo 20 g LUME, které bylo rozpuštěno v dichlormethanu a roztok byl doplněn na 100 ml. Dále byl připraven roztok

DMS v dichlormethanu, kdy bylo použito 7,2 ml DMS a doplněno dichlormethanem do 100 ml. Posledním připravovaným roztokem byl 50% (hm.) NaOH.

Tabulka 5 Reakční podmínky

T °C	V_{LONZA} ml	$V_{kapilára}$ ml	V_{celkem} ml
25	1	0,95	1,95

Roztoky byly naplněny do 50 ml plastových stříkaček a umístěny na lineární dávkovače. Nejprve byl spuštěn lineární dávkovač s roztoky DMS a LUME, po naplnění větví roztoky byl spuštěn lineární dávkovač s roztoky hydroxidů. Bylo nutné dodržet dané pořadí při spouštění lineárních dávkovačů, aby nedošlo ke kontaminaci LUME větve roztokem NaOH, která by mohla způsobit vznik krystalů a ucpání aparatury. Vstupy se statickými mísiči reakčního kanálu reaktoru bylo možné sledovat pomocí mikroskopu, který promítal obraz na monitor počítače. Po naplnění celé aparatury byly změněny průtoky na požadované hodnoty a reakce byla ponechána 2 minuty ustalovat. Studované průtoky reakčních komponent byly zvoleny na základě optimalizovaných průtoků z mikročipové aparatury.

Tabulka 6 Průtoky reakčních komponent

$Q_{V,LUME}$ ml/min	$Q_{V,DMS}$ ml/min	$Q_{V,NaOH}$ ml/min	$Q_{V,TEAH}$ ml/min	$Q_{V,celkem}$ ml/min	τ min (s)
0,6	0,6	0,57	0,52	2,29	0,9 (51,1)
1	1	0,95	0,86	3,81	0,5 (30,7)
2	2	1,9	1,6	7,5	0,3 (15,6)

Po uplynutí doby ustalování byl zahájen odběr vzorku do 50 ml děličky. Reakční směs se v děličce ihned rozsazovala na dvě nemísitelné fáze, kdy vodná fáze roztoku hydroxidů byla těžší než organická fáze roztoků v dichlormethanu. Během sběru vzorku byla pravidelně odpouštěna vodná fáze. Po uplynutí doby sběru byl z organické fáze odebrán vzorek o objemu 1 ml. K tomuto vzorku bylo přidáno 50 μ l kyseliny octové, vzorek byl třepán po dobu 10 s. Následně bylo přidáno 50 μ l 25% roztoku amoniaku a vzorek byl opět třepán po dobu 10 s. Pak byly vzorky ředěny acetonitrilem, aby je bylo možné analyzovat pomocí HPLC. Do 1,6 ml acetonitrilu bylo pipetováno 100 μ l vzorku.

Při provedení pokusu docházelo k ucpávání LUME větvě, a tím ke špatnému dávkování výchozí látky. Při bližším zkoumání bylo zjištěno ucpávání filtru v *luer lock* koncovce

připojené na injekční stříkačku. Tento problém byl vyřešen tak, že po ukončení pokusu byla koncovka vždy z aparatury sejmuta a pročištěna pomocí ultrazvuku.

Tabulka 7 Parametry reaktorů

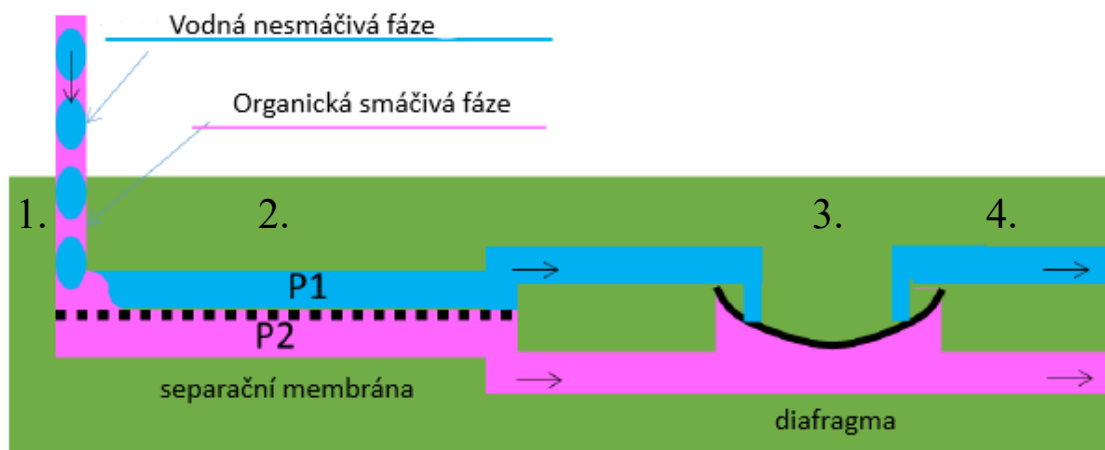
	Q_V ml/min	T °C	V μl	p bar
Mikročipový reaktor	0,005-0,1	-20-195	1-19,5	20
LONZA reaktor	1-120	-20-120	1000-3000	16

Q_V – průtok, T – teplota, V – objem, p – tlak

4.4.3 Membránový separátor ZAIPUT

Pro první sérii pokusů v reaktoru LONZA byl pro oddělení organické a vodné fáze zvolen membránový separátor ZAIPUT. Pro dělení byla využívána hydrofobní PTFE membrána s póry o velikosti 0.9 μm.

Do membránového separátoru (Obr. 16) je přivedena směs dvou nemísitelných kapalin společným vstupem (Obr. 16, číslo 1.) za pomoci kapiláry. Za vstupem následuje separační prostor, který je rozdělen na dvě poloviny pomocí membrány (Obr. 16, číslo 2.). V této části probíhá samotná separace. Pokud je v separátoru umístěna hydrofobní membrána, dochází k přechodu organické fáze přes membránu (permeát), vodná fáze nesmáčí membránu a zůstává v separačním prostoru před membránou (retentát). V separátoru je také možné využít hydrofilní membránu. Dochází tak k opačnému jevu, vodná fáze smáčí membránu, přechází přes ni na druhou stranu separačního prostoru a organická fáze zůstává v separačním prostoru před membránou. Když dojde k naplnění objemu separačního prostoru s membránou, separované kapaliny protékají odděleně vrchní částí separátoru s diafragmou (Obr. 16, číslo 3.). Ta zajišťuje vyrovnávání tlaku v obou větvích kapalin. Následují dva výstupy (Obr. 16, číslo 4.) pro každou fázi odděleně. Na výstup je možné připojit kapiláru a tu následně zavést do sběrné vialky. Využívaný membránový separátor účinně rozdělí dvě nemísitelné kapaliny až do celkového průtoku 10 ml/min.



Obr. 16 Schéma separace v membránovém separátoru ZAIPUT

Systém byl předem vyzkoušen pro separaci destilované vody a dichlormethanu. Separace těchto rozpouštědel byla provedena při jejich rozdílných průtocích (0,2, 0,4, 0,6 ml/min). Tyto průtoky byly mezi sebou různě kombinovány, aby byla ověřena funkčnost separace i při vyšším průtoku jedné fáze. Výsledek separace bylo možné ověřit pouhým okem, kdy nebyl pozorován vznik dvou fází ve sběrných vialkách. Při analýze vodné fáze na Ramanově spektrometru nebyla pozorována typická vibrace pro dichlormethan v oblasti vlnočtu 700 cm^{-1} . Po ověření separace směsi dichlormethan a destilovaná voda, byla destilovaná voda zaměněna za 50% vodný roztok hydroxidu sodného, a pokusy byly zopakovány. Po dokončení pokusů byl separátor promyt destilovanou vodou, ethanolem a vysušen. Funkčnost separátoru pro vodný roztok hydroxidu a dichlormethanu byla úspěšně ověřena a průtočný separátor byl umístěn na výstupní kapiláru aparatury s nerezovým reaktorem LONZA.

Tabulka 8 Parametry membránového separátoru ZAIPUT

<i>Tlak</i> MPa	Q_{max} ml/min	T_{max} °C	V_{in} μl	<i>Výška</i> mm	<i>Šířka</i> mm	<i>Hloubka</i> mm
2	10	130	450	77	77	29

4.5. Analytické stanovení

K analytickému stanovení byla využívána metoda HPLC. Pro analýzu vzorků byla aplikována gradientová kapalinová chromatografie na reversní fázi. Jako mobilní fáze byl použit acetonitril a voda, jejíž pH bylo upraveno na 11,44 přidávkem báze, triethylaminu, v množství 2 ml/l. Kolona sloužící pro stanovení obsahovala jako stacionární fázi silikagel modifikovaný alkylovými řetězci o délce osmnácti uhlíků. Délka kolony činila 150 mm, průměr 3 mm a velikost částic 3,5 μm . Průtok mobilní fáze byl 0,5 ml/min. Pro detekci produktů byl využíván UV-VIS detektor, nastavený na měření v UV oblasti o vlnové délce 285 nm. Doba analýzy byla nastavena na 25 minut. Analýza byla prováděna na přístroji Termoscientific Ultimate 3000 s automatickým dávkovačem, objem nástřiku pro stanovení byl 2 μl . Retenční časy jednotlivých sloučenin jsou shrnuty v následující tabulce.

Tabulka 9 Retenční časy produktů reakce analyzovaných na HPLC

Sloučenina	MeLUME kyselina	Q2	Q1	LUME	MeLUME
Retenční čas (min)	5,4	6,8	7,3	10,5	12,1

MeLUME kyselina – vzniká hydrolyzou produktu reakce

Q2 – kvartérní sůl vznikající z výchozí látky (LUME)

Q1 – kvartérní sůl vznikající od produktu (MeLUME)

Pro určení jednotlivých látek v chromatogramu reakční směsi byly analyzovány standardy výchozí látky a produktu. Jejich jednoznačná identifikace byla provedena pomocí NMR a HPLC-MS.

Pro NMR analýzu byl využit spektrometr Avance 400 (Bruker, Německo) při teplotě 25 °C. Bylo měřeno 1D vodíkové spektrum při frekvenci 400,1 MHz, jako rozpouštědlo byl použit deuterovaný chloroform s posunem 7,26 ppm.

Pro stanovení látek pomocí HPLC-MS byl využit HPLC přístroj Termoscientific Ultimate 3000 s automatickým dávkovačem, objem nástřiku pro stanovení byl 2 μl a pro MS stanovení microTOF-QIII (Bruker Daltonik, Bremen, Německo). Látky byly ionizovány ESI (elektrosprejová ionizace) a spektrum bylo měřeno v pozitivním módu, napětí kapiláry bylo 4000 V, end plate offset -500 V, teplota zdroje byla nastavena na 180°C. Jako sušící plyn a nebulizer byl použit N_2 . Nastavený tlak nebulizeru činil 1 bar a průtok sušícího plynu byl 4 l/min, spektrum bylo měřeno v rozmezí m/z 80-1500, RF kolizní cely 100 Vpp, kalibrováno na klastry mravenčanu sodného.

Výsledné plochy píků získané metodou HPLC byly použity pro výpočet konverze reakce a selektivity vzniku produktu reakce.

Pro výpočet konverze byl použit následující vzorec

$$X_{LUME} = \frac{\sum_0^i A_i}{(\sum_0^i A_i) + A_{LUME}}$$

X_{LUME} ... konverze výchozí látky LUME [-]

A_i ... plocha píku stanovovaného produktu [$mV \cdot s$]

A_{LUME} ... plocha píku nezreagovaného LUME [$mV \cdot s$]

Pro výpočet selektivity vzniku produktu a vedlejších produktů byl používán vzorec.

$$S_i = \frac{A_i}{(\sum_0^i A_i)}$$

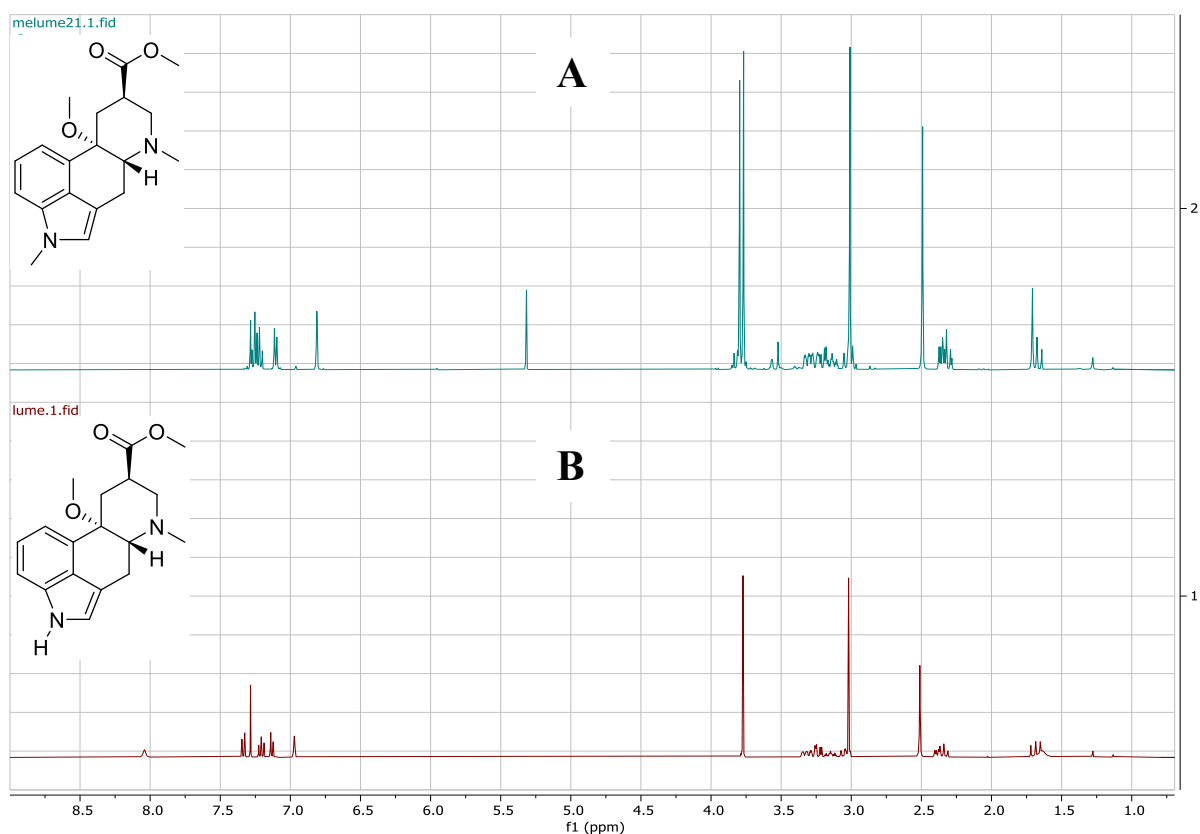
S_i ... selektivita stanovovaného produktu [-]

A_i ... plocha píku stanovovaného produktu [$mV \cdot s$]

5. Výsledky a diskuse

5.1. Výsledky NMR a MS analýzy

Určení pozic píků jednotlivých látek v HPLC chromatogramu bylo provedeno pomocí standardů výchozí látky a produktu reakce a HPLC-MS analýzy vedlejších produktů. Jako standard výchozí látky byl použit roztok této látky v acetonitrilu, který byl podroben HPLC analýze. Pevný vzorek výchozí látky byl také rozpuštěn v deuterovaném rozpouštědle a podroben NMR analýze (Obr. 17). Produkt reakce byl připraven ve vsádkovém uspořádání podle konvenčního postupu (kapitola 3.1.4.). Získaný produkt byl zpracován podle postupu, vysušen na rotační vakuové odparce a dále analyzován pomocí HPLC. Následná NMR a HPLC-MS analýza prokázala, že přítomná látka je požadovaný produkt reakce (Obr. 17). Na Obr. 17 jsou porovnána spektra produktu (A) a výchozí látky (B). Je zde možné pozorovat ztrátu signálu ve spektru MeLUME, který se nachází při chemickém posunu 8 ppm. Tento signál náleží vodíku NH skupiny. Dále je možné pozorovat, že ve spektru produktu se objeví signál okolo 3,75 ppm, který náleží nově navázanému methyly na dusík. Signál o posunu 5,30 ppm je signálem ne zcela dobře odpařeného rozpouštědla využívaného při reakci.



Obr. 17 NMR spektra MeLUME (A) a LUME (B)

Pomocí MS analýzy byla potvrzena struktura výchozí látky a produktu a byly identifikovány píky vedlejších produktů. A to jak kvartérních solí vznikajících od výchozí látky i produktu, tak kyselin, které vznikají jako produkt hydrolyzy.

Výchozí látka LUME; MS spektrum: pro molekulu $C_{18}H_{22}N_2O_3$ vypočteno m/z 314,16, nalezen protonovaný molekulový pík $[M+H]^+$ 315, pík s nejvyšší intenzitou fragment 214.

Produkt reakce MeLUME; MS spektrum: pro molekulu $C_{19}H_{26}N_2O_3$ vypočteno m/z 328,16, nalezen protonovaný molekulový pík $[M+H]^+$ 329, pík s nejvyšší intenzitou fragment 329.

Vedlejší produkt kyselina od MeLUME; MS spektrum: pro molekulu $C_{18}H_{22}N_2O_3$ vypočteno 314,16, nalezen protonovaný molekulový pík $[M+H]^+$ 315, pík s nejvyšší intenzitou fragment 214. Hmotnostně stejná molekula, podobná fragmentace, jako výchozí látka, rozlišení použitím HPLC podle retenčních časů standardů jednotlivých látek.

Kvartérní sůl od LUME; MS spektrum: pro molekulu $C_{19}H_{25}N_2O_3$ vypočteno m/z 329,18, nalezen molekulový pík $[M]^+$ 329, pík s nejvyšší intenzitou fragment 214.

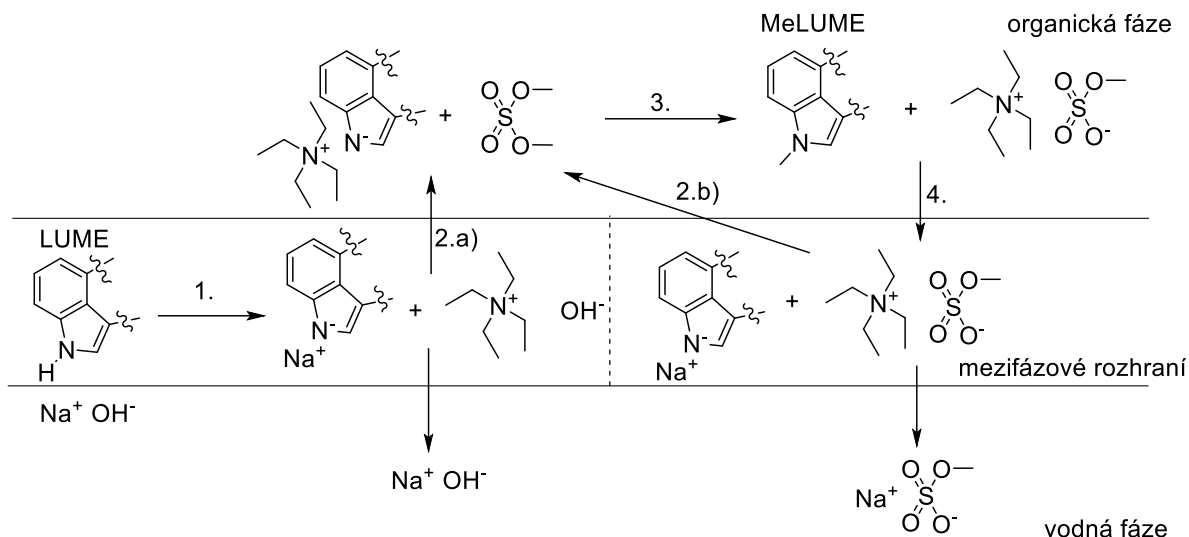
5.2. Předpokládaný mechanismus průběhu N-methylace LUME

Aplikací obecného Makoszova mechanismu¹⁴ katalýzy fázovým přenosem (kapt.3.2.3.1.) na studovanou N-methylaci LUME byl formulován předpokládaný průběh reakce (Obr. 18).

Prvním krokem reakce je deprotonace LUME pomocí NaOH (Obr. 18, č. 1.). K této reakci dochází na fázovém rozhraní. Vzniklý záporný náboj na indolovém jádře neumožňuje přechod molekuly samovolně do organické fáze. Aby bylo možné uskutečnit reakci s dimethylsulfátem, musí nejprve deprotonované LUME reagovat s katalyzátorem fázového přenosu (Obr. 18, č. 2.a). V reakci dochází k iontové záměně a vytvoří se iontový pár z kationtu katalyzátoru a deprotonované látky a NaOH, který přechází do vodné fáze. Vzniklý iontový pár, s organickým aniontem, přechází do organické fáze (Obr. 18, č. 2.a). Po přenosu do organické fáze dochází k methylaci deprotonovaného LUME dimethylsulfátem (Obr. 18, č. 3). Vzniká produkt MeLUME a kvartérní sůl, kde vystupuje methylsulfátový anion jako protion kvartérního amoniového kationtu (Obr. 18, č. 4.). Vzniklá kvartérní sůl může přecházet zpět na mezifázové rozhraní. Zde může fungovat jako recyklovaný katalyzátor a vstupovat opět do reakce s deprotonovaným LUME (Obr. 18, č. 2.b).

Pokud není zajištěno dostatečné míchání fází, nedochází k deprotonaci LUME na mezifázovém rozhraní a v reakci vzniká vedlejší produkt Q2 kvarternizací LUME. Kvartérní sůl Q2 vzniká, protože dusík v poloze N6 je reaktivnější než dusík indolového jádra. Když není reakční směs včas zpracována, dochází k další reakci, kdy produkt MeLUME reaguje

s dimethylsulfátem a vzniká kvartérní sůl Q1. Další vedlejší reakcí, ke které může docházet na mezifázovém rozhraní je hydrolyza esteru LUME i MeLUME a vznik příslušných kyselin.



Obr. 18 Předpokládaný mechanismus průběhu N-methylace LUME

5.3. Aparatura s mikročipovým reaktorem

5.3.1. Výpočet průtoků pro reakční komponenty

V experimentální části bylo popsáno praktické provedení N-methylační reakce ve dvou různých průtočných aparaturách. První průtočná aparatura využívala skleněný mikročipový reaktor. Tato aparatura byla zvolena pro studii proveditelnosti N-methylační reakce v kontinuálním uspořádání a následnou optimalizaci reakčních podmínek. Pro aparaturu s mikročipovým reaktorem byly vypočítány jednotlivé průtoky tak, aby se doba zdržení pohybovala okolo jedné minuty (Tabulka 4.). U výpočtu studovaných průtoků byl dodržen molární poměr jednotlivých reakčních komponent, který se odvíjí od množství LUME a je stejný jako u vsádkového uspořádání. Pro výpočet jednotlivých průtoků byly použity následující vzorce.

Výpočet molárního průtoku LUME:

$$Q_{n,LUME} = Q_{V,LUME} \cdot c_{LUME}$$

$Q_{n,LUME}$...molární průtok LUME [mol/min]

$Q_{V,LUME}$...objemový průtok LUME [ml/min]

c_{LUME} ...koncentrace LUME [mol/dm³]

Výpočet molárního průtoku DMS pro molární přebytek 1,2:

$$c_{DMS} = \frac{n_{LUME} \cdot 1,2}{V_{DMS}}$$

$$Q_{n,DMS} = Q_{V,LUME} \cdot c_{DMS}$$

c_{DMS} ...koncentrace DMS [mol/dm³]

n_{LUME} ...látkové množství LUME [mol]

V_{DMS} ...objem DMS [ml]

$Q_{n,DMS}$...molární průtok DMS [mol/min]

$Q_{V,LUME}$...objemový průtok LUME [ml/min]

Výpočet molárního a objemového průtoku TEAH:

$$Q_{n,TEAH} = Q_{n,LUME} \cdot 1,87$$

$$Q_{V,TEAH} = \frac{Q_{n,TEAH} \cdot \frac{M_{TEAH}}{20} \cdot 100}{\rho_{TEAH}}$$

$Q_{n,TEAH}$...molární průtok TEAH [mol/min]

$Q_{n,LUME}$...molární průtok LUME [mol/min]

$Q_{V,TEAH}$...objemový průtok TEAH [ml/min]

M_{TEAH} ...molární hmotnost TEAH [g/mol]

ρ_{TEAH} ...hustota 20% roztoku TEAH [g/cm³]

Výpočet molárního a objemového průtoku NaOH:

$$Q_{n,NaOH} = Q_{n,LUME} \cdot 25$$

$$Q_{V,NaOH} = \frac{Q_{n,NaOH} \cdot \frac{M_{NaOH}}{50} \cdot 100}{\rho_{NaOH}}$$

$Q_{n,NaOH}$...molární průtok NaOH [mol/min]

$Q_{n,LUME}$...molární průtok LUME [mol/min]

$Q_{V,NaOH}$...objemový průtok NaOH [ml/min]

M_{NaOH} ...molární hmotnost NaOH [g/mol]

ρ_{NaOH} ...hustota 20% roztoku NaOH [g/cm³]

Výpočet množství kyseliny octové potřebné k neutralizaci:

$$V_{AcOH} = \frac{\left(Q_{n,LUME} \cdot \frac{V_{vzorek}}{Q_{V,celk}} \right) \cdot M_{AcOH}}{\rho_{AcOH}}$$

V_{AcOH} ...objem kyseliny octové [ml]

$Q_{n,LUME}$...molární průtok LUME [mol/min]

V_{vzorek} ...objem odebírané reakční směsi [ml]

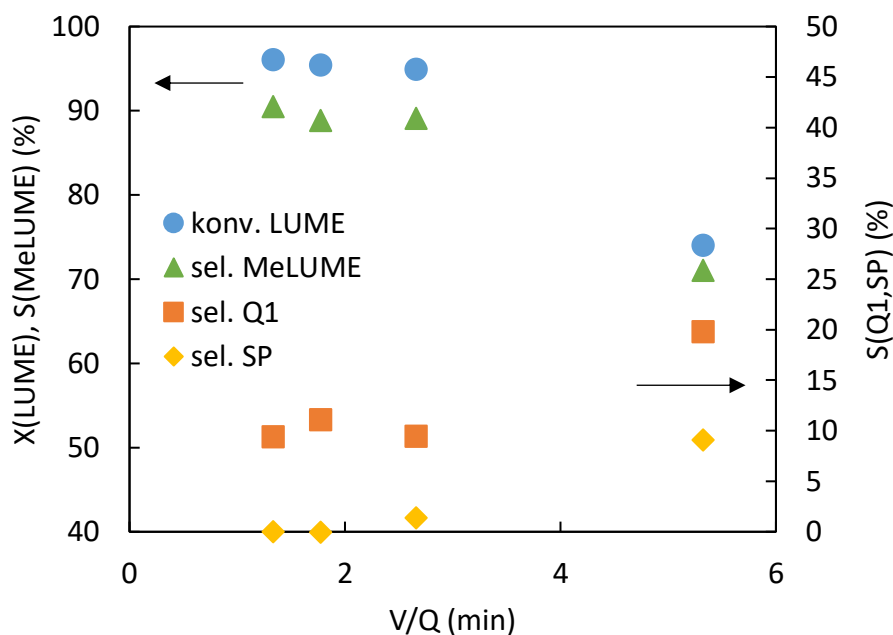
$Q_{V,celk}$...celkový objemový průtok [ml/min]

M_{NaOH} ...molární hmotnost NaOH [g/mol]

ρ_{NaOH} ...hustota 20% roztoku NaOH [g/cm³]

5.3.2. Optimalizace podmínek reakce v mikročipovém reaktoru

První série experimentů ve skleněném mikročipovém reaktoru se zabývala vlivem doby zdržení na konverzi výchozí látky a selektivitu reakce, zejména pak selektivitu na kvartérní sůl Q1 od produktu reakce. Výsledky měření byly shrnuty v Obr. 19. Jednotlivé body grafu byly získány odběrem pěti vzorků při daných podmínkách, vždy tak, aby časy odběrů vzorků byly totožné. Ze získaných dat byly po ustálení vybrány tři výsledky, které byly následně zprůměrovány a hodnoty byly zaneseny do grafu. Stejným způsobem byly získány i další závislosti. Experimenty byly měřeny při teplotě mikročipového reaktoru 15 °C. Průtoky reakčních komponent byly pro všechny pokusy stejné, koncentrace hydroxidu sodného činila 50 % (hm.) a molární přebytek DMS k LUME činil 1,3. Kyselina octová byla jednorázově dávkována před odběrem 200 μ l reakční směsi do vialky k acetonitrilu a amoniak byl dávkován jednorázově po odběru reakční směsi do vialky viz. (kap. 4.3.2.).

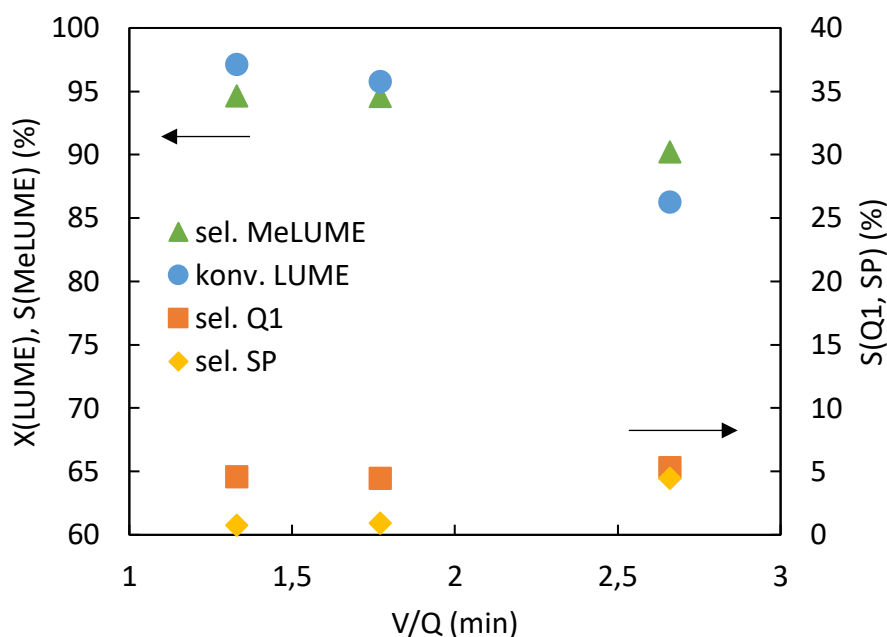


Obr. 19 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1 a vedlejších produktů na době zdržení při přebytku 1,3 a teplotě 15 °C

Z grafu je patrné zvyšování konverze LUME při snižující se době zdržení. Pokud reakce probíhala za vyšších průtoků reakčních komponent, bylo možné pozorovat zlepšení míchání jednotlivých nemísitelných fází. Výsledkem zvýšení efektivity míchání byla větší obnova mezifázového rozhraní, kde následně docházelo k další deprotonaci výchozí látky hydroxidem sodným, dle navrženého mechanismu (Obr. 18). Zároveň míchání usnadňovalo reakci mezi deprotonovanou výchozí látkou a katalyzátorem fázového přenosu. Deprotonovaná výchozí látka se udržuje na mezifázovém rozhraní kvůli náboji, který deprotonací vzniká, katalyzátor

fázového přenosu je přítomen v organické fázi. Snížení selektivity produktu reakce se zvyšující se dobou zdržení odpovídalo nárůstu vedlejších produktů. Při vysokých průtocích byla hlavním důvodem nízké selektivity tvorba soli Q1, která vznikala přítomností nadbytku dimethylsulfátu. Při nízkých průtocích docházelo k nárůstu nejen Q1, ale také jiných vedlejších produktů, zejména Q2. Přítomnost Q2, vznikajícího od výchozí látky, potvrzovala nedostatečné míchání reakční směsi v mikročipové aparatuře a nekonzistentní dávkování hydroxidu sodného do reakce. Při době zdržení přes pět minut bylo pomocí mikroskopu pozorováno velmi nepravidelné dávkování hydroxidu sodného, což se projevilo vysokým nárůstem Q2 (Obr. 19) ve výsledném vzorku. Nepravidelné dávkování při této době zdržení, kdy hodnota průtoku na hydroxidové větvi činila 4,1 $\mu\text{l}/\text{min}$, bylo způsobeno i vysokou viskozitou 50 % (hm.) roztoku NaOH. Na základě těchto dat byly pro další experimenty vybrány průtoky 10, 15 a 20 μl pro LUME a DMS, které vykazovaly nejkratší dobu zdržení.

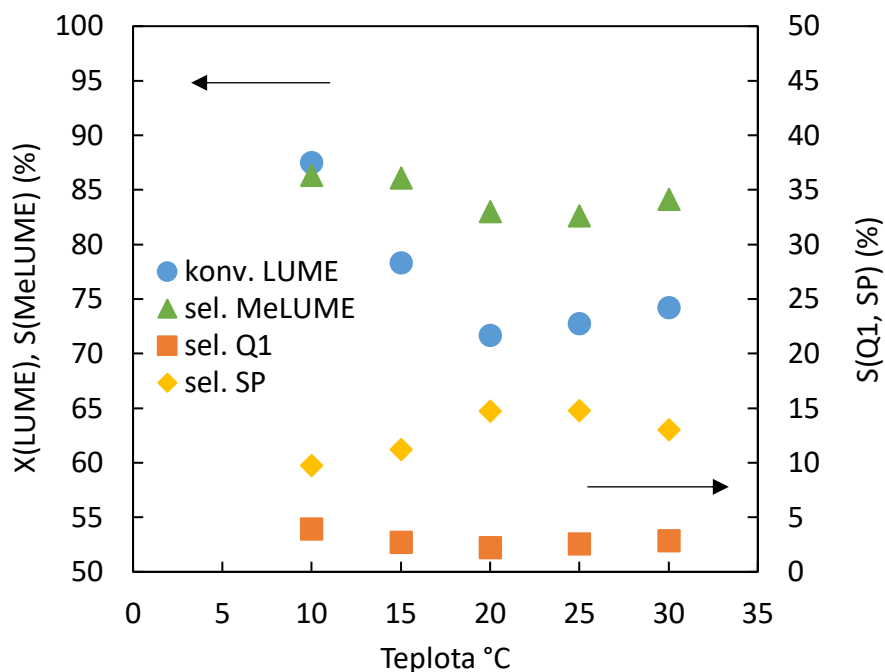
Následující série experimentů byla měřena pro tyto průtoky na LUME a DMS, při 15 °C, koncentrace hydroxidu sodného činila 50 % (hm.). Dávkování kyseliny octové a amoniaku nebylo změněno. Sledovaným parametrem byl vliv snížení molárního přebytku DMS k LUME, který byl nastaven na hodnotu 1,2 (Obr. 20). Tento nadbytek je běžně používán ve výrobním procesu. Očekávaným výsledkem po snížení nadbytku alkylačního činidla byl nárůst selektivity MeLUME a snížení tvorby Q1.



Obr. 20 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1 a vedlejších produktů na době zdržení při molárním přebytku DMS 1,2, teplota 15 °C

Z výsledku experimentů byl patrný stejný trend jako při předcházejícím měření, tedy že se snižující se dobou zdržení rostl stupeň konverze výchozí látky i selektivita produktu, docházelo k lepšímu promíchání reakčních komponent. Také podle očekávání došlo k nárůstu selektivity produktu reakce a zároveň poklesu vzniku Q1. Q1 vznikalo reakcí produktu (MeLUME) s nadbytkem dimethylsulfátu. Nadbytek dimethylsulfátu v reakci je potřebný pro dosažení maximální konverze výchozí látky.

Další experimenty byly měřeny při době zdržení 1 min 46 s a koncentraci hydroxidu 50 % (hm.). Sledovaným parametrem byla změna teploty (Obr. 21). V tomto uspořádání aparatury byla zařazena temperace pouze mikročipového reaktoru, který byl umístěn v temperační jednotce. Výstupní kapilára vedoucí z čipu do sběrné vialky, která tvořila nezanedbatelnou část reakčního prostoru, nebyla temperována. Teplota výstupní kapiláry byla shodná s teplotou laboratoře.



Obr. 21 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1 a vedlejších produktů na teplotě, temperace mikročipu, kapilára měla teplotu laboratoře, při molárním přebytku DMS 1,2 a době zdržení 1 min 46 s

Získané výsledky experimentů ukazovaly, že se zvyšující se teplotou dochází k poklesu jak stupně konverze výchozí látky, tak i k poklesu selektivity reakce. Naopak docházelo k nárůstu tvorby neznámých vedlejších produktů. Výsledky naměřené v této sérii vzorků byly velmi nekonzistentní. Docházelo k velkým výkyvům naměřených hodnot v rámci jedné teploty. Takový jev byl zpravidla pozorován při problémech s dávkováním reakčních komponent. Problémy s dávkováním byly zpravidla způsobeny částečným ucpáním zpětné

klapky nebo *luer lock* spojek, zanesením tenkých kapilár, které nemuselo být ihned patrné, nebo podtěkáním pístu dávkovací stříkačky a tím kolísání průtoku reakčních komponent.

Následující experimenty byly prováděny v upravené aparatuře. Ta zahrnovala zařazení nového proudu pro kontinuální přidávek kyseliny octové pro neutralizaci NaOH. Kyselina octová byla do reakce dávkována v molárním nadbytku 1,05 k NaOH. Průtok obou komponent byl požadován stejný z důvodu použití jedné dvoupístové pumpy. Pro výpočet průtoku byl použit následující vzorec.

$$Q_{VAcOH} = \frac{Q_{nNaOH} \cdot 1,05}{\rho_{AcOH}}$$

Q_{VAcOH} ...objemový průtok kyseliny octové [ml/mim]

Q_{nNaOH} ...molární průtok hydroxidu sodného [ml/mim]

ρ_{AcOH} ...hustota kyseliny octové [g/cm³]

Aby bylo možné dávkovat obě reakční komponenty ve stejném objemovém průtoku, bylo nutné snížit koncentraci hydroxidu sodného na 43,8 % (hm.). Pro výpočet hmotnostního zlomku bylo využito následujícího vzorce.

$$w_{2NaOH} = \frac{w_{1NaOH} \cdot Q_{V1NaOH}}{Q_{VAcOH}}$$

w_{2NaOH} ...hmotnostní zlomek roztoku NaOH [-]

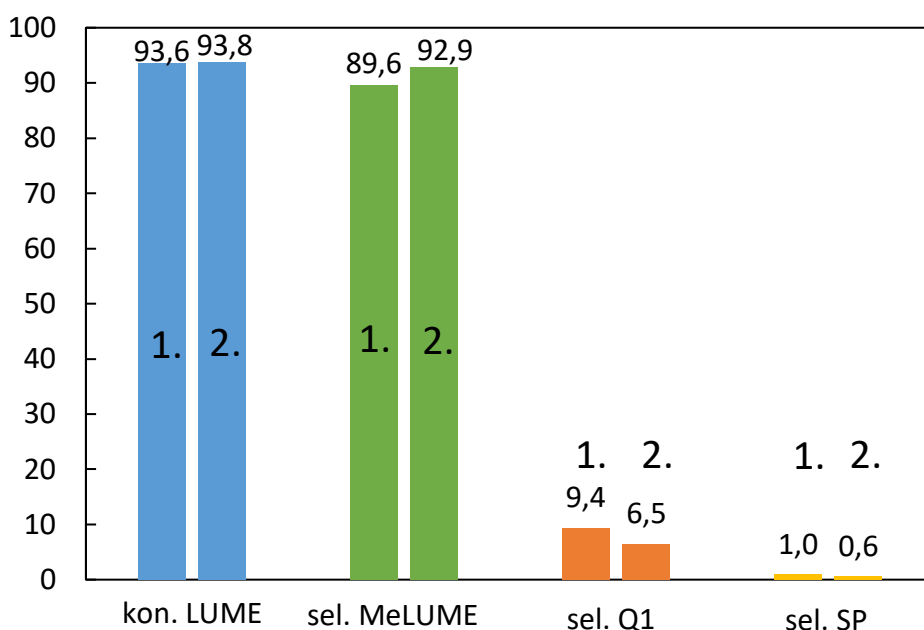
w_{1NaOH} ...hmotnostní zlomek výchozího roztoku NaOH [-]

Q_{V1NaOH} ...objemový průtok výchozího roztoku NaOH [ml/mim]

Q_{VAcOH} ...objemový průtok kyseliny octové [ml/mim]

Dále bylo zařazeno chlazení výstupní kapiláry vedoucí z mikročipového reaktoru do T-spojky. Chlazení výstupní kapiláry bylo pro získané výsledky důležité, protože výstupní kapilára poskytovala další reakční prostor. Pro takto upravenou aparaturu a sníženou koncentraci hydroxidu sodného byla proměřena závislost stupně konverze LUME, selektivity MeLUME a selektivity vzniku vedlejších produktů na době zdržení, teplotě a molárním přebytku DMS.

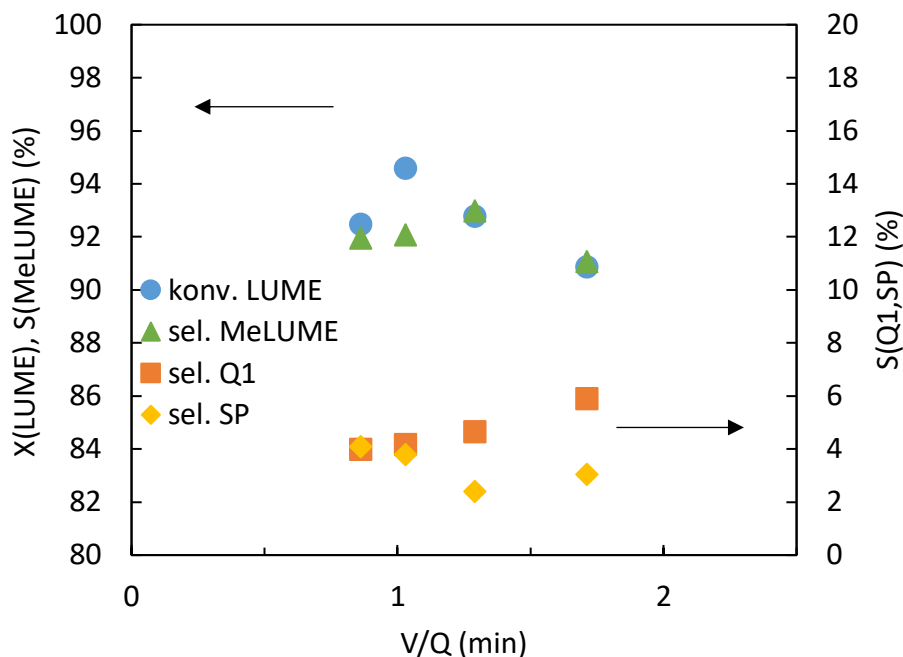
Následující sada experimentů pro nově upravenou aparaturu se zabývala vlivem způsobu přidání amoniaku k reakční směsi. V první sérii experimentů bylo nejprve k 8 ml acetonitrilu nakapáno 200 μ l reakční směsi a následně bylo jednorázově přidáno 50 μ l 25% roztoku amoniaku. Poté byl odebrán 1 ml takto upraveného vzorku k analýze na HPLC. V druhé sérii experimentů bylo přidáno 50 μ l amoniaku přímo do vialky k 8 ml acetonitrilu před sběrem 200 μ l reakční směsi. Po dokončení odběru 200 μ l reakční směsi byl vzorek promíchán a pak následně odebrán 1 ml vzorku k analýze na HPLC. Všechny pokusy byly vedeny při době zdržení 1 min 43 s, teplota aparatury byla nastavena na 15 °C (Obr. 22)



Obr. 22 Graf zobrazující rozdíl stupně konverze LUME, selektivity MeLUME a vedlejších produktů v závislosti na čase přidavku amoniaku k reakční směsi

Ze získaných výsledků bylo patrné, že vliv přidavku amoniaku před nebo po odběru vzorku neovlivňuje stupeň konverze výchozí látky. Avšak docházelo k ovlivnění vedlejších produktů reakce a zejména Q1, který vznikal v přítomnosti nadbytku DMS. Přídavek amoniaku k reakci sloužil k neutralizaci nejen nadbytku kyseliny octové, ale také nadbytku DMS. Z grafu (Obr. 22) bylo možné pozorovat, že pokud je amoniak přidán k acetonitrilu již před odběrem reakční směsi, dochází k 3% poklesu vzniku Q1 (Obr. 22, sloupec 2.), ale i k poklesu vzniku vedlejších produktů. Na základě těchto experimentů byl amoniak přidáván k acetonitrilu vždy již před odběrem reakční směsi.

Graf na Obr. 23 znázorňuje závislost stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1 a vedlejších produktů na době zdržení při přebytku 1,2 a teplotě 15 °C.



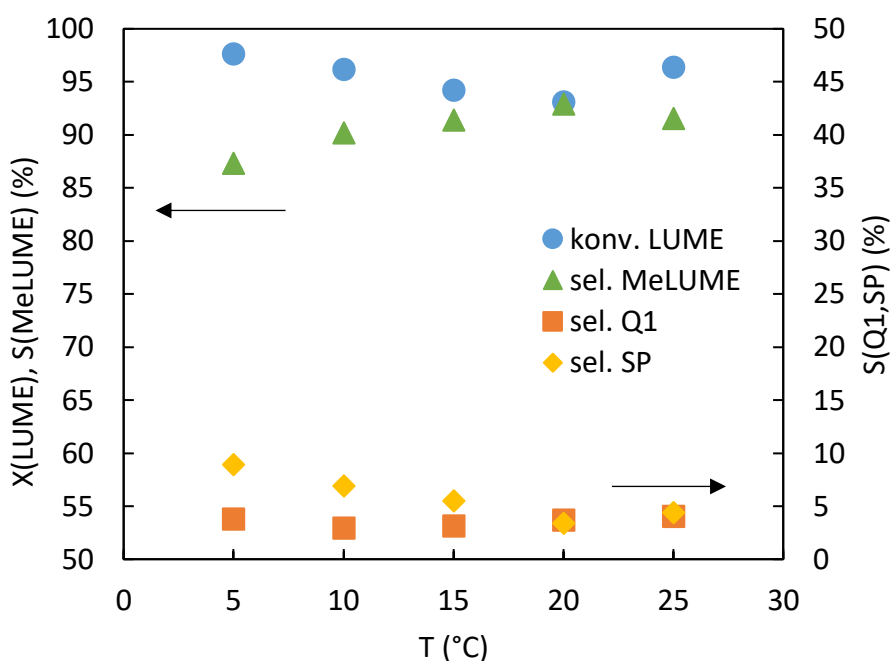
Obr. 23 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1 a vedlejších produktů na době zdržení při přebytku DMS 1,2, teplota 15 °C

Z grafu (Obr. 23) byl patrný trend, kdy docházelo k zvyšování stupně konverze se snižující se dobou zdržení. K nárůstu docházelo až po dobu zdržení 1 min. Zvýšení stupně konverze bylo pravděpodobně způsobeno lepším promícháváním reakční směsi. Při následném dalším zvýšení průtoku již nastával pokles stupně konverze. Z důvodu zkrácení doby zdržení nedocházelo k plnému zreagování reakční směsi. Krátká doba zdržení reakční směsi nebyla při průtoku 0,86 min dostatečně kompenzována mícháním. Pro dosažení vysoké selektivity žádaného produktu reakce byla situace rozdílná. Ke zlomu tvorby MeLUME docházelo při vyšší době zdržení, než je tomu u poklesu stupně konverze. Hodnota vzniku Q1 se snižující se dobou zdržení klesala, z toho bylo patrné, že vznik Q1 lze ovlivnit zvýšením průtoku reakční směsi aparaturou. Avšak při vyšších průtocích docházelo ke zvýšenému vzniku neidentifikovaných vedlejších produktů (SP). Z výsledků získaných v této sérii se ukázalo, že nejvíce konzistentní data týkající se stupně konverze LUME i selektivity MeLUME byly při době zdržení 1 min 42 s a 1 min 17 s. Z těchto dvou bylo dosaženo lepších výsledků pro dobu zdržení 1 min 17 s. Proto byla tato doba zdržení zvolena pro všechny následující experimenty. Dalším důvodem pro volbu této doby zdržení bylo, že celkový průtok byl dostatečný pro eliminaci problému s usazováním a ucpáním T-spojky octanem sodným v místě dávkování kyseliny octové do reakční směsi.

Předpokládalo se, že snížení koncentrace hydroxidu sodného v reakci nebude mít vliv na získané výsledky, nebo tento vliv bude kompenzován zvýšením průtoku na této větvi. Pokud porovnáme grafy na Obr. 20 a Obr. 23, můžeme si povšimnout, že i když u pokusů na Obr. 20 nebyla zařazena temperace celé výstupní kapiláry ani kontinuální dávkování kyseliny octové, bylo zde dosaženo lepších výsledků ve stupni přeměny LUME (doba zdržení 1 min 20 s, stupeň konverze 97 %).

V grafu na Obr. 23 byl pozorován pokles stupně konverze LUME o 4 % (doba zdržení 1 min 17 s, stupeň konverze 93 %). Hodnota selektivity MeLUME zůstala pro oba sledované body stejná 94 %. S velkou pravděpodobností byla hlavním důvodem právě změna koncentrace hydroxidu sodného. Vysoká koncentrace NaOH je výhodná pro správný průběh katalýzy fázovým přenosem tím, že neumožňuje rozpuštění deprotonovaného substrátu ve vodné fázi a tím naopak umožňuje reakci s katalyzátorem fázového přenosu, který se nachází ve fázi organické, viz kapitola 3.2.3.1.

Pro určení optimálních podmínek bylo nutné proměřit také teplotní závislost. Výsledný graf těchto pokusů je na Obr. 24.



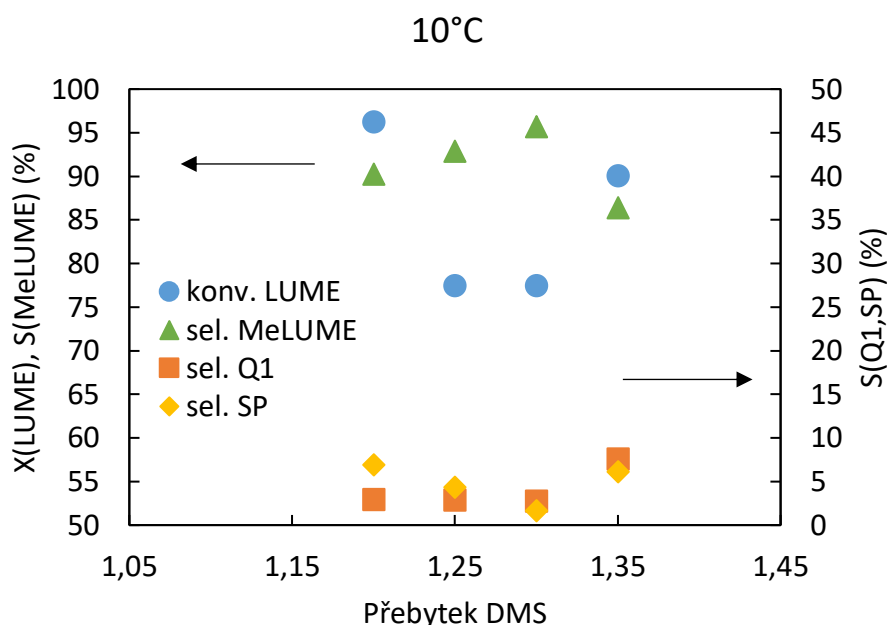
Obr. 24 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1 a vedlejších produktů na teplotě při přebytku DMS 1,2, doba zdržení 1 min 17 s

Získané hodnoty byly měřeny pro přebytek DMS 1,2, kontinuální dávkování kyseliny octové a dobu zdržení 1 min 17 s. Pro změřené teploty je možné pozorovat pokles stupně konverze výchozí látky po teplotu 20 °C, při dalším zvýšení teploty dochází k jejímu opětovnému

nárůstu. Při poklesu konverze výchozí látky dochází zároveň k poklesu vzniku vedlejších produktů. Tento pokles mohl být způsoben zpomalením bočných reakcí, které vedou ke vzniku vedlejších produktů. Při teplotě 25 °C mohlo docházet k urychlení reakce vedoucí k MeLUME a tím k nárůstu stupně konverze výchozí látky. Je možné pozorovat, že v oblasti nízkých teplot (5-15 °C) docházelo k nárůstu vedlejších produktů reakce, které nebyly identifikovány. Při provedení reakce ve vsádkovém uspořádání nebyly tyto vedlejší produkty pozorovány. Dalším možným důvodem vzniku těchto vedlejších produktů mohlo být přilnutí kapky hydroxidu sodného nebo LUME ke stěnám mikročipového reaktoru v oblasti propojení větví. Tyto přilnuté kapičky pak v reaktoru zůstávaly delší dobu, než je požadovaná doba zdržení a ve chvíli jejich uvolnění mohly způsobit kontaminaci odebíraného vzorku. Se vzrůstajícím vznikem vedlejších produktů docházelo k poklesu selektivity produktu reakce. Lze tedy odvodit, že neznámé produkty reakce musely vznikat buď reakcí s výchozí látkou nebo reakcí s produktem reakce. Nevznikaly reakcí s Q1, protože relativní množství tohoto vedlejšího produktu zůstávalo při všech experimentech konstantní.

Posledními experimenty vedenými v mikročipovém reaktoru byla měření závislosti na molární přebytku DMS při různých teplotách.

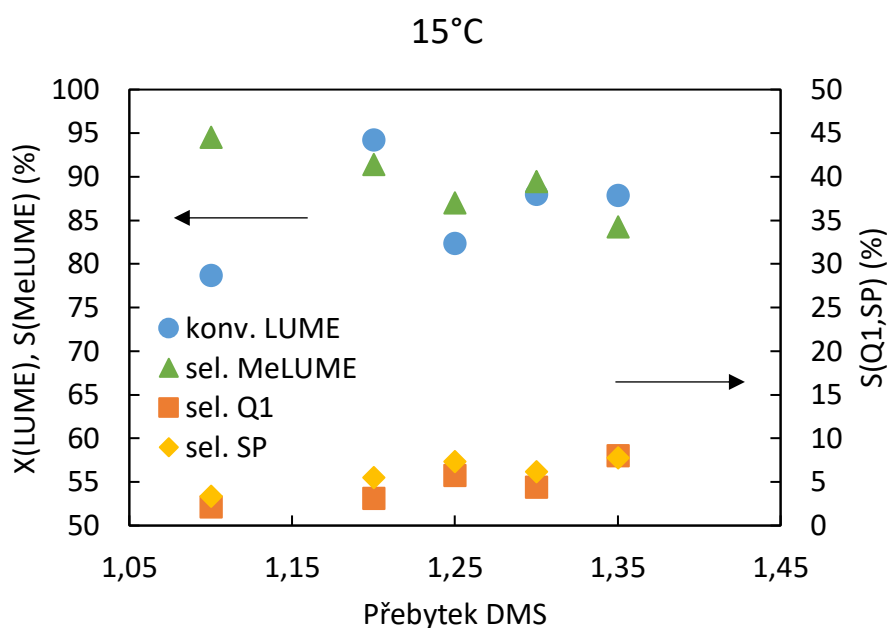
První graf (Obr. 25) vycházel z experimentů měřených při teplotě 10 °C a době zdržení 1 min 17 s. Byly studovány reakce pro molární přebytek DMS 1,2 až 1,35.



Obr. 25 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1 a vedlejších produktů na přebytku DMS pro 10 °C, doba zdržení 1 min 17 s

Z grafu byl patrný nárůst selektivity MeLUME se vzrůstajícím molárním přebytkem DMS až po přebytek 1,3. Při dalším zvýšení DMS na 1,35 docházelo již k poklesu selektivity MeLUME a zároveň k nárůstu vedlejších produktů a Q1. Nárůst Q1 byl očekávaným projevem při zvýšení přebytku DMS, kdy byla pravděpodobnější reakce MeLUME s další molekulou DMS. Získané hodnoty pro stupeň konverze vykazovaly značné výkyvy. Pro tuto teplotu bylo pozorováno časté ucpání T-spojky umístěné na konci výstupní kapiláry. Do této spojky ústila také větev kyseliny octové, vznikající octan sodný reakcí s hydroxidem sodným ucpával výstupní kapiláru, kterou kapala výsledná reakční směs do vialky. To samozřejmě ovlivnilo tokové poměry v mikročipu.

Další graf vycházel z výsledků experimentů měřených při teplotě 15 °C a době zdržení 1 min 17 s. Byly změřeny přebytky 1,1-1,35. (Obr. 26)

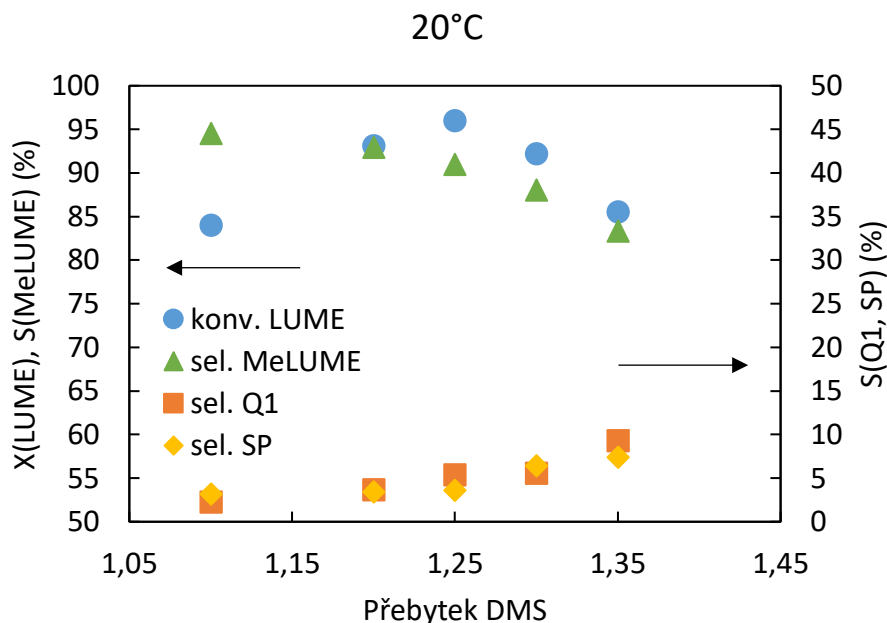


Obr. 26 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1 a vedlejších produktů na přebytku DMS pro 15 °C, doba zdržení 1 min 17 s

Z grafu byl patrný pokles stupně konverze při molárním přebytku 1,1, který byl způsoben nízkou koncentrací DMS v reakční směsi a tím nižší pravděpodobností reakce s deprotonovaným LUME. Jedním z důvodů výkyvů stupně konverze a selektivity u nízkých teplot bylo ucpávání T-spojky, které propojovala výstupní kapiláru z mikročipového reaktoru s kapilárou přivádějící kyselinu octovou. Tento problém byl pozorován pouze u teplot 10 a 15 °C, při těchto teplotách má 43,8% roztok hydroxidu sodného vysokou viskozitu a jeho průchod kapilárou není dostatečně plynulý. V T-spojce dochází k reakci kyseliny octové a hydroxidu sodného, vzniká octan sodný, jehož krystaly při nízkých teplotách ucpávaly výstup

ze T-spojky. Pokud byl výstup z T-spojky ucpan v době odběru reakční směsi do acetonitrilu s amoniakem, docházelo k prodloužení doby zdržení v kapiláře, které mohlo podpořit průběh vedlejších reakcí a vznik nežádoucích vedlejších produktů. Dále byl patrný postupný pokles selektivity MeLUME a nárůst vedlejších produktů reakce, který souvisel s vyšším přebytkem DMS v reakční směsi.

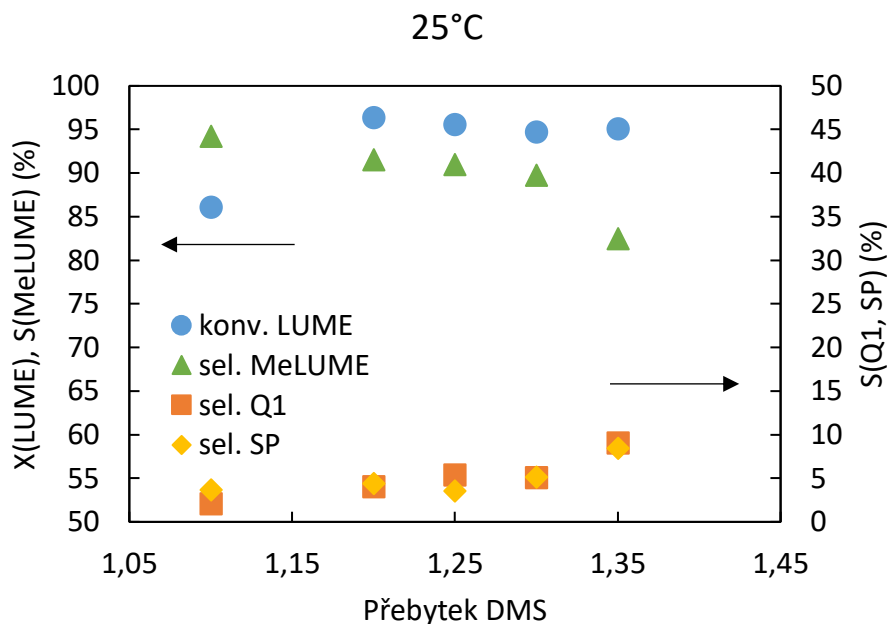
Další experimenty byly vedeny pro hodnoty molárního přebytku DMS 1,1 až 1,35 při teplotě 20 °C a době zdržení 1 min 17 s



Obr. 27 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1 a vedlejších produktů na přebytku DMS pro 20 °C, doba zdržení 1 min 17 s

Ze získaného grafu byl patrný postupný pokles selektivity MeLUME a nárůst vzniku vedlejších produktů a Q1. Tento trend vystihoval postupné zvyšování přebytku DMS, kdy docházelo ke zvyšování pravděpodobnosti vedlejších reakcí s LUME a MeLUME. Bylo však patrné, že pro dosažení vyšších konverzí výchozí látky byl přebytek DMS nezbytný a vznik vedlejších produktů bylo třeba ovlivnit jinými parametry reakce. Maximálního stupně konverze výchozí látky bylo dosaženo při přebytku 1,25, při dalším zvýšení molárního přebytku docházelo k poklesu stupně konverze. Pokles stupně konverze se zvyšujícím se přebytkem alkylačního činidla nebyl očekávaným výsledkem a vysvětlení tohoto jevu není jednoznačné.

Závěrečné experimenty byly provedeny při teplotě 25 °C a době zdržení 1 min 17 s. Studované molární přebytky DMS byly od 1,1 do 1,35 (Obr. 28).



Obr. 28 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1 a vedlejších produktů na přebytku DMS pro 25 °C

V grafu bylo možné pozorovat skokový nárůst stupně konverze mezi přebytky 1,1 a 1,2. Následně se hodnota stupně konverze udržovala na téměř konstantní hodnotě okolo 95 %. Selektivita produktu pozvolna klesala se vzrůstajícím množstvím DMS v reakční směsi, úměrně k tomuto jevu se zvyšovala tvorba vedlejších produktů, a to jak Q1, tak neidentifikovaných látek.

Identifikace neznámých vedlejších produktů nebyla provedena. Důvodem byla nízká koncentrace těchto látek v analyzovaných vzorcích. Složení skupiny látek nazvaných jako vedlejší produkty nebylo pro všechny experimenty stejné a nebyly rozpoznány podmínky reakce, při kterých dané látky vznikají. Určení struktury a podmínek vzniku těchto látek bude věnována pozornost při dalším studiu reakce.

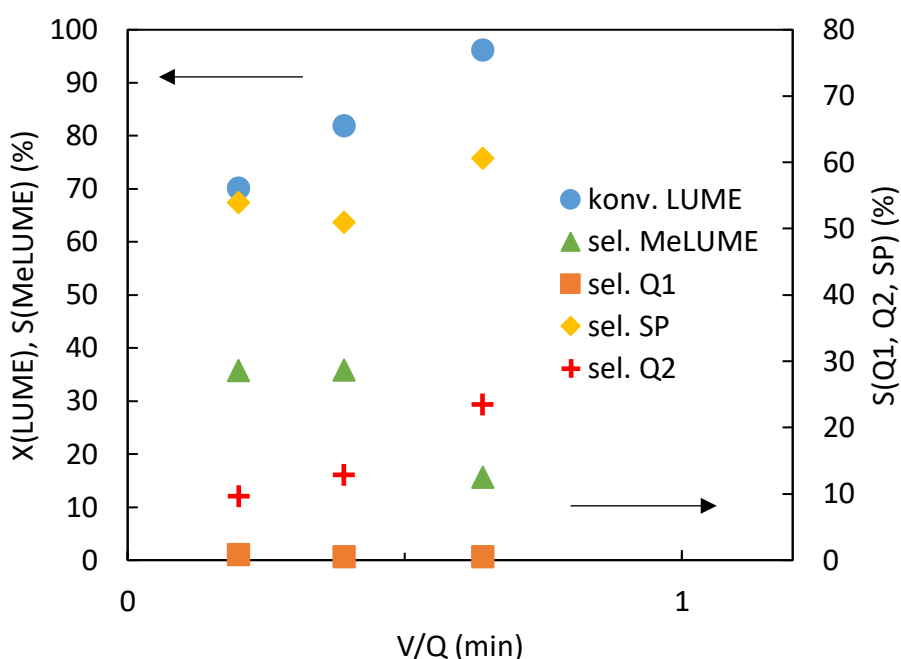
Závěrem optimalizace v aparatuře s mikročipovým reaktorem bylo, že nejvhodnějšími podmínkami pro provedení reakce s kontinuálním dávkováním kyseliny octové je teplota 25 °C, molární přebytek DMS 1,2 a doba zdržení 1 min 17 s.

5.4. Aparatura s reaktorem LONZA

Jako další průtočná aparatura pro studovanou N-methylační reakci byl vybrán nerezový reaktor LONZA o reakčním objemu 1 ml a možnosti produkce až kilogramových množství výsledné látky za hodinu. Pro propojení s lineárními dávkovači a sběrnou vialkou byl vybrán modulární mikroreaktorový systém a systém kapilár. Pro nastavení výchozích podmínek reakce jako byla teplota, celkový průtok a molární přebytek DMS, bylo využito optimalizovaných hodnot z aparatury s mikročipovým reaktorem. Omezení při zvětšování měřítka reakce představovaly zejména použité injekční stříkačky, které měly objem 50 ml, dále pak membránový separátor. Membrána zvládla dokonale rozdělit dvě nemísitelné kapaliny do průtoku 10 ml/min.

Experimenty byly prováděny při třech průtocích, kdy doby zdržení činily 15,6 až 51,1 s. Jednotlivé průtoky byly odvozeny od průtoku s dobou zdržení 1 min 17 s v mikročipovém reaktoru. Při této době zdržení bylo dosaženo nejvyšších hodnot pro selektivitu MeLUME a došlo k největší eliminaci problémů s krystalizací a ucpáváním aparatury. Pro výchozí látku LUME to byl průtok 20 $\mu\text{l}/\text{min}$. Tento průtok byl zvětšen třicetkrát, padesátkrát a stokrát. Od navýšeného průtoku LUME byly dopočítány jednotlivé průtoky ostatních reakčních komponent tak, aby byly zachovány jejich molární poměry. K výpočtu byly využity stejné vzorce jako pro výpočet aparatury s mikročipovým reaktorem a jsou uvedeny v kapitole 5.3.1. Celkový průtok v aparatuře byl nastavován od 2,29 do 7,5 ml/min. Experimenty byly vedeny při teplotě 25 °C, kdy byl temperován pouze nerezový reaktor LONZA a výstupní kapilára měla laboratorní teplotu. Využívaný molární přebytek DMS činil 1,2. Při tomto přebytku a teplotě 25 °C bylo v aparatuře s mikročipovým reaktorem dosaženo nejlepších výsledků pro stupeň konverze LUME i selektivitu MeLUME.

První série experimentů v aparatuře s nerezovým reaktorem LONZA byla provedena s využitím průtočného membránového separátoru ZAIPUT (Obr. 29). Pro tyto pokusy byla užitá výstupní kapilára o délce 24 cm poskytující celkovou dobu zdržení od 11,8 do 38,8 s. Reakce byla provedena při teplotě reaktoru LONZA 25 °C, přebytku DMS 1,2 a koncentrace hydroxidu činila 43,7 %. Kyselina octová byla přidávána kontinuálně do organické fáze za výstupem ze separátoru. Amoniak byl přidáván k 8 ml acetonitrilu jednorázově před začátkem odběru vzorků reakční směsi. Po nakapání 200 μ l a promíchání byl odebrán 1 ml na HPLC analýzu. Vždy bylo odebíráno 5 vzorků. Po zpracování analytických dat byly z pěti experimentů vybrány 3 vzorky odpovídající ustálenému stavu, jejichž hodnoty byly následně zprůměrovány a vyneseny o grafu. Postup vyhodnocení byl pro všechny následující experimenty stejný.



Obr. 29 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1, Q2 a vedlejších produktů na době zdržení při přebytku DMS 1,2, teplota 25 °C

Při provedení reakce v tomto uspořádání se objevilo několik problémů. Zásadním problémem bylo, že po několika odběrech reakční směsi přestal membránový separátor správně separovat. Část organické fáze zůstávala ve vodné fázi. Po ukončení pokusů bylo zjištěno, že došlo k potažení membrány černým povlakem (Obr. 30), a tak k jejímu poškození.



Obr. 30 Poškození hydrofobní membrány průtočného membránového separátoru

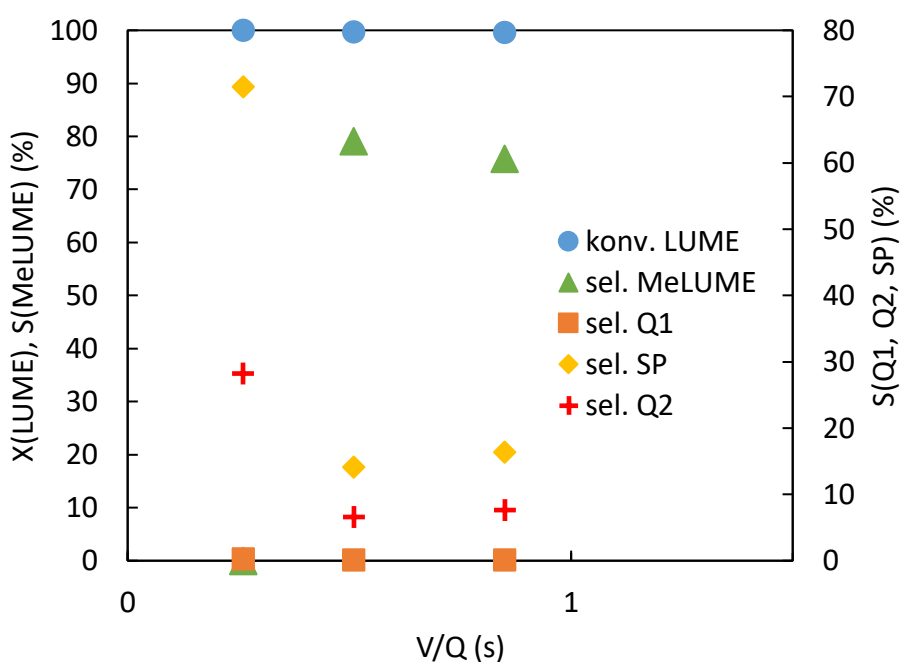
Dalším problémem bylo postupné ucpání větve LUME, které vedlo k uvolnění injekční stříkačky z lineárního dávkovače. Po ukončení pokusu bylo zjištěno, že dochází k ucpání koncovky *luer lock* napojující stříkačku na kapiláru. Tento problém byl eliminován tak, že po každém ukončení experimentu byla koncovka sejmuta z kapiláry a vyčištěna v ultrazvuku. Ze získaných výsledků byl patrný výskyt vysokého množství vedlejších produktů, které nebyly identifikovány, selektivita požadovaného produktu byla nízká okolo 40 %. Nízká selektivita MeLUME mohla souviset s nedostatečným mícháním reakční směsi nebo krátkým reakčním časem, a tím přeměnou na neznámé vedlejší produkty. Překvapivým výsledkem byla tvorba Q2, který je produktem reakce nede protonované výchozí látky a alkylačního činidla. Vznik Q2 poukazoval zejména na špatné dávkování hydroxidu sodného nebo nedostatečné míchání reakční směsi. Druhým překvapivým výsledkem byl minimální výskyt Q1 v reakční směsi. Z výsledků byl též patrný pokles stupně konverze s klesající dobou zdržení. Tento trend poukazoval na nedostatečný reakční čas pro kvantitativní reakci.

Problém se zčernáním membrány v průběhu pokusu vedl k testování chemické kompatibility membrány s jednotlivými reaktanty. Podle literárních zdrojů by měl být materiál, který byl použit na výrobu membrány (PTFE), kompatibilní se všemi používanými látkami. Proto byla provedena série experimentů, aby byla zjištěna sloučenina, která mohla poškození způsobit. Byly připraveny čtyři vialky. První obsahovala 50 % vodný roztok hydroxidu sodného, druhá 20 % roztok TEAH, třetí roztok LUME v dichlormethanu a čtvrtá roztok DMS v dichlormethanu. Do každé vialky byla vložena malá část hydrofobní membrány. Všechny vialky byly protřepány a ponechány přes noc. Druhý den byl z každé vialky vyjmut vzorek membrány a odložen na bílý papír. Membrána umístěná přes noc v roztoku dimethylsulfátu byla potažena černým povlakem. Závěrem pozorování bylo, že použitá hydrofobní membrána není vhodná pro rozdělení fází studované N-alkylační reakce. V následujících experimentech byly provedeny kontrolní pokusy kompatibility pro jiné hydrofobní membrány (MITEX) a

hydrofilní membrány (DURAPORE OMNIPORE). U všech testovaných membrán byla prokázána kompatibilita se všemi složkami reakční směsi. Následně byly s testovanými membránami provedeny experimenty dělení organické a vodné fáze pomocí separátoru ZAIPUT. Do separátoru byla vždy vystřižena membrán požadované velikosti (podle originální membrány ze separátoru ZAIPUT) a následně byl proveden test separace roztoku hydroxidu sodného a dichlormethanu. Hydrofilní membrány (DURAPORE, OMNIPOREO) měly menší póry než originální membrána. Velikost pórů byla pro obě membrány 0,1 μm . Membrány dokázaly bez problémů rozdělit vodnou a organickou fázi pouze pro nízké průtoky okolo 0,4 ml/min. Membrána (MITEX) měla póry větší než původní membrána a dělení vodné a organické fáze nebylo dokonalé. Molekuly vodné fáze přecházely před membránu. Velikost pórů u testovaných membrán (MITEX) byla 10 a 5 μm .

Před začátkem další série pokusů byla provedena úprava aparatury spočívající v nahrazení průtočného membránového separátoru dělicí nálevkou. Byl navýšen reakční prostor prodloužením výstupní kapiláry, která vedla z reaktoru LONZA do dělicí nálevky. Do dělicí nálevky proudila reakční směs po dobu 2,5 min. Po uplynutí této doby byl odebrán 1 ml reakční směsi, ke kterému byla přidána kyselina octová a následně amoniak. Pro HPLC byl připraven vzorek ze 100 μl stabilizované reakční směsi do 1,7 ml acetonitrilu.

Následující experimenty byly prováděny při teplotě 25 $^{\circ}\text{C}$, molárním přebytku DMS 1,2 a koncentraci hydroxidu 50 %. Doba zdržení se pohybovala od 15,6 do 51,1 s (Obr. 31).



Obr. 31 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1, Q2 a vedlejších produktů na době zdržení při přebytku DMS 1,2, teplota 25 $^{\circ}\text{C}$

Ze získaného grafu (Obr. 31) byl patrný nárůst stupně konverze oproti předchozím experimentům shrnutých na Obr. 29.

Ke zvýšení stupně konverze pravděpodobně přispělo zvýšení koncentrace hydroxidu sodného z 43,8 na 50 % (hm). Dále bylo možné pozorovat výrazný pokles vzniku vedlejších produktů reakce, ale i vzniku Q2. Pokles vzniku Q2 byl způsobem zvýšením koncentrace NaOH, kdy docházelo k efektivnější deprotonaci LUME na fázovém rozhraní. Výjimku tvořila nejkratší doba zdržení 15,6 s, kde nedocházelo ke vzniku žádného MeLUME a vznikaly pouze vedlejší produkty a Q2. Důvodem pro tento vývoj reakce bylo nedostatečné míchání reakční směsi v reaktoru LONZA.

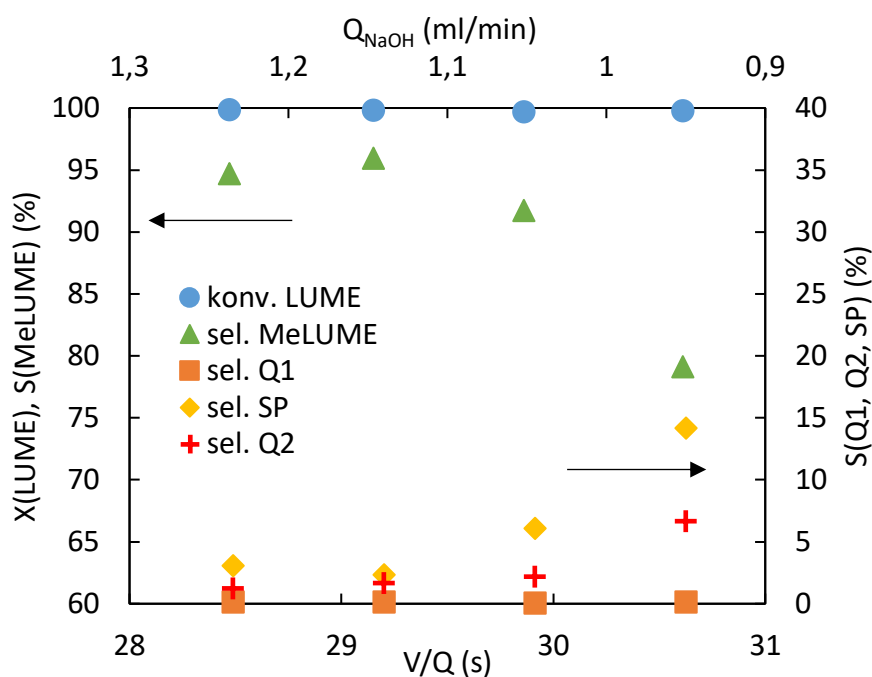
Při průběhu experimentů při době zdržení 15,6 s bylo možné v digitálním mikroskopu pozorovat, že došlo ke změně charakteru toku reakční směsi reaktorem. Pro doby zdržení 0,5 a 0,9 min byl pozorován kapénkový tok. Při kapénkovém toku docházelo k tvorbě kapek vodné fáze, která má větší povrchové napětí, v organické fázi, která lépe smáčí stěny nerezového reaktoru. Při době zdržení 0,3 min byl pozorován spíše anulární tok, kdy jedna fáze protékala středem reakčního kanálu a druhá po jejích stranách. Z grafu (Obr. 31) bylo patrné, že pro průběh reakce byl výhodnější kapénkový tok, který umožňoval efektivnější obnovu mezifázového rozhraní. Další výhodou kapénkového toku je, že jednotlivé kapky před sebou tlačí kapalinu a vytváří tak píst, ve kterém je koncentrace jednotlivých látek rovnoměrně rozložena. V jednotlivých pístech kapaliny dochází k intenzivnímu míchání vlivem vířivých proudů. Při anulárním toku byla obnova mezifázového rozhraní omezená a byl zde pravděpodobně vytvářen radiální koncentrační gradient jednotlivých reakčních komponent, který podporoval spíše vznik vedlejších produktů. V závislosti na poklesu tvorby vedlejších produktů a Q2 došlo k nárůstu selektivního vzniku MeLUME.

Z pozorování bylo patrné, že pro rychlost reakce je klíčová velikost mezifázového rozhraní organická/vodná fáze a jeho obnova. Proto pro následující experimenty prováděné v aparatuře s reaktorem LONZA byl navýšen průtok NaOH o 10, 20 a 30 %. Průtoky a doby zdržení jednotlivých experimentů jsou shrnuty v následující tabulce.

Tabulka 10 Parametry experimentů pro zvýšení průtoku NaOH

Zvýšení průtoku NaOH	0 %	10 %	20 %	30 %
Průtok NaOH (ml/min)	0,95	1,05	1,14	1,24
Doba zdržení (s)	30,7	30	29,3	28,6

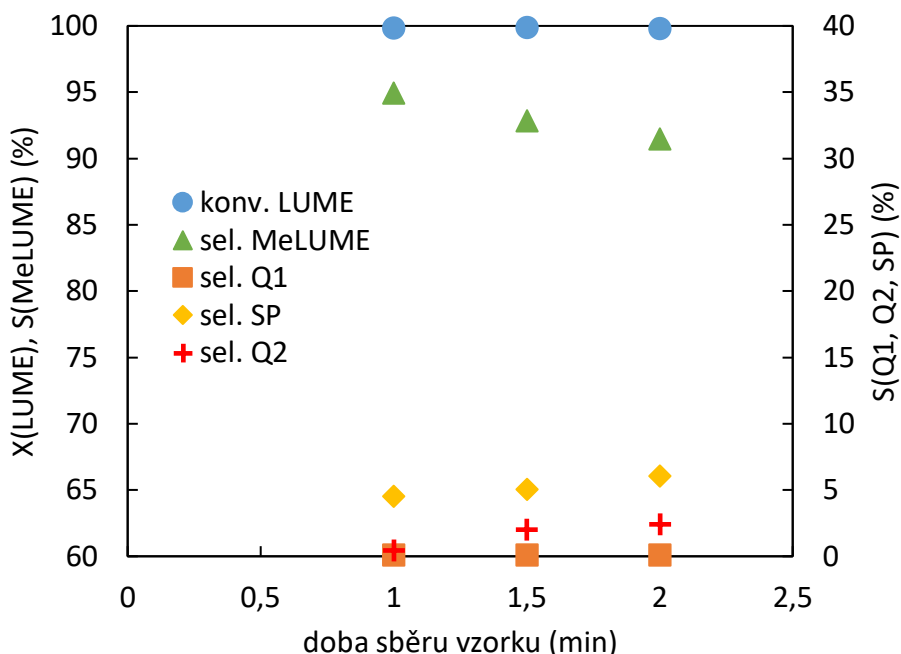
Při těchto experimentech byl studován vliv zvýšení průtoku hydroxidu sodného, zejména na tvorbu Q2. Výsledné hodnoty byly uvedeny v grafu na Obr. 32. Ze získaných hodnot bylo patrné, že bylo dosaženo totální konverze výchozí látky u všech provedených experimentů. Dále byl vidět postupný nárůst selektivity produktu reakce se zvyšujícím se průtokem NaOH, i když celková doba zdržení mírně klesala. Nejvyšší selektivity MeLUME bylo dosaženo při průtoku hydroxidu sodného 1,14 ml/min. Tento průtok odpovídal 20% nárůstu průtoku hydroxidu sodného. V grafu bylo možné pozorovat postupný pokles tvorby Q2, který poukazoval na zlepšení deprotonace výchozí látky na mezifázovém rozhraní. Dále docházelo ke značnému poklesu tvorby neidentifikovaných vedlejších produktů (SP). Tento pokles naznačoval, že by tyto vedlejší produkty mohly také vznikat reakcí nedeprotonované výchozí látky a zvýšení průtoku hydroxidu jejich vznik omezilo. Hodnoty vzniku Q1 byly pro všechny pokusy neměnné a pohybovaly se do 1 %. Při všech provedených experimentech byl pozorován kapénkový tok reakční směsi, který zajišťoval dostatečné míchání pro vznik požadovaného produktu ve vysoké selektivě. V reaktoru LONZA byl během těchto pokusů zachován kapénkový tok, který je efektivní pro míchání reakční směsi.



Obr. 32 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1, Q2 a vedlejších produktů na době sběru vzorku při přebytku DMS 1,2, teplota 25 °C

Posledními experimenty vedenými v nerezovém reaktoru LONZA byly pokusy mapující změnu výsledného složení reakční směsi v závislosti na době trvání sběru vzorku do dělicí nálevky. Využívala se 50 ml dělicí nálevka, do které se vždy nechala přitékat reakční směs po dobu 1, 1,5 a 2 min. Během doby sběru byla postupně odpouštěna spodní vodná fáze, tvořená hydroxidem sodným. Po uplynutí doby sběru byl jednorázově odebrán 1 ml organické fáze a dělicí nálevka byla vyprázdněna. K odebranému vzorku byla přidána kyselina octová a 25% roztok amoniaku. Následně byl připraven vzorek pro HPLC, kdy bylo odebráno 100 μ l reakční směsi a naředěno 1,6 ml acetonitrilem. Pro každou dobu trvání sběru bylo odebráno 5 vzorků.

Z výsledného grafu (Obr. 33) byl patrný postupný nárůst selektivity vzniku MeLUME s klesající dobou sběru reakční směsi v děličce. Zároveň docházelo k poklesu tvorby vedlejších produktů, ale i Q2. Podle získaných výsledků by okamžitá separace organické a vodné fáze mohla vést ke zvýšení tvorby MeLUME a snížení vzniku vedlejších produktů.



Obr. 33 Graf závislosti stupně konverze LUME, selektivity MeLUME, Q1, Q2 a vedlejších produktů na době zdržení při přebytku DMS 1,2, teplota 25 °C

Závěry experimentů studovaných v aparatuře s reaktorem LONZA ukázaly jako nejlepší experimentální podmínky teplotu 25 °C, průtok hydroxidu sodného 1,14 ml/min a celkový průtok reakční směsi 4 ml/min, kdy doba zdržení činila 29 s. Při této době zdržení byl v reaktoru pozorován kapénkový tok, který zajišťoval dostatečné míchání reakční směsi a obměnu fázového rozhraní. Pístový charakter toku vytvářel homogenní koncentraci v každém kapkami odděleném segmentu reakční směsi. Tyto parametry přispívaly k totální konverzi výchozí látky a vysoké selektivitě produktu reakce. Dalším faktorem přispívajícím ke zlepšení selektivity reakce byla doba sběru do dělicí nálevky. Jako nejlepší se ukázala doba sběru 1 min, kdy bylo dosaženo až 95% selektivity MeLUME.

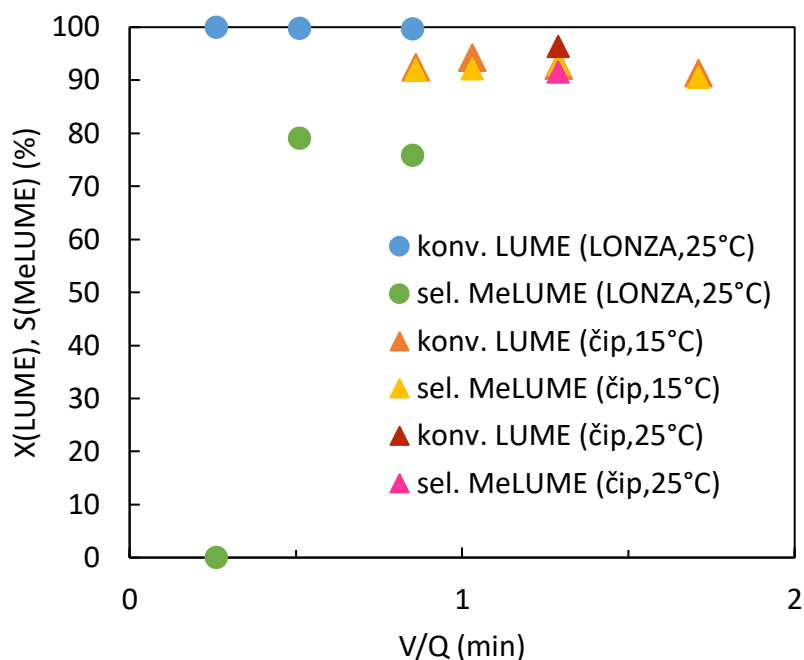
5.5. Porovnání mikročipového reaktoru a reaktoru LONZA

Pro studované aparatury bylo provedeno několik sérií pokusů, které se zbývaly vlivem reakčních podmínek na reakci prováděnou v průtočných systémech. Těmito parametry byly teplota, doba zdržení a molární přebytek alkylačního činidla.

V průběhu experimentů se objevilo několik problémů, které komplikovaly provedení v průtočném režimu. Největším problémem byla krystalizace výchozí látky (LUME) nebo hydroxidu sodného v aparatuře. Krystalizace hydroxidu sodného ve větvi výchozí látky byla pozorována zejména u experimentů prováděných v aparatuře s mikročipovým reaktorem. U aparatury s reaktorem LONZA se nejčastěji vyskytoval problém s krystalizací LUME ve filtru v *luer lock* připojeném ke stříkačce. Problémy s krystalizací byly eliminovány nepřerušováním průtoku na větvi LUME a důkladným čištěním používané kapiláry a všech spojek v ultrazvuku po každém ukončení pokusu. Pouhé promytí aparatury rozpouštědly se ukázalo jako nedostatečné. Dalším krokem pro eliminaci těchto dějů bylo nastavení správného pořadí vypínání a zapínání lineárních dávkovačů s jednotlivými reakčními komponenty.

Tok, který bylo možno pozorovat v mikročipovém reaktoru, lze klasifikovat jako přerušovaný (angl. slug flow). Tento typ toku přispíval k míchání reakční směsi i mimo statické mixéry. Pro nerezový reaktor LONZA byl při nižších průtocích 2,3 a 3,8 ml/min pozorován kapénkový tok, který se při dalším zvýšení průtoku na 7,5 ml/min změnil na tok anulární. Anulární tok již dostatečně k míchání reakční směsi nepřispíval a docházelo tak ve větší míře ke vzniku vedlejších produktů.

Na Obr. 34 byla ukázána závislost stupně konverze LUME a selektivity MeLUME na době zdržení pro oba studované systémy. Výsledky pro aparaturu s mikročipovým reaktorem byly označeny trojúhelníkem. V grafu byly vyneseny hodnoty pro experimenty v mikročipovém reaktoru měřené při 15 °C a době zdržení 1 min 17 s. Dále byla do grafu zanesena hodnota naměřená pro teplotu 25 °C. Výsledné hodnoty pro reaktor LONZA byly zobrazeny kolečkem a byly získány při teplotě 25 °C.



Obr. 34 Graf závislosti stupně konverze LUME a selektivity MeLUME době zdržení při přebytku DMS 1,2, pokusy reaktor LONZA, teplota 25 °C (●), pokusy mikročipový reaktor, teplota 15 a 25 °C (Δ)

Při porovnání hodnot naměřených pro 25 °C bylo patrné, že ani přes delší dobu zdržení se v aparatuře s mikročipovým reaktorem nepodařilo dosáhnout totální konverze výchozí látky. Avšak pro experimenty vedené v nerezovém reaktoru LONZA bylo totální konverze dosaženo již při velmi krátké době zdržení, ale s nižší selektivitou vzniku požadovaného produktu MeLUME. Při reakci v mikročipovém reaktoru při 25 °C byl pozorován nárůst stupně konverze v porovnání se stupněm konverze dosaženém při 15 °C, ale zároveň docházelo k poklesu selektivity produktu. Nejlepší selektivity vzniku produktu v aparatuře s mikročipovým reaktorem bylo dosaženo při teplotě 20 °C. Při reakci v reaktoru LONZA (25 °C) bylo dosaženo pouze 80% selektivity vzniku produktu. Z porovnání chování selektivity v mikročipovém reaktoru bylo možné soudit, že zlepšení selektivity v reaktoru LONZA by bylo možné dosáhnout jeho ochlazením na teplotu 20°C. Druhou možností pro zvýšení vzniku produktu reakce byla manipulace s průtokem a koncentrací hydroxidu sodného.

Při srovnání obou systémů z hlediska vzniku vedlejších produktů bylo možné pozorovat značný rozdíl. Pokud byla reakce prováděna v mikročipovém reaktoru, docházelo z velké části ke vzniku kvartérní soli od MeLUME (Q1). Vznik Q1 byl nejvíce omezen při použití nižšího přebytku alkylačního činidla v reakci (Obr. 27) a dávkováním amoniaku do vialky před odběrem 200 μ l reakční směsi (Obr. 22). Kvartérní sůl od LUME (Q2) byla v aparatuře s mikročipovým reaktorem pozorována pouze u velmi dlouhých dob zdržení, kdy vlivem velmi nízkého průtoku (okolo 4 μ l/min) a viskozity 50% roztoku NaOH docházelo ke špatnému dávkování hydroxidu sodného do reakce a tím ke snížení účinnosti deprotonace výchozí látky.

U experimentů prováděných v reaktoru LONZA byl výskyt Q1 v reakční směsi minimální, avšak docházelo k značnému nárůstu Q2. Tento nárůst naznačoval nedostatečné dávkování hydroxidu sodného do reakce. Nejmenší množství kvartérní soli Q2 v experimentech v aparatuře s reaktorem LONZA vznikalo při manipulaci průtokem hydroxidu sodného (Obr. 32) a dobou sběru reakční směsi do děličky (Obr. 33). Rozdíl ve vzniku kvartérních solí při provedení reakce v mikročipové reaktoru a reaktoru LONZA mohl souviset s mezifázovou plochou. Při provedení reakce v reaktoru LONZA vznikají větší kapky vodné fáze, které ale mají menší mezifázovou plochu při porovnání s kapičkami vznikajícími v mikročipovém reaktoru. Menší mezifázová plocha velkých kapek znamená pomalejší deprotonaci LUME a možný vznik kvartérní soli od LUME. Neidentifikované vedlejší produkty, které byly při experimentech pozorovány, měly rozdílné složení u experimentů v mikročipovém reaktoru a reaktoru LONZA. Toto zjištění naznačuje, že vedlejší reakce probíhající v kontinuálním uspořádání jsou pro každou aparaturu rozdílné.

5.6. Náměty pro další studium N-methylační reakce

Dosavadní výsledky studia N-methylační reakce byly podrobně rozebrány v předchozí kapitole. Avšak provedení reakce a charakterizace získaných látek nebyla zcela dokončena. Tato kapitola se věnuje dalšímu směru studia této reakce, které by mohlo vést k další optimalizaci reakčních podmínek a navýšení selektivity MeLUME.

Nejvyšší prioritu v následující optimalizaci podmínek by mělo být proměření závislosti stupně konverze a selektivity vzniku MeLUME na teplotě v nerezovém reaktoru LONZA. Podle získaných dat z aparatury s mikročipovým reaktorem by mohlo dojít k navýšení selektivity produktu reakce a k poklesu vzniku vedlejších produktů, pokud by reakce byla vedena při nižší teplotě, tj. okolo 20°C.

Vzhledem k dosažení totální konverze výchozí látky při molárním nadbytku DMS 1,2 by bylo vhodné proměřit závislost na postupně se snižujícím přebytku DMS. Pokud v reakci dochází k bočním či následným reakcím s nadbytkem dimethylsulfátu a vzniku neidentifikovaného vedlejšího produktu, bylo by možné tyto reakce snížením nadbytku omezit nebo zcela eliminovat.

Následujícím krokem by byl opakovaný pokus zařazení kontinuální separace pomocí membránového separátoru ZAIPUT. Pro separaci by byla vyzkoušena jiná separační hydrofobní membrána, jež na rozdíl od té použité by nevykazovala problémy s kompatibilitou s DMS.

Zařazení separace by umožnilo kontinualizovat i následující kroky neutralizace reakční směsi pomocí kyseliny octové a amoniaku. Zařazením této separace by došlo ke snížení vzniku vedlejších produktů, které v současném uspořádání reakce mohou vznikat způsobem sběru reakční směsi do dělicí nálevky.

Pro zvýšení efektivity míchání reakční směsi, zejména ve výstupní kapiláře, by bylo možné zapojit ultrazvukovou lázeň. Modulární mikroreaktorový systém i nerezový reaktor LONZA jsou při správném sestavení aparatury dokonale utěsněny. Tato vlastnost by umožňovala umístění celé aparatury do ultrazvukové lázně a tím zvýšení efektivity míchání reakční směsi. Použití ultrazvuku má potenciál zejména pro zvětšení mezifázové plochy a zintenzivnění obnovy mezifázového povrchu, která je do velké míry klíčovým jevem určujícím celkovou rychlost přeměny. Zvýšením efektivity míchání by mohlo dojít k potlačení vzniku vedlejších produktů a k nárůstu selektivity MeLUME. Ultrazvukovou lázeň by bylo možné použít i v případě aparatury s mikročipovým reaktorem, kde by zvýšením efektivity míchání mohlo dojít k nárůstu stupně konverze výchozí látky.

Další studium reakce by bylo vhodné věnovat příčinám vzniku neidentifikovaných vedlejších produktů, jejich izolace, zakoncentrování a charakterizace jejich struktury. Z analyzovaných dat je patrný vznik pěti neidentifikovaných vedlejších produktů. Tři tyto produkty se vyskytovaly při provedení reakce v mikročipovém reaktoru a dva produkty při reakci v reaktoru LONZA. K charakterizaci těchto vedlejších produktů by bylo vhodné využít HPLC-MS a NMR analýzy.

V kapitole 5.2 byl uveden předpokládaný mechanismus průběhu N-methylační reakce. Průběh tohoto mechanismu byl navržen na základě studia literatury a v této práci získaných experimentálních pozorování. V dalším studiu by bylo vhodné se věnovat potvrzení navrhovaného mechanismu pomocí experimentálního stanovení.

Pro analýzu průběhu bude klíčové určení složení iontových párů pohybujících se v organické fázi a potvrzení znovu zapojení katalyzátoru fázového přenosu v reakci s deprotonovaným LUME i když už není jeho aniontem skupina OH^- .

6. Závěr

Diplomová práce se zabývala převedením vsádkově prováděné N-methylační reakce do kontinuálního uspořádání. Reakce probíhá za podmínek katalýzy fázovým přenosem. Pro kontinuální provedení byly navrženy a použity dvě aparatury o různém měřítku.

Hlavní komponentou první aparatury byl skleněný mikročipový reaktor, který produkuje až gramová množství požadované látky za hodinu. V tomto uspořádání byly provedeny série experimentů, které směřovaly k nalezení optimálních podmínek reakce. Mezi optimalizované parametry patřila teplota, doba zdržení a molární přebytek dimethylsulfátu (DMS), jež byl použit jako alkylační činidlo. Methylační reakce byla prováděna při teplotě od 5 do 30°C. Každá série pokusů byla měřena při teplotě vždy o 5 °C vyšší, než byla teplota předchozí. Studovaná doba zdržení se pohybovala od 5 minut do 51 sekund a zkoumaný nadbytek alkylačního činidla byl od 1,1 do 1,35. Dále bylo do uspořádání aparatury zařazeno kontinuální dávkování kyseliny octové, která sloužila pro neutralizaci hydroxidu sodného. Bylo také zařazeno chlazení výstupní kapiláry, která představovala nezanedbatelnou část reakčního objemu. Pro provedení reakce se jako optimální podmínky ukázaly teplota 20 °C, molární přebytek DMS 1,2 a doba zdržení 1 min 17 s. Při nastavení těchto podmínek byl eliminován vliv ucpávání aparatury a bylo dosaženo 93% stupně konverze výchozí látky LUME a 92% selektivity produktu MeLUME.

Pro provedení pokusů ve větším měřítku byl průtok LUME mikročipovým reaktorem zvětšen 30, 50 a 100x. Reakce ve větším měřítku byla provedena v nerezovém reaktoru LONZA, který produkuje až kilogramová množství produktu za hodinu. Pro toto uspořádání byly optimalizovány podmínky reakce. Hlavními parametry byly doba zdržení, která se pohybovala od 15 do 51 sekund a průtok hydroxidu sodného, který umožňuje efektivní deprotonaci LUME na mezifázovém rozhraní. Dále byl studován vliv doby sběru reakční směsi do dělicí nálevky. Optimalizovanými podmínkami reakce je doba zdržení 29 s, molární přebytek DMS 1,2, teplota 25 °C, průtok hydroxidu navýšený o 20 % oproti mikročipovému reaktoru a doba sběru do dělicí nálevky 1 min. Při těchto podmínkách bylo dosaženo v reaktoru LONZA totální konverze výchozí látky a selektivity MeLUME 96 %.

Při porovnání výsledků z obou reaktorů bylo dosaženo lepších výsledků při zvětšení měřítka 30x v nerezovém reaktoru. Rozdílem mezi zařízeními bylo také složení vedlejších produktů. Dominantním vedlejším produktem pro mikročipový reaktor byla kvartérní sůl od produktu reakce (Q1), avšak pro nerezový reaktor LONZA to byla kvartérní sůl od výchozí látky (Q2). Byl navržen směr pro další studium N-methylační reakce v průtočném režimu.

7. Literatura

- (1) Winblad, B.; Fioravanti, M.; Dolezal, T.; Logina, I.; Milanov, I. G.; Popescub, D. C.; Solomon, A. *Clin. Drug Invest.* **2008**, *28*, 533.
- (2) Böttiger, Y.; Dostert, P.; Benedetti, M. S.; Bani, M.; Fiorentini, F.; Casati, M.; Poggesti, I.; Alm, C.; Alvan, G.; Bertilsson, L. *Br J Clin Pharmacol* **1996**, *42*, 707.
- (3) Bernardi, L.; Bosisio, G.; Goffredo, O. 1966, p 3 pp.
- (4) Cerny, A.; Krepelka, J.; Stuchlik, J.; Cvak, L.; Spacil, J.; Czech. . 1984, p 6 pp.
- (5) Corvi Mora, E.; Corvi Mora, Enrico: 1979.
- (6) Gervais, C.; Rhone-Poulenc Sante, Fr. . 1987, p 9 pp.
- (7) Cvak, L.; Stuchlik, J.; Cerny, A.; Krepelka, J.; Spacil, J.; Czech: 1984, p 6 pp.
- (8) Cvak, L. "Reakce LUME s DMS - nepublikované firemní výsledky," 2018.
- (9) Gordon, J. E.; Kutina, R. E. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, *99*, 3903.
- (10) Dehmlow, E. V. *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.* **1974**, *13*, 170.
- (11) Naik, S. D.; Doraiswamy, L. K. *AIChE Journal* **1998**, *44*, 612.
- (12) Sasson, Y.; Neumann, R. *Handbook of phase transfer catalysis*; Springer Science & Business Media, 2012.
- (13) Weber, W. P.; Gokel, G. W. *Phase Transfer Catalysis in Organic Synthesis*; Springer Berlin Heidelberg, 2012.
- (14) Mąkosza, M.; Fedoryński, M. *Catalysis Reviews* **2003**, *45*, 321.
- (15) Starks, C. M. *Journal of the American Chemical Society* **1971**, *93*, 195.
- (16) Joshi, D.; Adhikari, N. *World Journal of Pharmaceutical Research* **2019**, *8*, 508.
- (17) Makosza, M. *Pure Appl. Chem.* **1975**, *43*, 439.
- (18) Starks, C. M.; Halper, M. *Phase-Transfer Catalysis: Fundamentals, Applications, and Industrial Perspectives*; Springer Netherlands, 2012.
- (19) Zahalka, H. A.; Sasson, Y. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1984**, 1652.
- (20) Sasson, Y.; Arrad, O.; Dermeik, S.; Zahalka, H. A.; Weiss, M.; Wiener, H. *Molecular Crystals and Liquid Crystals Incorporating Nonlinear Optics* **1988**, *161*, 495.
- (21) Liotta, C. L.; Burgess, E. M.; Ray, C. C.; Black, E. D.; Fair, B. E. In *Phase-Transfer Catalysis*; American Chemical Society: 1987; Vol. 326, p 15.
- (22) Jones, R. A. *Quaternary Ammonium Salts: Their Use in Phase-Transfer Catalysis*; Elsevier Science, 2000.
- (23) Herriott, A. W.; Picker, D. *Journal of the American chemical Society* **1975**, *97*, 2345.

- (24) Montanari, F.; Landini, D.; Rolla, F. In *Host Guest Complex Chemistry II*; Vögtle, F., Ed.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1982, p 147.
- (25) Landini, D.; Montanar, F.; Pirisi, F. M. *J. Chem. Soc.-Chem. Commun.* **1974**, 879.
- (26) Wiles, C.; Watts, P. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 6512.
- (27) Porta, R.; Benaglia, M.; Puglisi, A. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, 20, 2.
- (28) Baumann, M.; Baxendale, I. R. *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, 11, 1194.
- (29) Adamo, A.; Beingessner, R. L.; Behnam, M.; Chen, J.; Jamison, T. F.; Jensen, K. F.; Monbaliu, J. C. M.; Myerson, A. S.; Revalor, E. M.; Snead, D. R.; Stelzer, T.; Weeranoppanant, N.; Wong, S. Y.; Zhang, P. *Science* **2016**, 352, 61.
- (30) Gutmann, B.; Cantillo, D.; Kappe, C. O. *Angew. Chem.-Int. Edit.* **2015**, 54, 6688.
- (31) Qian, J.-y.; Li, X.-j.; Wu, Z.; Jin, Z.-j.; Sunden, B. *Microfluidics and Nanofluidics* **2019**, 23, 116.
- (32) Triplett, K. A.; Ghiaasiaan, S. M.; Abdel-Khalik, S. I.; Sadowski, D. L. *International Journal of Multiphase Flow* **1999**, 25, 377.
- (33) Plouffe, P.; Roberge, D. M.; Macchi, A. *Chemical Engineering Journal* **2016**, 300, 9.
- (34) Zhao, C.-X.; Middelberg, A. P. J. *Chemical Engineering Science* **2011**, 66, 1394.
- (35) Jovanovic, J.; Rebrov, E. V.; Nijhuis, T. A.; Hessel, V.; Schouten, J. C. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2010**, 49, 2681.
- (36) Malet-Sanz, L.; Susanne, F. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 4062.
- (37) Nieves-Remacha, M. J.; Torres, M.; Ruiz-Abad, M.; Rincon, J. A.; Cumming, G. R.; Garcia-Losada, P. *React. Chem. Eng.* **2019**, 4, 334.
- (38) Baraldi, P. T.; Hessel, V. *Green Process. Synth.* **2012**, 1, 149.
- (39) Choi, Y. S.; Kim, Y. J.; Shen, L. L.; Lee, Y. S.; Jeong, J. H. *Synlett* **2015**, 26, 970.
- (40) Sahoo, H. R.; Kralj, J. G.; Jensen, K. F. *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, 46, 5704.