

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Medicinální chemie



Natalie Jaklová

Příprava opticky čistých sloučenin stereoselektivní hydrogenací v mikroreaktoru
Preparation of optically pure compounds by stereoselective hydrogenation in a microreactor

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: doc. Dr. Ing. Petr Klusoň, DSc.

Praha, 2019

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, 14. 5. 2019

Podpis:

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli doc. Dr. Ing. Petru Klusoňovi, DSc. za jeho ochotu, obětavost a cenné rady při vedení bakalářské práce.

Děkuji také Ing. Petru Stavárkovi, Ph.D. za jeho přátelský přístup, pomoc a podnětné rady při vyhodnocování získaných výsledků.

Dále bych ráda poděkovala Ing. Haně Vychodilové, CSc. a Daliboru Vlčkovi za přátelské pracovní prostředí a podnětné rady.

Rovněž děkuji Mgr. Marku Laubemu za ochotu a pomoc při optimalizaci používaných analytických postupů.

Mé největší díky patří mým rodičům za jejich nedocenitelnou podporu a trpělivost.

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá alternativním přístupem k syntéze farmaceuticky důležitého intermediátu ethyl (*R*)-4-chloro-3-hydroxybutyrátu ((*R*)-CHBE). Tato látka se využívá jako prekurzor k výrobě farmaceuticky významných sloučenin, jakými jsou například L-karnitin, (*R*)-4-amino-3-hydroxybutanová kyselina a (*R*)-4-hydroxy-pyrrolidon. V současné době dominují ve výrobě těchto sloučenin biochemické metody, nejčastěji na základě enzymatických reakcí pomocí stereoselektivních karbonylových reduktas. V této práci je popsán nový přístup, který je založen na stereoselektivní hydrogenaci ethyl-4-chloro-acetoacetátu katalyzované opticky čistým rutheniovým bifosfinovým komplexem. Celý proces byl veden v mikrofluidním reaktorovém systému. Toto uspořádání je velmi vhodné pro případné úvahy o možnosti zvětšování měřítka procesu, pro studium reakční kinetiky, pro optimalizaci reakčních a procesních podmínek apod. Pro výše uvedenou reakci byla nalezena optimální teplota reakce, tlak, složení rozpouštědlové fáze a rychlost průtoku plynné a kapalné fáze. Dále bylo popsáno užití iontové kapaliny pro zachování chirální selektivity katalyzátoru atd.

Klíčová slova: (*R*)-4-chloro-3-hydroxybutyrát, L-karnitin, mikrofluidní reaktor, hydrogenace

Abstract

This bachelor Thesis is introducing an alternative approach to the synthesis of the pharmaceutically important compound (*R*)-4-chloro-3-hydroxybutyrate ((*R*)-CHBE). This compound is used as a precursor in the production of pharmaceutically valuable products, such as L-carnitine, (*R*)-4-amino-3-hydroxybutyric acid and (*R*)-4-hydroxy-pyrrolidone. At present time these chemicals are predominantly produced by using biochemical methods largely based on enzymatic reactions in the presence of stereoselective carbonyl reductases. In this Thesis a new approach is described, which is based on stereoselective hydrogenation of ethyl-4-chloroacetoacetate catalyzed by an optically pure ruthenium bis(phosphine) complex. The whole process was carried out in a microfluidic reactor system. This assembly is highly promising for a potential scale-up, studies of reaction kinetics, optimization of reaction and process conditions etc. For the reaction described above the optimal reaction conditions, such as temperature, pressure, solvent phase composition and flow rates of gas and liquid phases, were determined. Furthermore, the use of a suitable ionic liquid preserving the catalyst's chiral selectivity was described.

Key words: (*R*)-4-chloro-3-hydroxybutyrate, L-carnitine, microfluid chip reactor, hydrogenation

Obsah

Abstrakt	4
Abstract	5
Použité zkratky	7
1. Úvod	8
2. Cíle práce	9
3. Teoretická část	10
3.1. L-karnitin	10
3.1.1. L-karnitin a jeho funkce v organismu	10
3.1.2. Deficit L-karnitinu	11
3.1.3. L-karnitin jako lék a doplněk stravy	12
3.2. Syntéza L-karnitinu a ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrátu	13
3.2.1. Syntéza L-karnitinu	13
3.2.2. Syntéza ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrátu (CHBE)	13
3.3. Iontové kapaliny	14
3.3.1. Fyzikální a chemické vlastnosti iontových kapalin	15
3.3.2. Vybrané typy iontových kapalin	16
3.3.3. Hydrogenace za přítomnosti iontových kapalin	16
3.4. Ru-BINAP (Ru-(<i>R</i>)-2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-(binaftyl))	17
3.5. Mikrofluidní reaktorové systémy	18
3.5.1. Provedení mikrofluidních reaktorových systémů	19
4. Experimentální část	20
4.1 Chemikálie	20
4.2 Popis reakčního uspořádání	20
4.3 Popis hydrogenačního experimentu	22
4.3.1 Příprava binární/ternární směsi	23
4.3.2 Příprava reakční směsi	23
4.4. Analytické stanovení	26
5. Výsledky a diskuse	28
6. Závěr	40
7. Literatura	41

Použité zkratky

BMI – body mass index

CHBE – ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrát

CoA – koenzym A

ECAA – ethyl-4-chloroacetoacetát

ee – enantioselektivita

FID – plamenný ionizační detektor

GC – plynová chromatografie

MAA – methylacetoacetát

MK – mastná kyselina

[N_{8,222}][Tf₂N] – N-oktyl-triethylammonium bis(trifluoromethylsulfonyl)imid

Q_G – průtok plnu

Q_L – průtok kapaliny

(*R*)-Ru-BINAP – (*R*)-2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-(binaftyl) ruthenium

1. Úvod

Mikrofluidní reaktorové platformy jsou v posledních letech velmi využívanými laboratorními, technologickými i procesními systémy. Postupně se zařazují do přípravy látek v chemických laboratořích, ale i v řadě průmyslových odvětví. Tyto systémy umožňují snadnější převedení vsádkových operací do kontinuálního režimu, zdokonalení a optimalizaci reakčních podmínek, usnadňují výpočty při zvětšování měřítka, usnadňují práci s toxickými nebo jinak nebezpečnými sloučeninami atd. Uplatňují se velmi významně při syntéze chemických specialit. Do této kategorie spadají i studované stereoselektivní hydrogenace prováděné v mikrofluidním čipovém reaktoru s použitím opticky čistého homogenního katalytického komplexu ruthenia. V praktické rovině jsou průtočné mikroreaktorové platformy výhodné pro výrobu látek, které jsou potřebné ve velmi malých množstvích, jsou toxické nebo jinak nebezpečné, případně pro optimalizaci podmínek reakce.

Studovanou transformací byla stereoselektivní hydrogenace ethyl-4-chloroacetoacetátu (opticky neaktivní sloučeniny) vedená na (*R*)-Ru-BINAP za vzniku (*R*)-ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrátu. Produkt reakce je významný intermediát, využívaný k syntéze řady farmakologicky významných sloučenin. Mezi ně patří i L-karnitin, látka která je jedním z nejdůležitějších produktů vycházejících z (*R*)-ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrátu. Tato sloučenina se nachází v buňkách lidského těla, kde se podílí na zpracování mastných kyselin.

Pro nalezení vhodných reakčních podmínek byly připraveny tři reakční směsi ve třech rozdílných rozpouštědlových systémech (methanol/voda, ethanol/voda, iontová kapalina/voda/methanol). U všech směsí byl dodržen stejný molární poměr vody a ECAA (ethyl-4-chloroacetoacetát) a stejná koncentrace (*R*)-Ru-BINAP. Reakce v methanolu byla považována za jakýsi standard, neboť v literatuře jsou dostupná data právě pro tento rozpouštědlový systém (avšak pouze ve vsádkovém uspořádání). Ethanol byl zvolen pro porovnání výsledků s methanolem, z důvodu možné reesterifikace výchozí látky. Iontová kapalina byla vybrána pro ověření možné ochrany katalyzátoru před samovolnou racemizací katalytického komplexu. Reakce byly prováděny při konstantním tlaku a při šesti rozdílných teplotách. U reakcí byl sledován stupeň konverze, složení reakčních směsí a optická čistota žádaného produktu.

2. Cíle práce

Cílem bakalářské práce bylo provést sérii stereoselektivních hydrogenací ethyl-4-chloroacetoacetátu na (*R*)-ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrát s katalytickým Ru-BINAP opticky čistým komplexem za využití mikrofluidního reaktorového systému v různých rozpouštědlových systémech. Reakční podmínky byly důkladně optimalizovány tak, aby reakce probíhaly s vysokým stupněm přeměny a vysokým optickým výtěžkem žádaného produktu.

3. Teoretická část

3.1. L-karnitin

3.1.1. L-karnitin a jeho funkce v organismu

Karnitin (3-hydroxy-4-N,N,N-trimethylaminobutyrate) je látka, která hraje významnou roli v biochemických procesech mnoha živých organismů. Struktura sloučeniny s asymetrickým uhlíkem vypovídá o existenci dvou isomerů, z nichž každý stáčí rovinu polarizovaného světla na opačnou stranu. V přírodě se běžně vyskytuje L-forma, D-forma je pro řadu organismů toxická. Její negativní účinek spočívá v kompetitivní inhibici systému pro transport L-karnitinu do buněk^{1,2}.

L-karnitin se v těle člověka nachází volně v plazmě a v buňkách, kde je důležitý pro transport acylových zbytků mastných kyselin z cytosolu do mitochondrie. Důvodem vzniku tohoto transportního mechanismu je skutečnost, že acyl-CoA vznikající v cytosolu není schopen volně procházet přes mitochondriální membránu. Karnitinový transportér působí následujícím způsobem. Aktivovaný acyl je pomocí enzymu karnitinpalmitoyltransferasy I připojen na hydroxylovou skupinu karnitinu a zároveň dochází k odštěpení CoA. Touto reakcí vznikne ester karnitinu, který je pomocí enzymu karnitinacylkarnitintranslokasy transportován přes membránu mitochondrie do její matrix, prostředí uvnitř vnitřní membrány. Transport acylkarnitinu probíhá jako antiport, kdy dochází k průchodu volného karnitinu z matrix mitochondrie zpět do cytosolu a zároveň je transportován ester karnitinu do vnitřního prostředí mitochondrie. Uvnitř mitochondrie dochází k enzymatické reakci. Vazba karnitin-mastná kyselina je zrušena a vzniká nová vazba mastná kyselina-koenzym A nacházející se v mitochondrii. Celá reakce je katalyzována enzymem, karnitinpalmitoyltransferasou II. Aktivovaná mastná kyselina je dále zpracována β -oxidací a volný karnitin je transportován zpět do cytosolu.³ Další důležitou vlastností karnitinu je schopnost vázat peroxizomální produkty β -oxidace probíhající v peroxizomech a ty následně transportovat do mitochondrií, kde dochází ke zrušení vazby na karnitin a kompletní oxidaci na oxid uhličitý a vodu v Krebsově cyklu⁴.

Karnitin ovšem neslouží pouze k transportu zbytků mastných kyselin do mitochondrie. Jeho funkcí je také odstraňování toxických produktů vzniklých při β -oxidaci. Toxické zbytky se naváží esterovou vazbou na karnitin a jsou transportovány z buňky do krevního řečiště. Krevní řečiště je následně transportuje do ledvin, kde dojde k jejich vyloučení močí. Stejný systém je tělem využíván při poruchách metabolismu, kdy dochází k odstranění špatně

metabolizovatelných acylů pronikajících do buňky, nebo se v buňce tvořících, které jsou navázány na CoA, a tím snižují jeho množství v buňce. Koenzym A je důležitý pro mnoho metabolických drah v buňce, a proto regulace jeho množství pomocí karnitinu je nezanedbatelná².

3.1.2. Deficit L-karnitinu

Nedostatek karnitinu je možné rozdělit na dva základní typy. Prvním je primární nedostatek karnitinu. Toto onemocnění se řadí mezi autosomálně recesivní genetické mutace. Onemocnění se projeví pouze u člověka, jehož rodiče jsou nositeli této genetické mutace a dojde ke spojení obou poškozených alel. Genetická mutace způsobí nedostatečně funkční karnitinový transportér, který je umístěn v membráně buňky. Transportér se nachází převážně v membránách buněk srdce, kosterního svalů, ledvin, lymfoblastů a fibroblastů⁵.

Nedostatečnost transportéru má za následek snížený obsah karnitinu v buňkách a tím sníženou schopnost metabolizovat dlouhé řetězce aminokyselin pomocí β -oxidace, případně zbavení se nemetabolizovatelných řetězců mastných kyselin z buňky. Taktéž dochází ke snížení koncentrace volného karnitinu v plazmě ($<5\mu\text{M}$, normální hodnota je $25\text{-}50\mu\text{M}$). Důvodem je zvýšené vylučování karnitinu ledvinami⁵.

Mezi symptomy primárního nedostatku karnitinu patří kardiomyopatie, oslabení kosterního svalstva a hypoglykemie. Při léčbě se využívá orálního podání karnitinu jako doplňku stravy, a to v takové míře, aby byla udržena hladina karnitinu v plazmě na normální hodnotě. Dále se využívá speciálních diet, kdy je omezen přísun tuků tvořených mastnými kyselinami s dlouhými řetězci a zvýšen přísun sacharidů, aby se předešlo hypoglykemickým stavům⁵⁻⁷.

Druhý typ nedostatku karnitinu je tzv. sekundární nedostatek. Ten může vzniknout jako výživový nedostatek samotného karnitinu nebo jeho prekursorů, či jako druhotný projev jiné nemoci⁸.

Nedostatek karnitinu ze stravy může ohrožovat zejména lidi trpící hladověním, kwashiorkorem (nemoc z akutního nedostatku bílkovin ve stravě) nebo osoby vyznávající vegetariánství jako svůj životní styl. Výskyt karnitinu je převážně omezen právě na maso. V rostlinné stravě se vyskytuje jen velmi zřídka, takže samotná endogenní syntéza nestačí pokrýt celou potřebu².

Jako druhotný projev se vyskytuje zejména u pacientů trpících poruchou ledvin, organickou acidurií. Může se projevit i u pacientů léčených pomocí medikamentů produkujících acylové skupiny. U těchto nemocí je možné nedostatek kompenzovat, případně

mu předcházet podáním karnitinu jako doplňku stravy. Důležité však je zahájit léčbu primárního problému, který vyvolal sekundární deficit karnitinu⁸.

3.1.3. L-karnitin jako lék a doplněk stravy

V současné době je L-karnitin předmětem mnoha vědeckých studií. Ty se snaží popsat jeho působení na organismus člověka postiženého metabolickou poruchou.

Do popředí zájmu se dostal v posledních letech zejména kvůli možnému pozitivnímu účinku na organismus u lidí trpících obezitou. Tato civilizační choroba postihuje značné procento populace. Snahou odborníků je najít lék, po kterém by u pacientů docházelo k úbytku na váze, a to bez drastických chirurgických zákroků, či pohybu, který u některých pacientů není možný. L-karnitin, který se v organismu podílí na transportu mastných kyselin⁹ a zároveň ovlivňuje metabolismus glukózy¹⁰, se jeví jako ideální volba. Studie zaměřené na tento předpoklad tuto teorii zatím nepotvrdily, avšak ani nevyvrátily. U některých zkoumaných pacientů docházelo k většímu úbytku váhy, u jiných nikoliv. Ze studie vyplývá, že u pacientů trpících obezitou, kterým byl podáván L-karnitin společně s dalšími léky na hubnutí, došlo ke značnému úbytku hmotnosti. Naopak při dávkování samotného L-karnitinu nedocházelo u sledované skupiny k výraznějším ztrátám na váze⁹.

Ve výše uvedené studii byli do průzkumu zahrnuti i pacienti trpící obezitou a zároveň další velice závažnou chorobou v podobě diabetu mellitu typu II⁹. Toto onemocnění se vyvíjí postupně, a to jako následek špatné životosprávy. Během této doby dochází ke změnám v receptorech pro transport glukózy do svalu. Tyto změny způsobí, že sval není schopen reagovat na přítomnost inzulínu v krvi a nedochází tak k přenosu glukózy do buněk svalu. Léčba spočívá v dodání inzulínu, snížení inzulínové rezistence a dalších faktorů souvisejících s potížemi způsobenými touto nemocí. L-karnitin by měl při této léčbě napomáhat snížení tělesné hmotnosti a BMI (index tělesné hmotnosti) u pacientů¹⁰. Zde se studie rozcházejí, první výše uvedená studie dokládá kladný vliv L-karnitinu na snížení hmotnosti pacienta trpícího obezitou a zároveň diabetem mellitem typ II. Druhá studie prokázala výhradně kladný účinek L-karnitinu v kombinaci s lékem určeným pro léčbu cukrovky, na snížení inzulínové rezistence a ostatních faktorů. Avšak neprokázala vliv na snížení hmotnosti sledovaných pacientů. Tento efekt byl vyšší než při podání pouze samotného léku^{9,10}.

Další pozitivní vlastností karnitinu jsou jeho antioxidační účinky. Byly pozorovány pozitivní účinky při léčbě pacientů s osteoartritidou¹¹, dále pozitivní účinky na zlepšení mužské plodnosti¹², či účinky při onemocnění zvaném polycystický ovariální syndrom^{10,13}.

3.2. Syntéza L-karnitinu a ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrátu

3.2.1. Syntéza L-karnitinu

L-karnitin je jednou z mnoha farmaceuticky využívaných látek, které obsahují chirální centrum. Při jejich výrobě je zpravidla kladen značný důraz na jejich optickou čistotu. Toto opatření je velice opodstatněné, protože u většiny opticky aktivních sloučenin je pro tělo přínosný pouze jeden enantiomer. Druhý enantiomer může inhibovat požadovaný účinek, nebo může být pro tělo dokonce škodlivý. Tato skutečnost vyvíjí značný tlak na návrh praktické stereoselektivní syntézy, která by měla být ekonomicky výhodná a proveditelná i v průmyslovém měřítku. Dochází tedy k vývoji například různých stereoselektivních katalyzátorů, které indukují převážně tvorbu požadovaného enantiomeru.

Do popředí zájmu se pro produkci ve velkém měřítku dostaly především mikroorganismy. Ty obsahují enzymy schopné katalyzovat stereoselektivní reakce¹⁴⁻¹⁶. Problémem při využívání enzymů je úzká substrátová specifita a závislost enzymu na vnějších podmínkách. Některé enzymy potřebují k přeměně substrátu na produkt přítomnost kofaktoru, který může celou produkci substrátu značně prodražit¹⁷. Jejich hlavní výhodou je nízká zátěž pro životní prostředí, pro jejich funkčnost není třeba využívat žádné kovy, které by se dostávaly do odpadu nebo do produktu reakce. Při syntézách za pomoci enzymů není třeba zajišťovat vysoký tlak nebo teplotu, rozpouštědlem je ve většině případů voda. Velkou výhodou enzymů je možnost napojení jednotlivých reakcí na sebe za použití tzv. enzymových kaskád^{14,15}. Příkladem mikroorganismů využívaných pro tuto syntézu je *Escherichia coli* nebo *Proteus sp.*¹⁶.

Nevýhody enzymově řízených reakcí nechávají prostor pro možnost vývoje syntézy za pomoci anorganických katalyzátorů¹⁸ a komerčně dobře dostupných běžných chemikálií. Byla zkoušena výroba L-karnitinu z glycerolu za pomoci 10-kamphorsulfonamidu, dále výroba z laktonu, kde bylo použito metody záměny funkčních skupin^{19,20}.

3.2.2. Syntéza ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrátu (CHBE)

CHBE je častým intermediátem pro výrobu farmaceuticky zajímavých látek. Mezi tyto látky patří také L-karnitin, (*R*)-4-amino-3-hydroxybutanová kyselina a (*R*)-4-hydroxypyrrolidon. Ve výrobě CHBE dominují metody, kdy se využívá enzymů některých mikroorganismů. Zejména se využívají stereoselektivní hydrogenasy, kde se jako kofaktor vyskytuje NADH (nikotinamidadeninukleotid, redukováná forma). Při těchto reakcích dochází k redukci ketonu na alkohol a dosahuje se vysoké optické selektivity. K získání

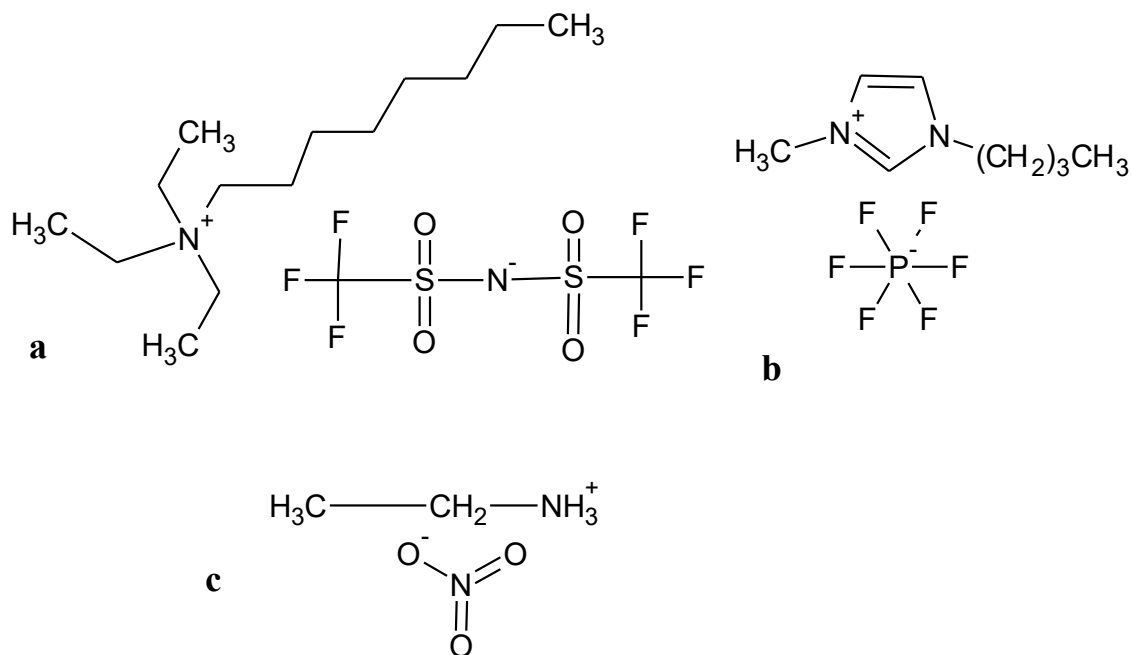
enzymů se využívá několika druhů organismů jako je *Escherichia coli*, *Sporobolomyces salmonicolor*, *Bacillus megaterium*, *Burkholderia gladioli*^{17,21,22}.

Enzymové reakce mají i své nedostatky. Proto jsou navrhovány alternativní přístupy pro výrobu. Jeden z alternativních přístupů je prezentován v této bakalářské práci, kdy je CHBE připravován z běžně dostupné chemikálie ECAA (ethyl-4-chloroacetoacetát). Zvolenou výrobní strategií je asymetrická hydrogenace katalyzovaná chirálním katalyzátorem (*R*)-Ru-BINAP. Další inovací v této metodě je využití iontové kapaliny pro chránění optické čistoty rutheniového komplexu před racemizací. Pro laboratorní účely se jako velmi vhodné dále jeví vedení reakce v průtokovém režimu v mikrofluidním reaktorovém uspořádání²³⁻²⁵.

3.3. Iontové kapaliny

Iontové kapaliny jsou definovány jako organické soli složené z iontů, které mají bod tání zpravidla výrazně pod 100 °C. První zmínky o iontových kapalinách byly zaznamenány již v první polovině dvacátého století. Tyto látky se dnes označují jako iontové kapaliny první generace (Obr. 1). Tyto sloučeniny byly podrobovány různým zkoumáním jejich vlastností, avšak pro jejich nízkou stabilitu a reaktivnost za přítomnosti vzdušné vlhkosti nebyly nakonec širěji využívány²⁶. Přelom nastal ve druhé polovině dvacátého století, kdy byly připraveny iontové kapaliny tzv. druhé generace (Obr. 1). Ty se od první generace iontových kapalin lišily aniontem. V první generaci byly využívány halogenidové nebo tetrahalogenhlinitanové anionty, které byly ve druhé generaci iontových kapalin nahrazeny hexafluorofosfátovým, tetrafluoroborátovým aniontem nebo acetátem, či nitrátem²⁷. Tyto iontové kapaliny vykazovaly stabilitu i za přítomnosti vzdušné vlhkosti, což zjednodušilo přípravu i následnou manipulaci. To vedlo k obecně zvýšenému zájmu o tyto látky a jejich využití i v organické syntéze.

Na počátku nového tisíciletí byly připraveny iontové kapaliny třetí generace (Obr.1). Tyto sloučeniny obsahují ve struktuře kovalentně vázané funkční skupiny, a to buď na aniont nebo kationt nebo na oba dva. Takto navázané funkční skupiny modifikují fyzikální a chemické vlastnosti i reaktivitu dané iontové kapaliny. Proto je možné připravit iontovou kapalinu, která bude mít požadované vlastnosti pro provedení konkrétní reakce, a to buď změnou kationtu nebo změnou aniontu či záměnou některé funkční skupiny²⁸.



Obr. 1 Struktury iontových kapalin

Třetí generace a) N-oktyl-triethylammonium bis(trifluoromethylsulfonyl)imid, druhá generace b) 1-Butyl-3-methylimidazolium hexafluorofosfát, první generace c) Ethylammonium nitrát

3.3.1. Fyzikální a chemické vlastnosti iontových kapalin

Mezi fyzikální vlastnosti iontových kapalin ovlivnitelné změnou ve struktuře iontů, či celé molekuly patří bod tání, bod varu, teplotní stabilita, hustota, polarita, viskozita atd.

Bod tání je možné modifikovat použitím iontu s velkým poloměrem, který stericky brání většímu vzniku vodíkových můstků a tím snižuje kompaktnost uspořádání iontové kapaliny²⁷.

Ovlivnění bodu varu je možné zejména u protických iontových kapalin. Protické iontové kapaliny jsou takové, které jsou vytvořeny přenesením protonu z Brønstedovy kyseliny na Brønstedovu bázi. Ovlivnění spočívá ve výběru použité kyseliny a báze. Důležitým faktorem je rozdíl hodnot pKa. Větší rozdíl v pKa znamená vyšší teplotu varu^{29,30}.

Teplotní stabilita u iontových kapalin záleží na použitém aniontu. Některé druhy aniontů, jako například [Tf₂N] (bis(trifluoromethylsulfonyl)imid), který byl součástí iontové kapaliny používané při reakci ECAA, stabilizují iontovou kapalinu natolik, že podléhá rozkladu až při teplotách nad 350 °C²⁹. Jiné druhy aniontů, zejména u protických iontových kapalin, způsobí nižší rozkladné teploty, které se pohybují mezi 120-360 °C²⁷.

3.3.2. Vybrané typy iontových kapalin

Prvním typem iontových kapalin jsou protické iontové kapaliny, které vznikají přenesením protonu z Brønstedovy kyseliny na Brønstedovu bázi. Vzniklý kationt obsahuje proton, který je schopen tvořit vodíkové vazby. Pomocí vzniku těchto vazeb je možné modifikovat vlastnosti používaných iontových kapalin. Hlavní výhodou je snadná příprava, při které nevznikají žádné nežádoucí vedlejší produkty. Možnou praktickou aplikací protických iontových kapalin jsou palivové články^{27,29}. Zajímavým typem jsou i chirální iontové kapaliny. Zdroj chiralitity může iontové kapalině poskytovat jak aniont, tak kationt nebo oba dva. Chirální iontové kapaliny se využívají při asymetrické syntéze, membránové separaci, ale i v chromatografických a spektroskopických analýzách²⁹. Nejvíce se pro přípravu těchto látek využívají aminokyseliny nebo jejich estery jako kationty a amoniový, imidazolový nebo fosfoniový aniont^{27,29}.

3.3.3. Hydrogenace za přítomnosti iontových kapalin

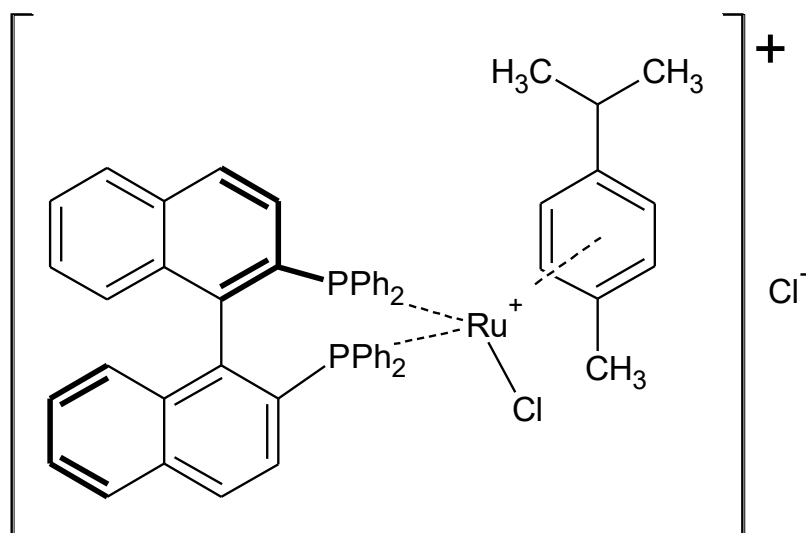
Iontové kapaliny jsou využitelné v mnoha chemických reakcích, jako jsou acidobazické reakce, substituce, eliminace, různé katalyticky podporované reakce a adice. Mezi adice patří i hydrogenace, kdy je adován vodík na dvojnou vazbu výchozí sloučeniny. Právě hydrogenační reakce v prostředí iontové kapalinové rozpouštědlové fáze byla předmětem praktické části této práce³⁰.

Problémem použití iontových kapalin jako rozpouštědel pro hydrogenační reakce byla nízká hodnota rozpustnosti vodíku³¹. Tuto rozpustnost je možné zvýšit přidáním aditiv do iontové kapaliny. Pokud jsou do iontové kapaliny přidána určitá organická rozpouštědla, může dojít ke zvýšení rozpustnosti vodíku, a zároveň ke snížení viskozity a zvýšení volné difúze částic reakční směsi.

Při použití chirálního katalyzátoru mohou vést hydrogenační reakce k opticky aktivním produktům. V důležité publikaci³⁰ jsou popsány možné vlivy iontové kapaliny na homogenní asymetrickou hydrogenaci. Z výsledků plyne, že přítomnost iontové kapaliny zajistí účinnější chránění opticky aktivního komplexu před jeho volnou racemizací. Použití iontové kapaliny také umožňuje recyklaci katalytického systému. Po reakci je možné provést extrakci, kdy do organické fáze přejde produkt a je možné tuto fázi odebrat, zatímco ve fázi s iontovou kapalinou zůstane rozpuštěn katalyzátor. Nedochozí tak k jeho významnějším ztrátám a je možné jej vrátit v aktivní podobě i s rozpouštědlem zpět do reakčního systému³⁰.

3.4. Ru-BINAP (Ru-(*R*)-2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-(binaftyl))

Objev ligandů s katalytickými vlastnostmi byl přelomovým bodem v homogenní asymetrické katalýze. Výzkum byl veden již v šedesátých a sedmdesátých letech minulého století. Průlomem bylo roku 1974 nalezení katalytických vlastností ligandu označovaného jako BINAP (Obr.2).



Obr. 2 Komplex [RuCl(*R*)-BINAP(*p*-cymen)]Cl

Tento ligand, připravený skupinou profesora Noyoriho, znamenal skutečný zlom v oblasti asymetrických hydrogenací^{32,33}. Nejprve byly zkoušeny vlastnosti tohoto ligandu ve spojení s centrálním atomem rhodia. Výsledkem bylo získání produktů, například mentholu, citronellal enaminu³², s vysokým optickým výtěžkem. Následně byl připraven komplex, který spojoval BINAP s rutheniem. Vzniklý komplex vykazoval vysokou katalytickou aktivitu a enantioselektivitu při katalytických asymetrických hydrogenacích³⁴ především v případě β -ketoesterů a podobných sloučenin. Profesor Noyori získal za svůj přínos v roce 2001 Nobelovu cenu. BINAP je syntetizován jak ve formě stáčející rovinu polarizovaného světla doprava (*R*-forma), tak ve formě, která stáčí rovinu polarizovaného světla doleva (*S*-forma)³⁵.

Samotný Ru-BINAP nedosahoval v reakcích s některými substráty požadovaných výsledků, což vedlo k vývoji struktury komplexu koordinačním navázáním různých ligandů na centrální atom ruthenia³². Došlo tak k vývoji derivátů původního komplexu, které umožnily univerzálnější využití tohoto katalyzátoru při asymetrických hydrogenacích^{32-34,36}.

Jako velice efektivní ligandy pro hydrogenaci β -ketosloučenin, γ -ketoesterů a γ -ketoalkoholů se nakonec ukázaly halogeny nebo arény ve spojení s halogeny. Dosahovaná enantioselektivita (*ee*) se pohybovala okolo 90 % u produktů β -ketosloučenin a u produktů hydrogenace γ -ketoesterů a γ -ketoalkoholů dosáhla až 98 % optického výtěžku^{32,33}. Příkladem může být asymetrická hydrogenace methylacetoacetátu (MAA) s vysokou dosaženou enantioselektivitou kolem 99 %³².

3.5. Mikrofluidní reaktorové systémy

Mikrofluidní reaktorové systémy patří do skupiny tzv. mikroreaktorových platforem. Jednou z jejich hlavních oblastí využití jsou technologie pro tzv. fine chemicals, tedy chemicko-inženýrská syntéza speciálních chemikálií. Do této oblasti spadají i mnohé farmaceutické výrobky. Tyto sloučeniny se zpravidla produkují v relativně malých množstvích^{37,38}. Jejich současná výroba je většinou vedena kampaňovitě ve vsádkovém uspořádání. Mikroreaktorové platformy provozované kontinuálně mohou také snížit nutnost skladování výchozích surovin i produktů³⁷. V neposlední řadě jsou zpracovávány objemy mnohem nižší, než je tomu u vsádkového procesu. To snižuje riziko havárie, otravy, ekologickou zátěž atd. Reakce prováděné v těchto systémech mohou dosáhnout takových průtoků a reakčních podmínek, že je možné simulovat kontinuální průmyslovou výrobu a optimalizovat její provedení pouze s minimem použitých chemikálií. U mikroreaktorových aparátů lze parametry reakce zpravidla jednoduše nastavovat, sledovat, řídit. Je možné pružně manipulovat s teplotou, tlakem, průtokem, regulovat množství vyrobené chemikálie apod.^{37,38}, což významně napomáhá při optimalizaci podmínek i při zvětšování procesního měřítka. Významným hlediskem je též minimalizace vlivu transportu hmoty a tepla ve srovnání s velkými aparáty.

Průtočné mikroreaktorové laboratorní platformy se zpravidla skládají ze základní desky sloužící jako podklad pro umístění ostatních dílů. Aparatura se může skládat z jednoho i několika průtočných reaktorů zařazených v sérii nebo paralelně. Na desku je možné umístit různá analytická a procesní čidla. Lze takto snímat teplotu, tlak, průtok, složení reakční směsi atd. Vzhledem k běžně používanému materiálu (vysoce ušlechtilá ocel) jsou jednotlivé díly velice odolné a lze je vystavit teplotám až 200 °C a tlakům do 2 MPa. Speciální reaktory pro katalytické reakce je možné vystavit teplotám až 400 °C. Mikroreaktorové platformy se dnes používají i při fotochemických reakcích³⁷.

3.5.1. Provedení mikrofluidních reaktorových systémů

Mikrofluidní reaktorové systémy jsou samostatným typem průtočné mikroreaktorové platformy. U těchto systémů zaujímá hlavní místo tzv. mikrofluidní čip (reaktor). Tento člen může být tvořen různými materiály, nejčastěji se však využívá sklo nebo křemenné sklo. Mikrofluidní čip je tvořen dvěma destičkami. Do každé z nich je vyleptána polovina průtokového kanálku reaktoru. Tvar na průřezu kanálkem bývá přibližně elipsoidní. Výška a šířka kanálku u nejběžněji využívaných čipů se pohybuje mezi 100 až 200 μm pro výšku a 300 až 500 μm pro šířku. Celkový objem reakčního prostoru u čipů běžně nabízených na trhu se pohybuje od 1 do 30 μl . Firmy obvykle nabízejí celou sadu čipů, které mají shodnou výšku a šířku v průřezu a jejich objem se mění pouze prodloužením či zkrácením reakčního kanálu. Promíchání reakční směsi zajišťují dva statické mixéry, jeden umístěný před reakčním kanálem, druhý za reakčním kanálem před výstupem z čipu. Mixéry jsou tvořeny skleněnými tyčinkami uvnitř kanálku. Jejich „posazení“ umožňuje velice efektivní způsob míchání. Reakční směs vstupuje do čipu přes tzv. vstupní porty. V mikrofluidních čipových reaktorech lze provádět reakce, kdy se mísí kapalina s kapalinou, ale je možné provádět i reakce kapaliny a plynu. Skleněný čip je při reakci umístěn ve vyhřívací jednotce, která zajistí potřebnou teplotu pro danou reakci. K čipu je možné přidat termočlánek, který snímá nastavenou teplotu a řídí zpětnovazebnou regulaci. Vyhřívací jednotka je taktéž vybavena chladícím zařízením, kterým lze rychle snížit teplotu čipu. Skleněný čip je ve vyhřívací jednotce umístěn tak, že je možné ho vystavit i různým druhům záření, například mikrovlnám, UV záření apod. Pokud se do aparatury zapojí zpětný regulátor tlaku, je možné čip využít k reakcím za vyššího tlaku³⁷.

Při reakci kapaliny a plynu v mikrofluidním reaktoru vzniká charakteristický hydrodynamický režim nazývaný Taylorův tok. Taylorův tok v reaktoru nemá obvyklý parabolický profil rychlosti, ale lze jej aproximovat do podoby oddělených pístů kapaliny a plynu proudících kanálkem reaktoru (Obr. 3)³⁹. Každý kapalinový píst se chová jako samostatný reakční oddíl, ve kterém dochází k rovnoměrnému rozložení koncentrací.



Obr. 3 Taylorův tok v mikroreaktoru

4. Experimentální část

4.1 Chemikálie

Pro syntézu ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrátu (CHBE) bylo využíváno rozpouštědel methanolu, ethanolu a vody v kvalitě pro HPLC měření. Chemikálie byly dodány firmou Merck. Iontová kapalina (N-oktyl-triethylammonium bis(trifluoromethylsulfonyl)imid) $[N_{8,222}][Tf_2N]$, též využívaná jako rozpouštědlo, byla dodána společností IoLiTec s deklarovanou čistotou > 98,5 %. Výchozí látka ethyl-4-chloroacetoacetát (ECAA), katalyzátor v podobě (*R*)-Ru-BINAP, a optické isomery 4-chloro-3-hydroxybutyrátu (CHBE), potřebné pro analýzu pomocí plynové chromatografie (GC), byly dodány firmou Sigma-Aldrich. Čistota ECAA byla zaručena z 95 %, u isomerů CHBE byla zaručena optická čistota 97 %. U rutheniového komplexu byla udána optická čistota 99,5 %. Vodík využívaný k reakci byl dodán firmou Linde Gas a.s. v čistotě 99,9 %.

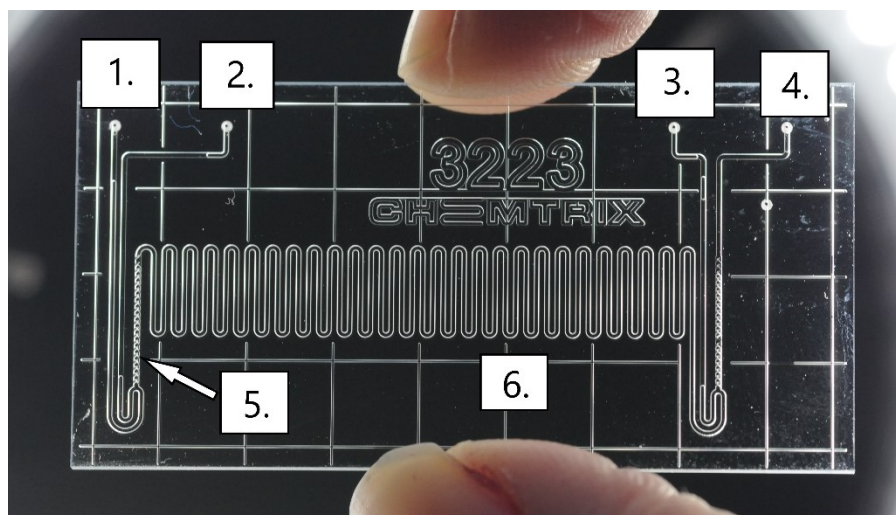
Pro analýzu získaného produktu bylo využito metody plynové chromatografie (GC). Nosným plynem při GC bylo helium dodané firmou Linde Gas a.s. v čistotě 5.0. Při detekci pomocí FID detektoru byly využity plyny vodík (4.0), dusík (4.0) a syntetický vzduch (směs 20 % O₂, 80 % N₂), všechny plyny byly dodány firmou Linde Gas a.s. Jako vnitřní standard byl využit 1-methoxy-4-methylbenzen (4-methylanizol) od firmy Sigma-Aldrich v 99% čistotě. Rozpouštědlem byl diethylether (HiPerSolv CHROMANORM) v čistotě pro HPLC dodaný firmou VWR International s.r.o.

4.2 Popis reakčního uspořádání

Aparatura pro stereoselektivní hydrogenaci v průtokovém mikroreaktoru se skládala z několika komponent. První byl lineární dávkovač (Fusion 200, Chemyx Inc.), do kterého byla vkládána injekční stříkačka (SGE Syringe) s reakční směsí. Stříkačka byla pomocí kapiláry (PEEK, 1/32" x 0,5 mm/ 0,02") propojena s celou obsahující tlakový senzor (M11, WIKA) a teplotní senzor (Pt100). Pomocí kapiláry (PEEK, 1/16" x 1,4 mm) byla kapalinová větev propojena přes zpětnou klapku se vstupem do mikročipu (reaktoru) (Obr. 4) (1), který byl umístěn ve vyhřívací jednotce Labtrix (Chemtrix) připojené k převodníku teploty s kartou na sběr dat. Parametry používaných čipů jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 1 Parametry mikročipů

Typ μ čipu	Objem [μ l]	Šířka [μ m]	Výška [μ m]	Délka [mm]	Průřez [mm^2]	Obvod [μ m]	Povrch [mm^2]
3222	5,0			152			112
3223	10,0	300	120	304	0,033	737	223
3227	19,5			593			437



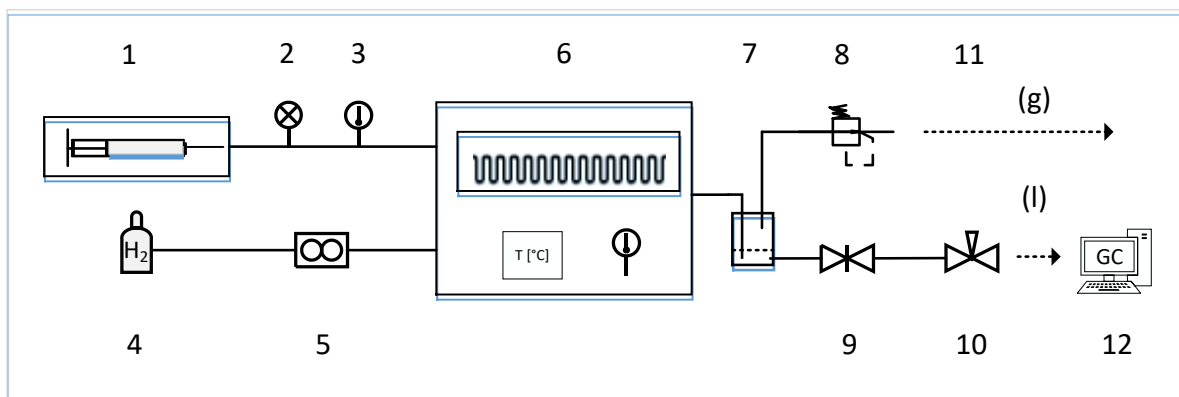
Obr. 4 Mikrofluidní čip (3223)

1 - vstup do mikrofluidního čipu (kapalinová větev), 2 - vstup do mikrofluidního čipu (plynová větev), 3 - vstup pro zhášedlo, 4 - výstup z mikrofluidního čipu, 5 - mixér, 6 - reakční kanál

Druhý vstup (2) do mikrofluidního čipu byl propojen přes zpětnou klapku s plynovou větví napojenou na vodíkovou tlakovou lahev (Obr. 5). Průtok vodíku byl kontrolován pomocí hmotnostního průtokoměru (Bronkhorst).

K výstupu z mikrofluidního čipu (4) byla připojena kapilára vedoucí reakční směs do separátoru (Obr. 5), kde byl plyný vodík oddělen od kapalně fáze. Z aparatury byl vypuštěn pomocí zpětného regulátoru tlaku, nastaveného tak, aby se otevíral při tlaku 2000 kPa a udržoval v aparatuře konstantní tlak vyšší než 2000 kPa.

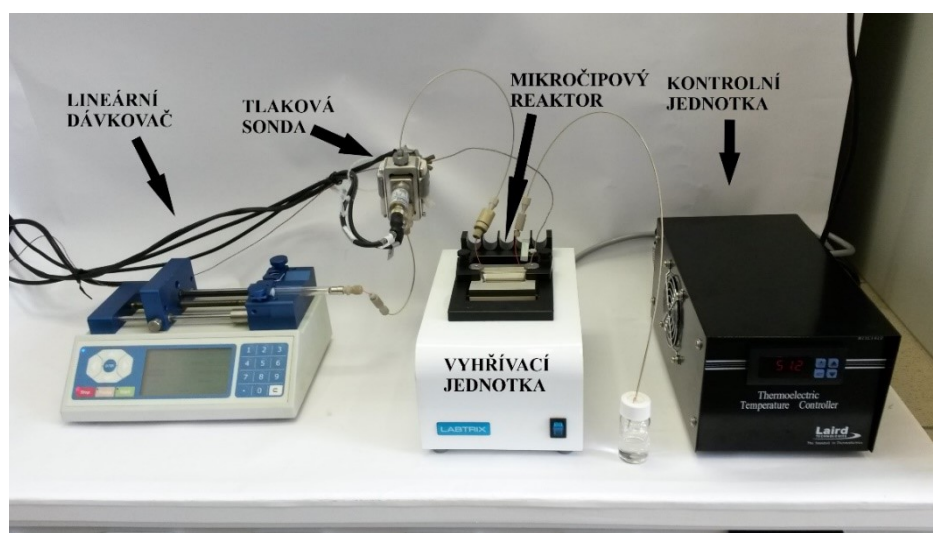
Kapalná fáze se hromadila v separátoru a následně byla vypuštěna do vialky pomocí kulového ventilu připojeného před jehlový ventil. Ten napomáhal k jemné manipulaci regulace odtoku kapaliny tak, aby nedocházelo k výkyvům tlaku větším než 150-200 kPa. Chlazení odebíraného produktu na 5 °C bylo zajištěno kryostatem Huber MiniStat 125. Jednotlivé komponenty aparatury jsou popsány na následujícím schématu (Obr. 5).



Obr. 5 Schéma aparatury pro selektivní hydrogenaci ECAA

1 - lineární dávkovač, 2 - tlaková sonda, 3 - teplotní senzor, 4 - vodíková tlaková lahev, 5 - hmotnostní průtokoměr, 6 - mikrofluidní čipový reaktor, 7 - (g-l) separátor, 8 - zpětný regulátor tlaku, 9 - kulový ventil, 10 - jehlový ventil, 11 - výstup plynu, 12 - GC analýza

Na dalším obrázku (Obr. 6) jsou zachyceny hlavní komponenty aparatury



Obr. 6 Hlavní komponenty aparatury

4.3 Popis hydrogenačního experimentu

Před začátkem pokusu bylo třeba připravit reakční směs. Reakční směs se skládala z výchozí látky ECAA, rutheniového komplexu a binární rozpouštědlové směsi, methanol a ethanol (methanol/voda, ethanol/voda), v případě pokusu s iontovou kapalinou byla využita směs ternární ($[N_{8,222}][Tf_2N]/$ methanol/voda).

4.3.1 Příprava binární/ternární směsi

V prvním kroku bylo připraveno 15 ml binární/ternární směsi. Nejprve byla na analytických vahách zvážena vialka, do které byla směs připravována, její hmotnost byla zaznamenána. Následně byla do vialky, pomocí injekční stříkačky (Hamilton), odvážena voda, poté bylo pomocí pipety přidáno potřebné množství organického rozpouštědla. Přesná hmotnost rozpouštědla na tři desetinná místa byla získána dokapáním rozpouštědla pomocí injekční stříkačky. Roztok byl uzavřen víčkem a promíchán.

Pro přípravu ternární směsi byl využit stejný postup s tím rozdílem, že první váženou sloučeninou byla iontová kapalina, následovala voda a nakonec methanol.

4.3.2 Příprava reakční směsi

Po přípravě binární/ternární směsi byla použita nová vialka, do které byl nejprve odvážen katalyzátor v podobě rutheniového komplexu a následně bylo přidáno odpovídající množství ECAA. K této směsi byl přidán definovaný objem dříve připravené binární/ternární směsi.

Roztok byl uzavřen víčkem a důkladně promíchán.

Tabulka 2 Složení reakčních směsí

		Reaktanty					
		[N _{8,222}][Tf ₂ N]	MeOH	EtOH	H ₂ O	ECAA	Ru-BINAP
	Molární hmotnost [g/mol]	494,6	32,0	46,1	18,0	164,6	928,9
Reakční směs (mol.%)	MeOH	-	82,7	-	10,4	6,9	0,03
	EtOH	-	-	76,8	13,9	9,2	0,04
	[N _{8,222}][Tf ₂ N]	9,2	59,4	-	18,9	12,5	0,05

Prvním krokem před spuštěním pokusu bylo zapnutí kryostatu, jednotky pro nastavení teploty, průtokoměru, osvětlení pro snímání mikrokamerou, lineárního dávkovače a počítače s programem Labview. Tento program zprostředkoval zaznamenání všech dat potřebných k vyhodnocení výsledků a také sledování průběhu reakce. Pro vizuální sledování reakce byla využita digitální kamera nastavená tak, aby snímala vstupy pro jednotlivé suroviny, mixér a 1/3 reakčního kanálku. Posledním krokem bylo zkontrolování ventilů umístěných na konci aparatury, před kapilárou vedoucí do vzorkovací vialky. Oba ventily byly před začátkem pokusu otevřené.

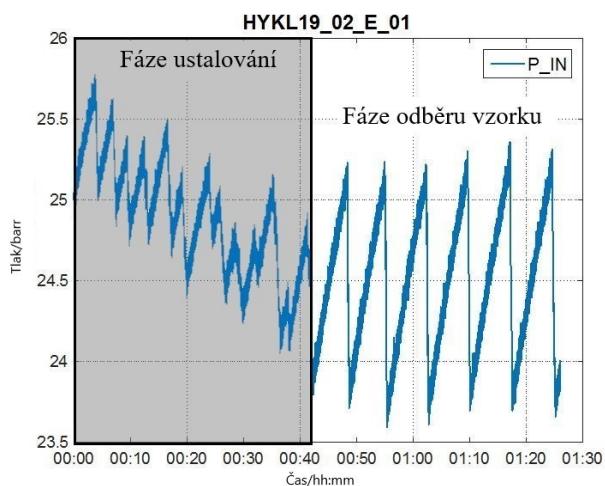
Po spuštění a nastavení všech potřebných přístrojů byla nabrána již připravená reakční směs do skleněné stříkačky. Tato stříkačka byla připevněna ke kapiláře a umístěna do držáku lineárního dávkovače (Obr. 6) (1). Na dávkovači byl nastaven typ a velikost stříkačky,

počáteční objem stříkačky 0,9 ml a průtok aparaturou 0,2 ml/min. Nastavený objem byl zvolen tak, aby zcela naplnil kapalnou větev aparatury před zpětnou klapku. Následně byl snížen průtok kapaliny (Q_L) na 0,05 ml/min a byl spuštěn dávkovač, pomocí mikrokamery byl sledován vstup do čipu, poté co se na vstupu do čipu objevila kapalina, byl dávkovač zastaven. Toto nastavení bylo důležité pro správnou funkci zpětné klapky. Ve chvíli, kdy zpětná klapka nebyla naplněna kapalinou, docházelo k rozložení tlaku v aparatuře až po stříkačku, což mělo za následek špatné tlakování aparatury. Dalším důvodem pro naplněnou zpětnou klapku bylo menší ustoupení kapaliny zpět do stříkačky, a tudíž omezení vzniku rotace a následného podtékání stříkačky.

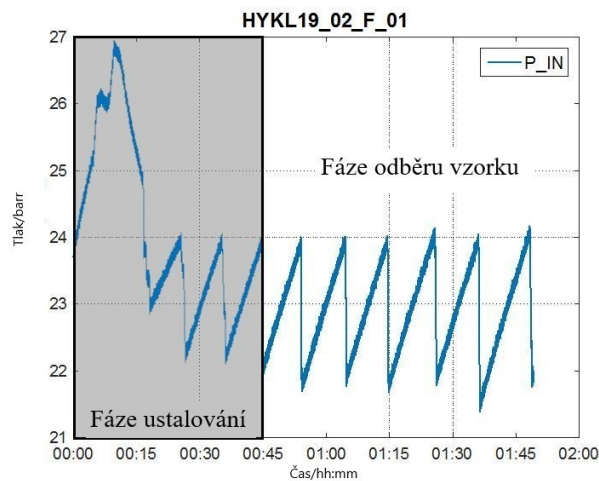
Po naplnění kapalně větve byl nastaven průtok vodíku (Q_G) 0,3 ml/min. Při tomto průtoku byl nastaven jehlový ventil (10) umístěný na konci aparatury. Nastavení ventilu probíhalo následujícím způsobem. Nejprve byla na konec kapiláry za ventilem připevněna vialka s methanolem, která sloužila pro optickou kontrolu průtoku plynu při nastavování. Ventil byl uzavřen, a poté co tlak v aparatuře stoupl na 30 kPa bylo ventilem manipulováno, tak aby došlo k vyrovnání tlaku na požadovaných 30 kPa. Změny tlaku v aparatuře bylo možné sledovat na PC v programu Labview.

Po vyrovnání tlaku byl uzavřen kulový ventil (9), průtok plynu byl zvýšen na 1 ml/min a nastala fáze tlakování aparatury. Průběh tlakování byl sledován na monitoru v programu Labview. Pokud tlak v aparatuře stoupal pravidelně bez výkyvů, tlakování probíhalo správně. Tlakování aparatury bylo ukončeno ve chvíli otevření zpětného regulátoru tlaku (8), tedy zhruba při 2000 kPa. Po otevření regulátoru tlaku byl spuštěn zápis pokusu a snížen průtok plynu na 0,6 ml/min. Průtok plynu byl snižován postupně, aby se předešlo vzniku rázů v aparatuře. Nejprve byl snížen na 0,8 ml/min, následně na 0,6 ml/min. V dalším kroku byl spuštěn lineární dávkovač, a poté co kapalina prošla čipem, byl průtok přenastaven na hodnotu používanou při reakci 0,01 ml/min. Průběh reakce a dvoufázový tok reaktorem (6) bylo možné sledovat pomocí mikrokamery.

V okamžiku, kdy došlo k pravidelnému střídání bublin kapalně a plynné fáze, bylo možné zvýšit teplotu na požadovanou experimentální hodnotu. Experimenty byly vedeny při teplotách 90, 110, 125, 135, 145, 155 °C. Průtoky kapaliny 0,01 ml/min a plynu 0,6 ml/min byl pro všechny teploty zachován stejný. Aparatura byla natlakována, teplota, průtoky plynu a kapaliny byly nastaveny a nastala fáze ustalování, kdy docházelo ke stabilizaci tlaku v aparatuře za průběžného odběru produktu do odpadní vialky.



Obr. 7 Graf fáze ustalování a odběru vzorku při 110 °C



Obr. 8 Graf fáze ustalování a odběru vzorku při 155 °C

Průběh ustalování byl sledován na grafu v PC. Na výše uvedených obrázcích je možné pozorovat rozdíly v ustalování při nízké a vysoké teplotě. Na Obr. 7 lze vidět průběh ustalování probíhajícího při nižší teplotě 110 °C, kdy po otevření regulátoru dochází k pozvolnému poklesu tlaku, až dojde k jeho ustálení mezi dvěma hodnotami. Tyto hodnoty tlaku jsou obvykle vyšší než hodnoty tlaku při vyšších teplotách. Obr. 8 zachycuje průběh ustalování při vyšší teplotě 155 °C. Při takto vysoké teplotě dochází nejprve k přetlakování aparatury, a následně k prudkému poklesu tlaku a jeho vyrovnání mezi dvěma hodnotami. Při ustalování již docházelo k plnění separátoru (7) umístěného před ventily a bylo třeba průběžně odpouštět hromadící se kapalinu přes kulový ventil do odpadní vialky. Při každém odpuštění docházelo ke krátkodobému poklesu tlaku a po uzavření ventilu k následnému stoupání. Rozmezí výkyvů by nemělo být větší než 150-200 kPa. Pravidelné, hladké a rovnoměrné stoupání a prudký pokles tlaku v rozmezí 100-200 kPa bez známek větších výkyvů, ukazuje na ustálený chod aparatury, kdy bylo možné přejít k vlastnímu měření. Po skončení ustalování byla odpadní vialka vyměněna za vialku pro odběr vzorku, ve které byla umístěna 200 μ l skleněná vložka (inert), která zmenšovala celkový objem vialky pro snazší manipulaci se vzorkem při následné analýze.

Pro jednu teplotu (experiment) byly odebírány 3-4 vzorky, asi po 150 μ l. Na každý vzorek byly potřeba 2-3 odběry ze separátoru. Odběr byl prováděn po naplnění přibližně 2/3 objemu separátoru, otevřením kulového ventilu a vyčkáním na pokles hladiny kapaliny v separátoru. Separátor nesměl být zcela naplněn, protože by hrozilo vniknutí kapaliny do zpětného regulátoru tlaku a tím zamezení jeho správné funkce, ani zcela vyprázdňen, kdy by mohlo dojít k odtlakování aparatury. Pokud kapalina špatně odtékala, byl zlehka povolen jehlový ventil. Lehkým poklepem na kulový ventil byly odstraňovány bublinky plynu držící se na stěnách separátoru, které ztěžovaly odběr kapaliny. Mezi jednotlivými odběry byly

vialky s již odebraným vzorkem vloženy do lázně temperované na 5 °C. Po ukončení odběru jednotlivých vzorků byly vialky řádně popsány a umístěny do ledničky. Teplota ledničky byla 5-6 °C.

Po odebrání posledního vzorku byl vypnut zápis v Labview a nastala fáze chlazení aparatury, snížením teploty v několika krocích a zapnutím chlazení na vyhřívací jednotce Labtrix (Chemtrix). Teplota aparatury byla snížena pod 60 °C, to znamená pod teplotu varu použitého rozpouštědla. Teprve po ochlazení aparatury bylo možné provést odtlakování otevřením kulového ventilu a jímáním zbytku reakční směsi do odpadní vialky. Pokud tlak neklesl až na nulu, bylo nutné více otevřít i ventil jehlový. Po odtlakování byl zastaven dávkovač dávkující kapalinu a průtok plynu snížen na 0,3 ml/min. Stříkačka se surovinou byla vyměněna za stříkačku s rozpouštědlem pro důkladné vymytí aparatury od zbytků reakční směsi a produktu. Krok promývání byl nejméně třikrát zopakován. U posledního promytí byl opakovaně uzavřen kulový ventil a tím byl alespoň třikrát promyt i separátor. Následně byla aparatura vysušena zbytkovým vodíkem ve vedení plynné fáze.

4.4. Analytické stanovení

Pro analytické stanovení reakční směsi byla využita metoda plynové chromatografie. Analýza byla vedena na přístroji Trace GC 1310 (Termo Scientific GC) s automatickým dávkovačem (TRIPLUS 100). Používanou kolonou byla RTX 50 (RESTEK) s 50% obsahem fenyln-methylsiloxanu. Délka kolony byla 60 m s průměrem 0,25 mm a tloušťkou stacionární fáze 0,25 μm.

Pro přípravu vzorku k analýze bylo použito rozpouštědlo diethylether s retenčním časem 3,12 min, do kterého byla přidána 2 % hm. vnitřního standardu. Jako vnitřní standard byl zvolen 4-methylanizol, který eluoval před stanovovaným vzorkem, v oblasti bez odezvy reakční směsi a na zvolené koloně vykazoval ostrý a symetrický pík. Retenční čas vnitřního standardu činil 6,51 min. Touto směsí rozpouštědla a vnitřního standardu byl naředěn vzorek v poměru 1:25.

Před samotnou analýzou byla provedena kalibrace metody na čistý ECAA a na produkt (*R*)-CHBE. Retenční časy kalibračních roztoků činily 10,51 minut pro ECAA a 10,67 min pro (*R*)-CHBE.

Po optimalizaci metody byl zvolen program, který zahrnoval teplotu pece 120 °C po dobu deseti minut a následný gradient po 8 °C na 250 °C po dobu taktéž 10 minut. Stanovovaný analyt eluoval již v oblasti izotermické rampy, a následný gradient byl zvolen pro případné vymytí vysokovroucích složek směsi, které by mohly vzniknout. Nosným

plynem bylo zvoleno helium o průtoku 1,5 ml/min. Teplota injektoru činila 250 °C a poměr splitu byl 1:50, průtok plynu pro očištění septa byl nastaven na 5 ml/min. Retenční čas produktu činil 10,65 minut. Mrtvý čas kolony byl 3,1 minut.

Pro analýzu byl využit FID detektor s nastavenou teplotou 250 °C, plyny vodík s průtokem 35 ml/min a syntetický vzduch o průtoku 350 ml/min. Pro zabránění rozšiřování píků bylo využito dusíku o průtoku 40 ml/min. Průtoky daných plynů byly stanoveny při optimalizaci používané metody.

Pro získání zpracovatelných dat bylo využito metody vnitřního standardu. Podstatou této metody je přidání vnitřního standardu o známé koncentraci k analyzovanému vzorku. Vnitřní standard se ke vzorku přidává před samotnou analýzou. Po dokončení analýzy je možné přímo porovnat plochy píků analytu a standardu. U této metody není třeba dodržovat přesné dávkování vzorku. Výhodou je, že celá analýza vzorků proběhne v jediném nástřiku, a tudíž jsou výsledky ihned vhodné ke zpracování. Důležité je, aby standard eluoval v blízkosti stanovované látky, a zároveň aby byly píky od sebe dostatečně odděleny. Pro zjištění koncentrací stanovované látky bylo využito následujícího vzorce:

$$c_i = R_{IS} \cdot \frac{V_S}{V_i} \cdot \frac{A_i}{A_S} \cdot c_S$$

c_i ...koncentrace stanovovaného analytu [mol/dm³]

R_{IS} ...relativní odezva detektoru stanovované látky vůči vnitřnímu standardu [-]

V_S ...objem vnitřního standardu [m³]

V_i ...objem stanovovaného analytu [m³]

A_S ...plocha píku vnitřního standardu [pA·s]

A_i ...plocha píku stanovovaného analytu [pA·s]

c_S ...koncentrace vnitřního standardu [mol/dm³]

Vypočítané koncentrace byly dále použity k výpočtu stupně konverze, který byl konečným ukazatelem pro porovnání úspěšnosti provedené reakce. K výpočtu stupně konverze byl využit níže uvedený vzorec.

$$X_i = \frac{c_i}{c_i + c_{VL}}$$

c_i ...koncentrace stanovovaného analytu [mol/dm³]

X_i ...stupeň konverze stanovované látky [-]

c_{VL} ...koncentrace výchozí látky [mol/dm³]

5. Výsledky a diskuse

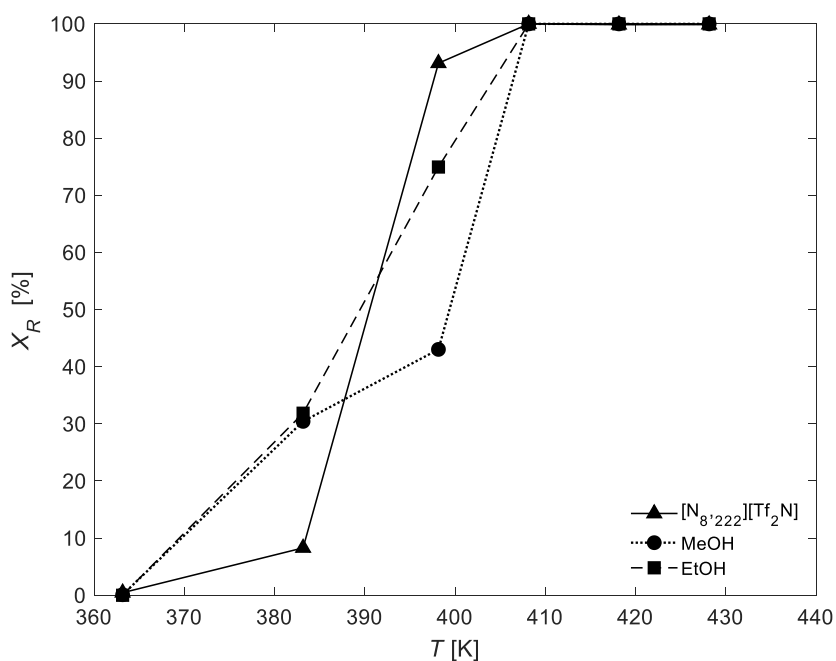
V experimentální části bylo popsáno praktické provedení stereoselektivních hydrogenačních reakcí ECAA na optické isomery CHBE s využitím chirálního Ru-BINAP katalyzátoru. Hydrogenační reakce byly studovány ve třech různých rozpouštědlových systémech. V jednotlivých systémech bylo využíváno organických rozpouštědel methanolu, ethanolu a specifické iontové kapaliny $[N_{8,222}][Tf_2N]$. Do všech rozpouštědlových systémů byla přidávána v předem optimalizovaném množství voda. Její role spočívá v omezení vzniku acetalů vedlejší reakcí⁴⁰. Tvorba acetalů je kysele katalyzovaná nukleofilní adice alkoholu na karbonylovou skupinu. Reakce je vratná a její rovnováhu lze ovlivnit pomocí reakčních podmínek. Po přidání vody do reakčního systému dojde k posunu rovnováhy ve prospěch karbonylové sloučeniny. Voda rovněž přispívá k polárnímu charakteru rozpouštědlové fáze. Tato skutečnost je významná především u reakčních systémů s využitím specifické iontové kapaliny s dlouhým alkylovým postranním řetězcem.

První skupina reakcí byla vedena v systému obsahujícím methanol a vodu. Pro druhou skupinu reakcí bylo využito rozpouštědlové směsi ethanol/voda. Experimenty s tímto systémem byly prováděny pro ověření možné reesterifikace ethylového zbytku u ECAA při použití methanolu. Třetím zkoumaným rozpouštědlovým systémem byla ternární směs obsahující iontovou kapalinu $[N_{8,222}][Tf_2N]$, methanol a vodu. Tento systém byl zkoumán zejména vzhledem k možné roli iontové kapaliny při chránění chiralitě rutheniového katalyzátoru.

Obr. 9 zobrazuje závislost stupně konverze (X_R) ECAA na reakční teplotě. Křivky v grafu zobrazují jednotlivé série experimentů pro daný rozpouštědlový systém. Rozdíly mezi systémy jsou patrné zejména při nižších konverzích. Pro systémy methanol/voda a iontová kapalina/methanol/voda je možné pozorovat tzv. indukční periodu. Ta je charakterizována počátečním mírným nárůstem stupně konverze až po inflexní bod, kdy dojde ke zlomu a hodnoty konverzí začnou strmě stoupat. U systému s iontovou kapalinou je možné inflexní bod dobře pozorovat. U systému, který obsahuje methanol a vodu je nárůst vyšší a inflexní bod není tak znatelný. U rozpouštědlové směsi ethanol/voda je nárůst konverze téměř lineární až po dosažení stoprocentní konverze. Je zřejmé, že tyto skutečnosti souvisejí s poskytnutím odpovídajícího množství aktivační energie reakci.

Rozdíly v grafu (Obr. 9) pravděpodobně souvisejí s poskytnutím odpovídajícího množství aktivační energie reakci a lze je interpretovat rozdílným podílem parciálních reakčních kroků, které přispívají k reakci celkové. Všechny experimenty byly prováděny

za použití Ru-BINAP katalyzátoru. Vznik koordinační vazby reaktantů na centrální atom a její zánik probíhá bezpochyby v sérii na sebe navazujících kroků⁴¹. Každý z těchto kroků vyžaduje určité množství aktivační energie. Pokud je například využita v systému iontová kapalina, je průběh reakce odlišný než pro systém methanol/voda. U všech systémů pozorujeme okolo 408 K k dosažení maximální konverze. Existence úzkého rozmezí teplot, při kterých dochází k výrazné změně konverze, může být prisuzována relativně vysokým hodnotám zdánlivé aktivační energie. Nutno zde také připomenout, že hydrogenace se řadí mezi reakce exotermické. Proto je z termodynamických důvodů výhodnější pracovat při nižších teplotách. Ty však, jak vyplývá z grafu na Obr. 9, nemusí být ještě dostatečné z hlediska poskytované energie pro překonání bariéry tvořené aktivační energií.



**Obr. 9 Graf závislosti stupně konverze na reakční teplotě pro ECAA ve třech různých rozpouštědlových systémech (mikročip 3223, $Q_L = 0,01$ ml/min, $Q_G = 0,6$ ml/min)
 Q_L -průtok kapaliny, Q_G -průtok plynu**

Graf na Obr. 9 byl následně využit pro určení zdánlivých aktivačních energií jednotlivých reakčních systémů. Z rovnice kinetiky prvního řádu byla vyjádřena rychlostní konstanta, která byla následně využita pro určení aktivační energie pomocí Arrheniovy rovnice.

$$v_{ECAA} = k^* \cdot c_{ECAA}$$

$$-\frac{dc_{ECAA}}{dt} = k^* \cdot c_{ECAA}$$

$$\int_{c_{ECAA,0}}^{c_{ECAA}} \frac{dc_{ECAA}}{c_{ECAA}} = - \int_0^t k^* dt$$

$$\ln \frac{c_{ECAA}}{c_{ECAA,0}} = -k^* t$$

v_{ECAA} ...reakční rychlost [mol/dm³·s]

c_{ECAA} ...okamžitá koncentrace ECAA [mol/dm³]

$c_{ECAA,0}$...počáteční koncentrace ECAA [mol/dm³]

k^* ... zdánlivá kinetická konstanta [s⁻¹]

t ... reakční čas [s]

K vypočítání rychlostní konstanty bylo využito experimentálních dat konverze, získaného při analytickém stanovení, a hydrodynamické doby zdržení.

$$1 - X_{ECAA} = e^{-k^* t}$$

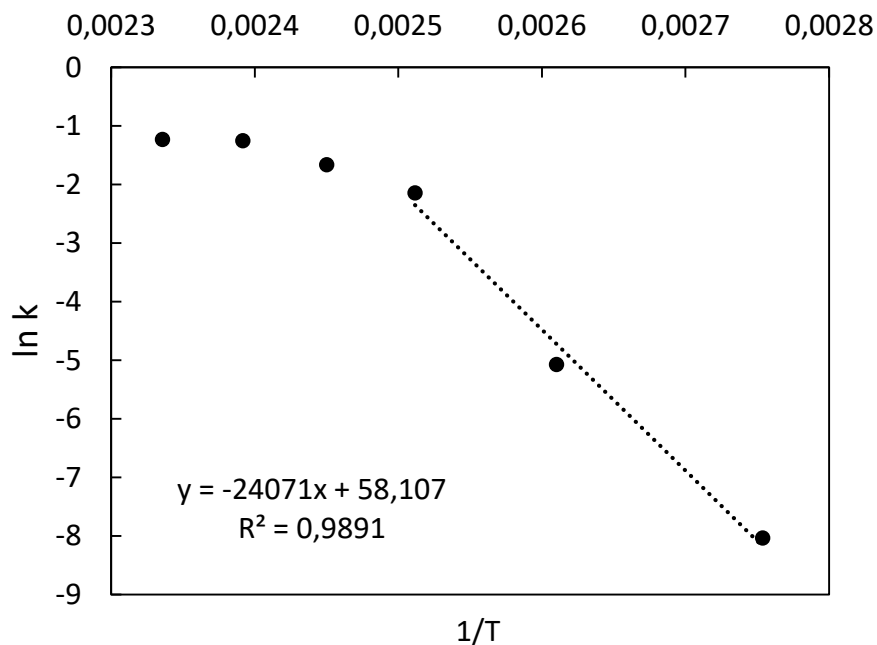
$$k^* = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{1}{1 - X_{ECAA}}$$

X_{ECAA} ...stupeň konverze pro ECAA [-]

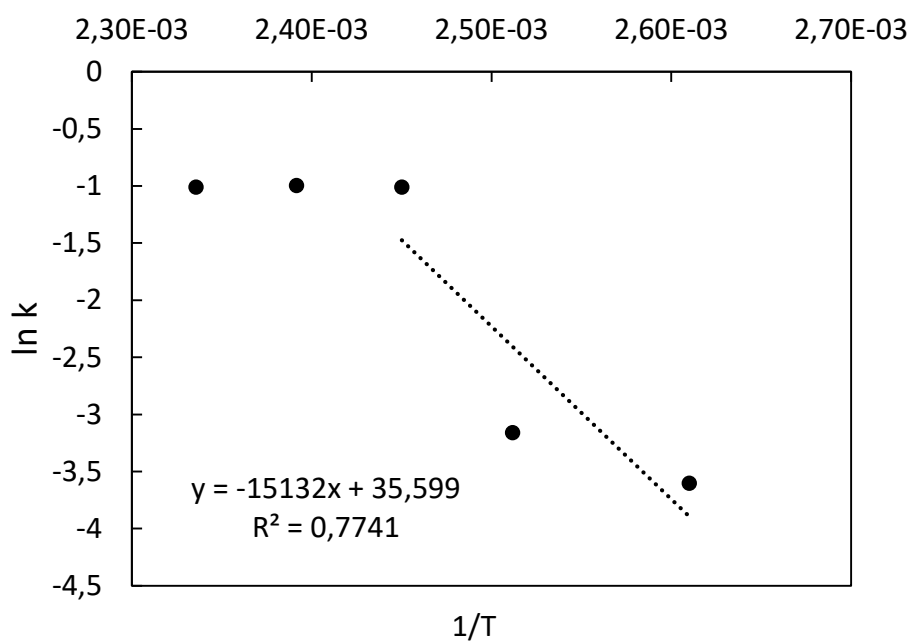
k^* ... zdánlivá kinetická konstanta [s⁻¹]

t ... reakční čas [s]

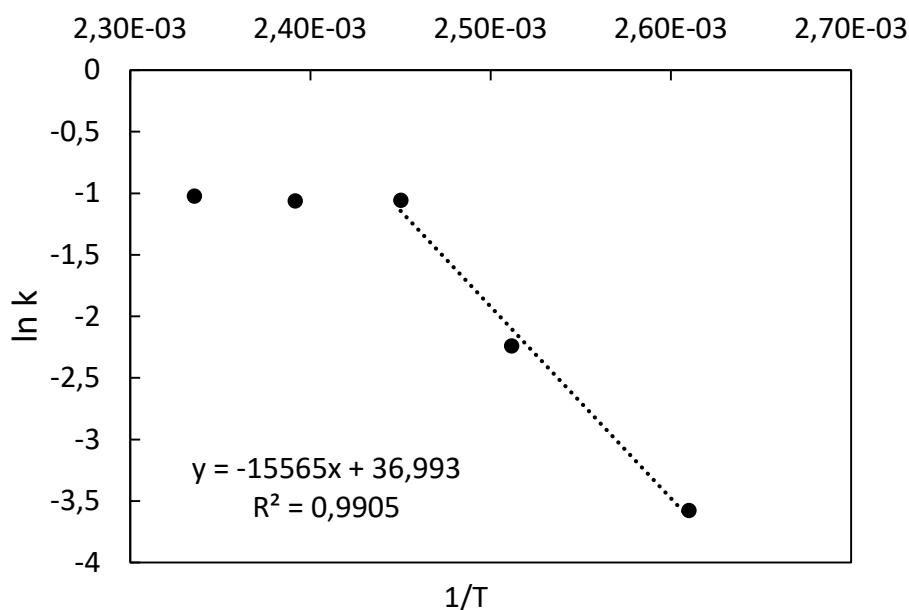
Z výsledných hodnot rychlostní konstanty a převrácené hodnoty experimentální teploty byly sestrojeny grafy pro jednotlivé rozpouštědlové systémy.



Obr. 10 Graf závislosti přirozeného logaritmu rychlostní konstanty na reciproké hodnotě teploty pro rozpouštědlový systém $[N_{8,222}][Tf_2N]/MeOH/H_2O$



Obr. 11 Graf závislosti přirozeného logaritmu rychlostní konstanty na reciproké hodnotě teploty pro rozpouštědlový systém $MeOH/H_2O$



Obr. 12 Graf závislosti přirozeného logaritmu rychlostní konstanty na reciproké hodnotě teploty pro rozpouštědlový systém EtOH/H₂O

Na grafech na Obr. 10 až 12 je možné pozorovat dvě přibližně lineární oblasti, každá s odlišnou směrnici. „Horní oblast“ souvisí s dosažením vysokých stupňů přeměny, kdy se konverze s reakční dobou již téměř nemění. Rychlostní konstanta s teplotou dále neroste. Z hlediska chemické rovnováhy se zde již začíná uplatňovat i zpětná reakce. Z rovnic spojnic trendu daných grafů („dolní oblast“) bylo možné vypočítat hodnoty zdánlivých aktivačních energií jednotlivých systémů a hodnoty předexponenciálních faktorů.

$$k^* = A \cdot e^{-\frac{E_A}{R \cdot T}}$$

$$\ln k^* = \ln A \cdot \left(-\frac{E_A}{RT}\right)$$

E_A ...aktivační energie [J/mol]

k^* ... zdánlivá rychlostní konstanta [s^{-1}]

A ... předexponenciální faktor [s^{-1}]

T ...reakční teplota [K]

R ...univerzální plynová konstanta [8,314 J/K·mol]

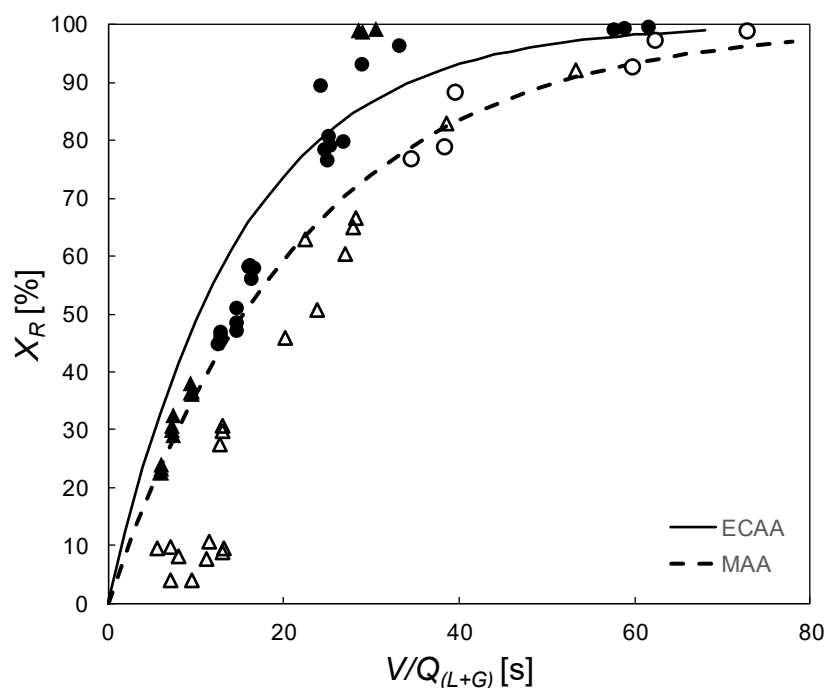
Vypočítané hodnoty aktivačních energií jsou uvedeny v tabulce č. 3. Výsledky jsou doplněny o hodnotu pro methylacetoacetát (MAA) v rozpouštědlové směsi [N_{8,222}][Tf₂N]/MeOH/H₂O. Tato hodnota byla získána z předcházejících experimentů.

Tabulka 3 Hodnoty aktivačních energií pro jednotlivé reakční systémy s ECAA a MAA

Výchozí látka	Rozpouštědlový systém	Aktivační energie E_A [kJ/mol]	Předexponenciální faktor A [s^{-1}]
ECAA	[N _{8,222}][Tf ₂ N]/MeOH/voda	200,1	$1,7 \cdot 10^{25}$
	MeOH/voda	125,8	$2,9 \cdot 10^{15}$
	EtOH/voda	129,4	$1,2 \cdot 10^{16}$
MAA	[N _{8,222}][Tf ₂ N]/MeOH/voda	199,9	$6,2 \cdot 10^{27}$

Z tabulky vyplývá, že hodnoty aktivačních energií jsou v rámci experimentální chyby téměř shodné pro rozpouštědlové systémy methanol/voda a ethanol/voda. Při použití iontové kapaliny v rozpouštědle spolu s vodou a alkoholem (MeOH) je hodnota aktivační energie výrazně vyšší, a to jak pro reakci s ECAA, tak s MAA. Hodnoty aktivačních energií jsou stejné (200 kJ/mol). Vliv odlišné chemické struktury výchozí látky zdá se být minimální. Naopak jako dominantní se jeví přítomnost iontové kapaliny. Tato skutečnost pravděpodobně souvisí, jak již bylo dříve uvedeno, se složitou koordinací IL na Ru v katalytickém komplexu v řadě parciálních reakčních kroků.

Obr. 13 ukazuje porovnání experimentů s ECAA a s methylacetoacetátem (MAA) jako výchozími látkami ve formě závislosti stupně konverze na hydrodynamické době zdržení.



Obr. 13 Graf závislosti stupně konverze na hydrodynamické době zdržení pro pokusy s ECAA a MAA ($T = 418$ K, [N_{8,222}][Tf₂N]/MeOH/H₂O), mikročip 3223 (●,○), a 3222 (▲,△).

Na ose y je vynesena stupeň konverze, osa x znázorňuje reakční čas, vyjádřený pomocí hydrodynamické doby zdržení. Pro výpočet hydrodynamické doby zdržení bylo využito poměru vnitřního objemu mikročipu (V) a součtu objemu průtoku plynu a kapaliny ($Q_{(L+G)}$).

$$t = \frac{V}{Q_{(L+G)}}$$

t ...hydrodynamická doba zdržení [s]

V ...vnitřní objem mikročipu [m^3]

$Q_{(L+G)}$...objem průtoku plynu a kapaliny [m^3/s]

Objem průtoku kapaliny byl pro všechny experimenty stejný. Do objemu průtoku plynu bylo nutné zahrnout jeho spotřebu při reakci a tlak, při kterém byla reakce vedena.

$$Q_G = Q_{G,IN} - Q_{G,SP}$$

Q_G ...průtok plynu (za provozních podmínek) [m^3/s]

$Q_{G,IN}$...objemový průtok plynu na vstupu [m^3/s]

$Q_{G,SP}$...objemový průtok spotřebovaného plynu [m^3/s]

Pro výpočet objemového průtoku plynu na vstupu při pracovním tlaku (2000 kPa) využijeme dat získaných z hmotnostního průtokoměru.

$$Q_{G,IN} = \frac{p_{st} \cdot Q_{G,Bro}}{p_{prac}}$$

$Q_{G,IN}$...objemový průtok plynu na vstupu [m^3/s]

p_{st} ...standardní tlak [101325 Pa]

$Q_{G,Bro}$...objem plynu při normálních podmínkách (273 K; 101325 Pa), měřené hmotnostním průtokoměrem [m^3/s]

p_{prac} ...tlak experimentu [Pa]

Hmotnostní průtokoměr pracuje na principu měření tepla, které je potřeba pro ohřátí plynu procházejícího definovaným úsekem v průtokoměru. Dále zaznamená teplotu plynu na vstupu do definovaného úseku a na jeho výstupu. Ze zjištěných dat a dané tepelné kapacity přístroj vypočítá hmotnostní průtok plynu a následně přepočte na objemový průtok při normálních podmínkách (273 K; 101325 Pa). Pomocí stavové rovnice ideálního plynu je možné přepočítat objemový průtok na teplotu a tlak používané při experimentu.

$$Q_{G,Bro} = \frac{\dot{m} \cdot R \cdot T}{M \cdot p_{st}}$$

$Q_{G,Br0}$...objem plynu při normálních podmínkách (273 K; 101325 Pa), měřené hmotnostním průtokoměrem [m^3/s]

\dot{m} ...hmotnostní průtok plynu [kg/s]

R ...univerzální plynová konstanta [$8,314 J/K \cdot mol$]

T ...normální teplota [$273 K$]

M ...molární hmotnost [kg/mol]

p_{st} ...standardní tlak [$101325 Pa$]

Následující vzorec uvádí výpočet hmotnostního průtoku plynu pomocí předaného tepla a rozdílu teplot měřeného hmotnostním průtokoměrem.

$$\dot{m} = \frac{Q}{c_p \cdot \Delta T}$$

\dot{m} ...hmotnostní průtok plynu [kg/s]

Q ...teplo potřebné pro ohřátí plynu [J]

c_p ...měrná tepelná kapacita [$J/kg \cdot K$]

ΔT ...rozdíl teplot na vstupu a výstupu [K]

Konečný vzorec pro výpočet objemu plynu při experimentálních podmínkách.

$$Q_{G,IN} = \frac{Q \cdot R \cdot T}{c_p \cdot \Delta T \cdot M \cdot p_{prac}}$$

Pro výpočet spotřebovaného vodíku při reakci bylo využito molárního toku a stupně konverze výchozí látky.

$$Q_{G,SP} = \frac{F_{ECAA} \cdot X_{ECAA} \cdot R \cdot T}{p_{prac}}$$

$Q_{G,SP}$...objemový průtok spotřebovaného plynu [m^3/s]

F_{ECAA} ...molární tok výchozí látky [mol/s]

X_{ECAA} ...stupeň konverze výchozí látky [-]

R ...univerzální plynová konstanta [$8,314 J/K \cdot mol$]

T ...normální teplota [$273 K$]

p_{prac} ...tlak experimentu [Pa]

Konečný vzorec pro výpočet objemu průtoku plynu při experimentálních podmínkách:

$$Q_G = \frac{R \cdot T}{p_{prac}} \cdot \left(\frac{Q}{c_p \cdot \Delta T \cdot M} - F_{ECAA} \cdot X_{ECAA} \right)$$

Kinetickou charakteristikou chemické reakce je její rychlostní konstanta. Pro hydrogenační reakce se nejčastěji užívá jednoduchá mocninová kinetika a zpravidla platí kinetika prvního řádu. Tento předpoklad byl zvolen i pro hydrogenaci ECAA a MAA. Při formulaci bilanční rovnice použitého trubkového reaktoru byla nahrazena délková souřadnice hydrodynamickou dobou zdržení, a proto bylo možné bilancovat použitý reaktor jako vsádkový, kde t je reakční čas. Z bilance a rychlostní rovnice prvního řádu byl odvozen vztah pro stupeň konverze.

$$v_{ECAA} = k^* \cdot c_{ECAA}$$

$$-\frac{dc_{ECAA}}{dt} = k^* \cdot c_{ECAA}$$

$$\int_{c_{ECAA,0}}^{c_{ECAA}} \frac{dc_{ECAA}}{c_{ECAA}} = - \int_0^t k^* dt$$

$$\ln \frac{c_{ECAA}}{c_{ECAA,0}} = -k^* t$$

v_{ECAA} ...reakční rychlost [$\text{mol}/\text{dm}^3 \cdot \text{s}$]

c_{ECAA} ...okamžitá koncentrace ECAA [mol/dm^3]

$c_{ECAA,0}$...počáteční koncentrace ECAA [mol/dm^3]

k^* ... zdánlivá kinetická konstanta [s^{-1}]

t ... reakční čas [s]

Do zlogaritmované rovnice byl místo koncentrací dosazen stupeň konverze podle následujících vztahů:

$$X_{ECAA} = \frac{n_{ECAA,0} - n_{ECAA}}{n_{ECAA,0}}$$

X_{ECAA} ...stupeň konverze pro ECAA [-]

n_{ECAA} ...okamžitá koncentrace ECAA [mol]

$n_{ECAA,0}$... počáteční koncentrace ECAA [mol]

Látkové množství ve vzorci je možné nahradit koncentrací, protože objem látky je pro výchozí i konečnou látku stejný.

$$X_{ECAA} = \frac{c_{ECAA,0} - c_{ECAA}}{c_{ECAA,0}}$$

X_{ECAA} ...*stupeň konverze pro ECAA [-]*

c_{ECAA} ...*okamžitá koncentrace ECAA [mol/dm³]*

$c_{ECAA,0}$...*počáteční koncentrace ECAA [mol/dm³]*

Ze vzorce byla vyjádřena okamžitá koncentrace a ta byla dosazena do zlogaritmované rychlostní rovnice

$$\ln \frac{c_{ECAA,0}(1 - X_{ECAA})}{c_{ECAA,0}} = -k^*t$$

Rovnicí po úpravách (zkrácení počáteční koncentrace a odlogaritmování) bylo možné vyjádřit stupeň konverze.

$$1 - X_{ECAA} = e^{-k^*t}$$

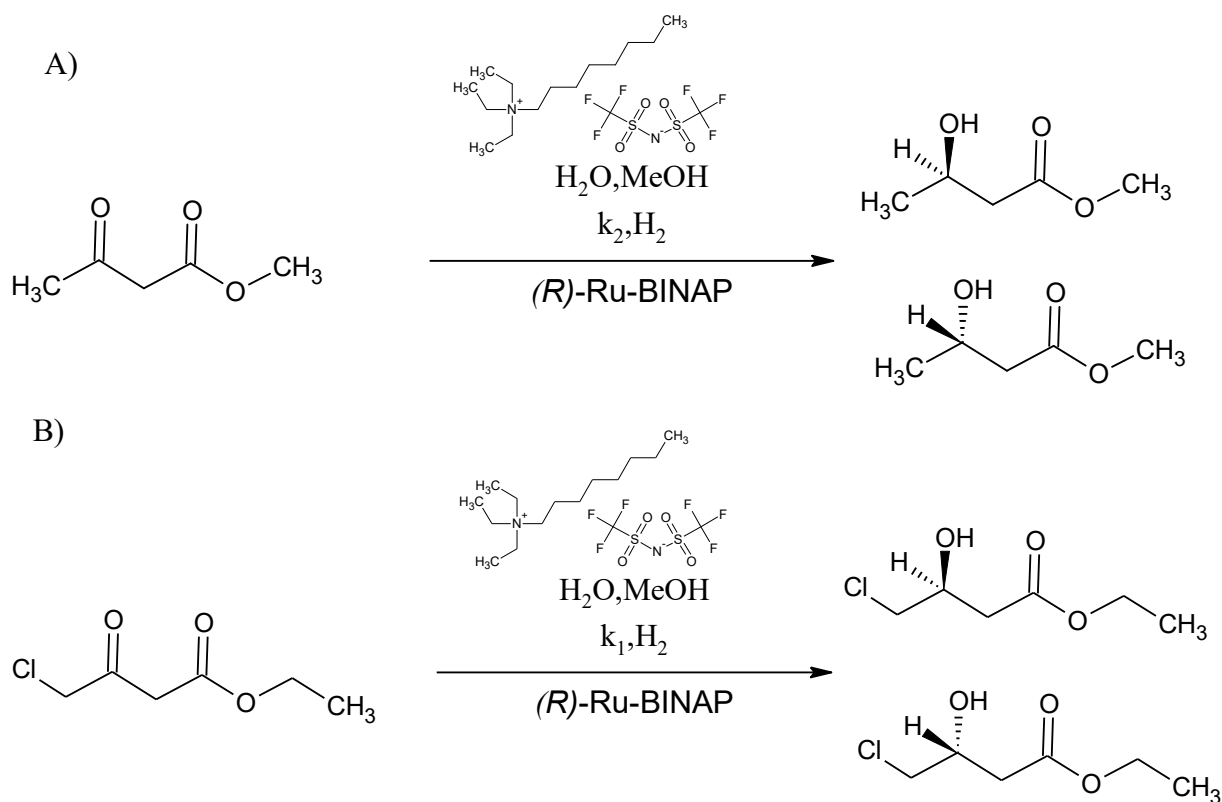
$$X_{ECAA} = 100 \cdot (1 - e^{-k^*t})$$

X_{ECAA} ...*stupeň konverze pro ECAA [-]*

k^* ... *zdánlivá kinetická konstanta [s⁻¹]*

t ... *reakční čas [s]*

Výše uvedené rovnice tvořily matematický model, pomocí kterého byla vyhodnocena oprávněnost předpokladu kinetiky prvního řádu. Jednotlivé experimentální body byly vyneseny do grafu na Obr. 13 a aproximovány exponenciální funkcí. Získané výsledky potvrdily výše uvedený předpoklad. Z grafu byly odečteny hodnoty stupně konverze a hydrodynamické doby zdržení při teplotě 418 K, které byly následně využity pro určení hodnot zdánlivých rychlostních konstant. Pro hydrogenaci ECAA (schéma na Obr.14A) byla určena $k^* = 0,067 \text{ s}^{-1}$ pro $T=398 \text{ K}$ a rozpouštědlový systém $[\text{N}_{8,222}][\text{Tf}_2\text{N}]/\text{MeOH}/\text{voda}$. Pro MAA (schéma na Obr.14B) byla za jinak shodných podmínek nalezena hodnota zdánlivé rychlostní konstanty $k^* = 0,045 \text{ s}^{-1}$. Hydrogenace ECAA probíhala tedy rychleji, nežli tomu bylo v případě MAA.



Obr. 14 Schéma stereoselektivní hydrogenace A) ECAA a B) MAA

Jak již bylo uvedeno, maximální konverze byla dosažena ve všech sledovaných rozpouštědlových systémech při velmi podobné teplotě (přibližně 408 K). Určité rozdíly však byly nalezeny analýzou reakčních produktů. Pro systém, který obsahoval iontovou kapalinu chránící Ru-komplex před racemizací, byla zjištěna hodnota enantioselektivity (*ee*) 99,4 %. Vzhledem k optické čistotě použitého Ru-BINAP, která činila 99,5 % (*R* isomer), lze tento výsledek považovat za velice příznivý. Pro zbývající dva systémy byly zjištěny enantioselektivity nižší. Pro systém methanol/voda byl zjištěn parametr *ee* o hodnotě 93,5 %, pro ethanol/voda byla enantioselektivita 93,8 %. Optická čistota výtěžku potvrzuje předpokládaný pozitivní vliv iontové kapaliny na Ru-komplex.

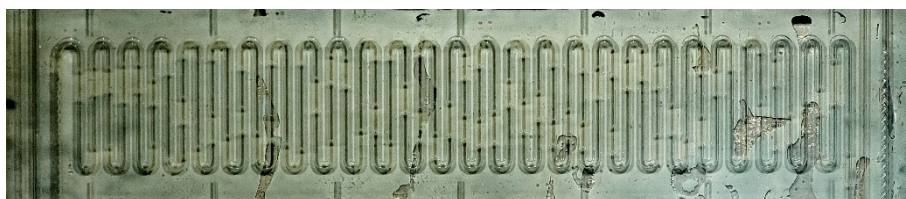
V použitých mikrofluidních reaktorech (mikročipech) při reakcích plynu a kapaliny je možné pozorovat vznik tzv. Taylorova toku (Obr. 3). Charakteristikou tohoto toku je přítomnost dvou fází v tomto případě plyn-kapalina. Díky těmto fázím je zajištěn tzv. píستový tok reaktorem, kdy v jednotlivých úsecích obsahujících kapalinu dochází k rovnoměrnému rozdělení koncentrace reagující látky. K rovnoměrnému rozdělení koncentrace látky přispívá míchání, které probíhá v každém jednotlivém píستu kapaliny při proudění reaktorem.

Charakter tohoto toku byl dobře pozorován za použití čipu 3223 (5 μ l) a rozpouštědlové fáze methanol/voda. Na Obr. 15 je možné pozorovat změny toku při změně

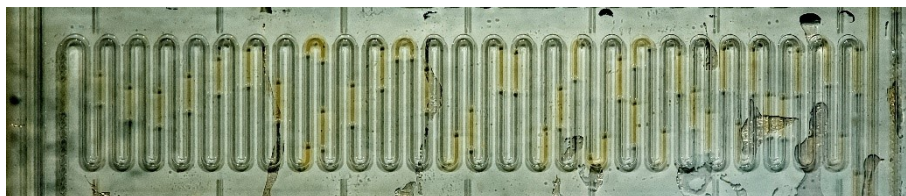
teploty. Fotografie zachycují reakční kanálek v celé jeho délce. Na prvním snímku je zachycen experiment prováděný při 363 K. Je patrné, že poměr mezi bublinami plynné fáze a kapalinou je přibližně rovnoměrný. Reakční směs se jeví bez jakéhokoliv zbarvení.

Na prostředním snímku je zachycen průtok čipem při 408 K. Při porovnání s prvním snímekem je patrná změna poměru mezi bublinami plynné fáze a kapalinou. Kapalná fáze zmenšila svůj objem a došlo k jejímu zežloutnutí. Změna barvy je s největší pravděpodobností způsobena částečným přechodem methanolu do plynné fáze. Tím se barevně projeví přítomnost Ru-BINAP (za normálního stavu oranžové zbarvení). Tyto zásadní rozdíly při zvyšování reakční teploty lze vysvětlit postupným se přibližováním k tenzi nasycených par rozpouštědla (MeOH, 16 bar při 428 K) a jeho snadnějšímu přechodu do plynné fáze. K tomuto přechodu dochází pouze při průchodu reakčním kanálem, poté co reakční směs projde do kapiláry napojené na výstup čipu, rozpouštědlo opět kondenzuje.

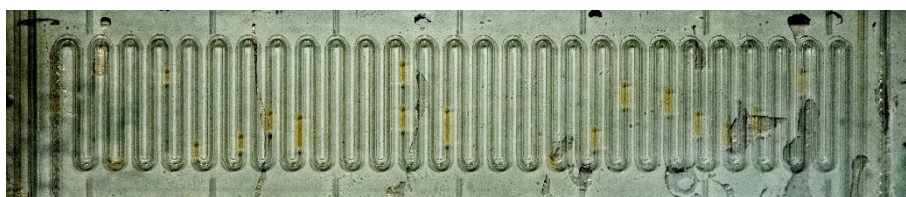
Na posledním snímku pro experiment při teplotě 428 K je úbytek kapalné fáze ještě znatelnější. Je možné si povšimnout, že přechod methanolu do plynné fáze neovlivňuje stupeň konverze.



a) 363 K



b) 408 K



c) 428 K

Obr. 15 Průtok směsi mikročipovým reaktorem během hydrogenace ECAA ve směsi methanol/voda při třech rozdílných teplotách a) 363 K, b) 408 K, c) 428 K, (mikročip 3223, $Q_L = 0,01$ ml/min, $Q_G = 0,6$ ml/min)

6. Závěr

Bakalářská práce se zabývala alternativním provedením stereoselektivních hydrogenací ECAA na (*R*)-CHBE za přítomnosti katalyzátoru (*R*)-Ru-BINAP v mikrofluidním reaktorovém systému. Součástí experimentů bylo nalezení optimálních podmínek pro tuto reakci. Hlavními optimalizovanými parametry reakce byly teplota a rozpouštědlový systém. Hydrogenační pokusy byly prováděny při šesti různých teplotách (363 K, 383 K, 398 K, 408 K, 418 K, 428 K) ve třech rozdílných rozpouštědlových směsích (MeOH/voda, EtOH/voda, [N_{8,222}][Tf₂N]/MeOH/voda). Z naměřených experimentálních dat byl určen stupeň konverze, který byl graficky vyneseno jako teplotní závislosti. Průběhy závislosti se poněkud lišily pro jednotlivé studované systémy, avšak 100% konverze byly dosaženy přibližně pro stejnou teplotní úroveň 408 K ve všech studovaných případech.

Získaná experimentální data byla využita pro výpočet zdánlivých aktivačních energií reakcí. Aktivační energie pro rozpouštědlový systém s iontovou kapalinou byla výrazně vyšší, než tomu bylo pro reakční směsi s ethanolem nebo methanolem. Tato skutečnost patrně souvisí se složitou koordinací iontové kapaliny na Ru-komplex. Aktivační energie pro rozpouštědlové systémy s alkoholy a vodou byly téměř totožné.

Rozhodujícím faktorem efektivity jednotlivých systémů je optický výtěžek (*R*)-CHBE. Jako nejvhodnější rozpouštědlo byla nalezena ternární směs iontové kapaliny, methanolu a vody, kdy enantiosektivita reakce činila 99,4 % (*R*)-CHBE. Mezi reakcemi obsahujícími rozpouštědlové systémy methanol/voda a ethanol/voda nebyly pozorovány větší rozdíly v získaném optickém výtěžku (*R*)-CHBE.

Pro porovnání efektivity stereoselektivní hydrogenace ECAA bylo využito výsledků získaných při předchozích pokusech s reakční směsí, která obsahovala rozdílnou výchozí látku MAA, ale stejnou rozpouštědlovou ternární směs [N_{8,222}][Tf₂N]/MeOH/H₂O. Hydrogenace MAA byla prováděna za stejných reakčních podmínek jako hydrogenace ECAA. Obě reakce vyžadují stejnou aktivační energii, přibližně 200 kJ/mol. Tento údaj vypovídá o tom, že vliv výchozí látky na velikost potřebné aktivační energie byl u studovaných systémů minimální. Naopak významný je vliv přítomnosti iontové kapaliny, která se složitě koordinuje na Ru-komplex.

Odlíšné byly vypočtené hodnoty zdánlivých rychlostních konstant. Stereoselektivní hydrogenace ECAA probíhá vyšší rychlostí než totožná reakce s MAA. Vytvořený matematický model pomohl prokázat, že studovaná hydrogenace probíhá kinetikou prvního řádu, jak bylo předpokládáno.

7. Literatura

- (1) Elimrani, I.; Dionnei, S.; Saragosti, D.; Qureshi, I.; Levy, E.; Delvin, E.; Seidman, E. *G. Int. J. Oncol.* **2015**, *47*, 755.
- (2) Cibulka, R. *Metabolic effects of carnitine and its role in medicine*, 2005; Vol. 13.
- (3) McGarry, J. D.; Brown, N. F. *European Journal of Biochemistry* **1997**, *244*, 1.
- (4) Wanders, R. J. A.; Vreken, P.; Ferdinandusse, S.; Jansen, G. A.; Waterham, H. R.; van Roermund, C. W. T.; Van Grunsven, E. G. *Biochemical Society Transactions* **2001**, *29*, 250.
- (5) Frigeni, M.; Balakrishnan, B.; Yin, X.; Calderon, F. R. O.; Mao, R.; Pasquali, M.; Longo, N. *Hum. Mutat.* **2017**, *38*, 1684.
- (6) Madsen, K. L.; Preisler, N.; Rasmussen, J.; Hedermann, G.; Olesen, J. H.; Lund, A. M.; Vissing, J. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2018**, *103*, 4580.
- (7) Tomlinson, S.; Atherton, J.; Prasad, S. *Case Reports in Cardiology* **2018**, *3*.
- (8) Bouitbir, J.; Haegler, P.; Singh, F.; Joerin, L.; Felser, A.; Duthaler, U.; Krahenbuhl, S. *Front. Physiol.* **2016**, *7*, 13.
- (9) Pooyandjoo, M.; Nouhi, M.; Shab-Bidar, S.; Djafarian, K.; Olyaeemanesh, A. *Obesity Reviews* **2016**, *17*, 970.
- (10) El-sheikh, H. M.; El-Haggag, S. M.; Elbedewy, T. A. *Diabetes & Metabolic Syndrome-Clinical Research & Reviews* **2019**, *13*, 167.
- (11) Zhai, G. J. *Metabolites* **2019**, *9*, 12.
- (12) Henkel, R.; Sandhu, I. S.; Agarwal, A. *Andrologia* **2019**, *51*, 8.
- (13) Kalhori, Z.; Mehranjani, M. S.; Azadbakht, M.; Shariatzadeh, M. A. *Reprod. Fertil. Dev.* **2019**, *31*, 282.
- (14) Patel, R. N. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 1252.
- (15) Patel, R. N. *ACS Catal.* **2011**, *1*, 1056.
- (16) Bernal, V.; Sevilla, A.; Cánovas, M.; Iborra, J. L. *Microbial cell factories* **2007**, *6*, 31.
- (17) Chen, X.; Liu, Z. Q.; Lin, C. P.; Zheng, Y. G. *Bmc Biotechnology* **2016**, *16*, 12.
- (18) Xie, X. M.; Lu, B.; Li, W. F.; Zhang, Z. G. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *355*, 39.
- (19) Marzi, M.; Minetti, P.; Moretti, G.; Tinti, M. O.; De Angelis, F. *Journal of Organic Chemistry* **2000**, *65*, 6766.
- (20) Wang, G. J.; Hollingsworth, R. I. *Tetrahedron-Asymmetry* **1999**, *10*, 1895.
- (21) Matsuyama, A.; Yamamoto, H.; Kobayashi, Y. *Org. Process Res. Dev.* **2002**, *6*, 558.
- (22) Yamamoto, H.; Matsuyama, A.; Kobayashi, Y. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* **2002**, *66*, 481.

- (23) Blaser, H. U.; Malan, C.; Pugin, B.; Spindler, F.; Steiner, H.; Studer, M. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 103.
- (24) Knowles, W. S.; Noyori, R. *Accounts Chem. Res.* **2007**, *40*, 1238.
- (25) Blaser, H. U.; Spindler, F.; Studer, A. *Appl. Catal. A-Gen.* **2001**, *221*, 119.
- (26) Pârvulescu, V. I.; Hardacre, C. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2615.
- (27) Černá, I. Diplomová práce, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2008.
- (28) Vekariya, R. L. *Journal of Molecular Liquids* **2017**, *227*, 44.
- (29) Olivier-Bourbigou, H.; Magna, L.; Morvan, D. *Appl. Catal. A-Gen.* **2010**, *373*, 1.
- (30) Hallett, J. P.; Welton, T. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 3508.
- (31) Dyson, P. J.; Laurenczy, G.; André Ohlin, C.; Vallance, J.; Welton, T. *Chem. Commun.* **2003**, 2418.
- (32) Bartek, L. Doktorská disertační práce, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2006.
- (33) Noyori, R.; Takaya, H. *Accounts Chem. Res.* **1990**, *23*, 345.
- (34) Ohta, T.; Takaya, H.; Noyori, R. *Inorganic Chemistry* **1988**, *27*, 566.
- (35) Kitamura, M.; Tokunaga, M.; Noyori, R. *Journal of Organic Chemistry* **1992**, *57*, 4053.
- (36) Sandoval, C. A.; Ohkuma, T.; Muniz, K.; Noyori, R. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 13490.
- (37) Kluson, P.; Stavarek, P.; Hejda, S.; Penkavova, V.; Bendova, M.; Vychodilova, H. *Chemické Listy* **2016**, *110*, 892.
- (38) Yao, C. Q.; Zhao, Y. C.; Chen, G. W. *Chem. Eng. Sci.* **2018**, *189*, 340.
- (39) Angeli, P.; Gavriilidis, A. In *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*; Li, D., Ed.; Springer US: Boston, MA, 2008, p 1971.
- (40) Bartek, L.; Drobek, M.; Kuzma, M.; Kluson, P.; Cervený, L. *Catalysis Communications* **2005**, *6*, 61.
- (41) De Vos, D. E.; Sels, B. F.; Jacobs, P. A. In *Advances in Catalysis, Vol 46*; Gates, B. C., Knozinger, H., Eds.; Elsevier Academic Press Inc: San Diego, 2001; Vol. 46, p 1.