Univerzita Karlova
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Redukce nitroskupiny s využitím platinového katalyzátoru v průtokovém reaktoru

diplomová práce

Gabriel Galčan

Vedoucí diplomové práce: doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.
Konzultant diplomové práce: PharmDr. Tomáš Holas, Ph.D.
Hradec Králové 2020

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval samostatně (pod vedením konzultanta). Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne …… …….

Chtěl bych poděkovat svému vedoucímu mé diplomové práce panu doc. PharmDr. Radimu Kučerovi PhD. a mému školiteli panu PharmDr. Tomáši Holasovi PhD., za jejich velkou ochotu a cenné rady při tvorbě této práce, dále mé rodině a přítelkyni za jejich nesmírnou podporu během studia.

Tato práce byla vypracována za podpory projektu SVV 260 547.

Obsah

Abstrakt 7

Abstract 8

Seznam použitých zkratek 9

1 Úvod 10

2 Teoretická část 11

2.1 Průtočná chemie 11

2.1.1 Vícefázové systémy 12

2.1.2 Teplota 13

2.1.3 Míchání 14

2.1.4 Rezidenční čas 15

2.1.5 Nebezpečné reakce v chemii 16

2.1.6 Průtokové systémy 17

2.1.7 Typy průtokových reaktorů 18

2.1.8 Průtočná chemie jako odpověď na požadavky zelené chemie 20

2.1.9 Uplatnění a trendy průtočné chemie ve farmaceutickém průmyslu 21

2.1.10 Výroba ve vsádkovém nebo průtokovém reaktoru? 23

2.2 Hydrogenace 25

2.2.1 Historie a současnost 25

2.2.2 Katalyzátory 26

2.2.3 Redukce nitrosloučenin – mechanismus reakce 27

2.2.4 Rozdíly katalytické hydrogenace v průtokovém a vsádkovém reaktoru – zaměřeno na redukci nitroskupiny 28

3 Cíl práce 32

4 Experimentální část 33

4.1 Testované látky 33

4.1.1 Výchozí látka (nitroaromatický karbamát, *R-05*) 33

4.1.2 Produkt (amino-aromatický karbamát, *R-01*) 33
4.1.3 Reakční schéma, profil nečistot 33
4.2 Rozpouštědla 35
4.3 Specifikace použitého zařízení 36
4.3.1 H-Cube systém 36
4.3.2 Tlakové režimy v H-Cube 38
4.3.3 Teplota 39
4.3.4 Katalyzátory 39
4.3.5 Čerpadlo 40
4.3.6 TLC a HPLC analýza 40
4.4 Vyhodnocení výsledků 41
4.5 Příprava vzorku 41
4.5.1 Průběh reakce v průtočném reaktoru 41
4.5.2 Průběh reakce ve vsádkovém reaktoru 42
4.6 Testované parametry 42
5 Výsledky a diskuse 43
5.1 Experimenty s různými druhy katalyzátorů kromě Pt/C 43
5.1.1 Pd/Al_2O_3 43
5.1.2 Pd/C 45
5.1.3 Směs platiny a palladia na uhlíku 51
5.1.4 Raney Nikl 51
5.2 Reakce s katalyzátorem připraveným v laboratorních podmínkách 52
5.3 Reakce s katalyzátorem 10% platina na uhlíku 54
5.3.1 Konverze *R-05* v prostředí *HCl* 54
5.3.2 Konverze *R-05* v prostředí kyseliny octové a metanolu 56
5.3.3 Konverze *R-05*v prostředí acetonu a směsi aceton/metanol 59
5.3.4 Konverze *R-05* v prostředí DCM a THF 61

5.3.5 Kontinuální proces v prostředí THF a následná krystalizace 62
5.3.6 Standardizace ve směsi DCM a metanolu 64
5.3.7 Kontinuální zpracování reakční směsi pro dosažení *R-01 × HCl* 67
5.3.8 Kontinuální proces při koncentraci 45 mg/ml R-05 v DCM/metanol 69
6 Shrnutí 72
7 Závěr 78
8 Seznam citované literatury 79

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Redukce nitroskupiny s využitím platinového katalyzátoru v průtokovém reaktoru

Diplomová práce

Kandidát: Gabriel Galčan
Školitel: doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.
Konzultant: PharmDr. Tomáš Holas, Ph.D.

Průtoková chemie je inovací ve výrobě farmaceutických surovin. Tato diplomová práce se zabývá redukcí nitroskupiny na aromatickém jádře pro výrobu nové cytostatické látky pomocí průtokového reaktoru. Reakce probíhá pomocí platinového katalyzátoru a vodíku generovaného elektrolýzou destilované vody. Teoretická část práce se soustředí především na přehled průtokových systémů, předkládá důležité proměnné pro průběh reakce v průtoku a je zde také uveden exkurz do průtočné chemie. Pozornost je věnována i využití průtočných reaktorů v rámci zelené chemie, budoucnosti průtočných systému a jejich limitům. V praktické části jsou uvedeny informace o stavbě a možnostech nastavení použitého průtokového reaktoru společně s reakčním schématem a všemi kritickými nečistotami. Velmi dobrých výsledků bylo dosaženo se směsí rozpouštědel dichlormethanu a metanolu při plném tlaku vodíku. V jistých ohledech jsme byli schopni překonat přípravu ve vsádkovém reaktoru. Konkrétně se podařilo zkrátit čas přípravy požadované látky a vytvořit produkt s nižším zastoupením nečistot. Závěrečná diskuze sumarizuje veškeré výsledky reakcí a uvádí vhodná doporučení pro optimalizaci této redukce.

Klíčová slova: průtoková chemie, redukce nitroskupiny, platinový katalyzátor, H-Cube, hydrogenace

Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Analysis

The reduction of the nitro group using a platinum catalyst in a flow reactor

Diploma thesis

Candidate: Gabriel Galčan

Supervisor: doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.

Consultant: PharmDr. Tomáš Holas, Ph.D.

Flow chemistry is a relatively new solution in the production of pharmaceutical materials. This thesis is dealing with the reduction of a nitro group on an aromatic nucleus for production of the new cytostatic agent using a flow reactor. The reaction is in progress using a platinum catalyst and hydrogen, which is generated by the electrolysis of distilled water. The theoretical part is mainly concentrated on the overview of flow systems, presents important variables for the course of the reaction in the flow, and there is also the digression to the flow chemistry. The next object of attention is the use of flow reactors in the context of green chemistry, but also the future of flow systems and their limits. The practical part contains information about the construction and setting options of the flow reactor together with data about the reaction scheme and all critical impurities. Very good results were achieved with a mixture of solvents dichlormethane and methanol under full hydrogen pressure. In some respects, we were able to overcome the outcomes of the preparation in a batch reactor. Specifically, we have managed to shorten the preparation time of the required substance and create a product with a lower content of impurities. The final discussion summarizes all reaction results and states relevant suggestions for optimizing the reduction depending on response factors.

Keywords: flow chemistry, nitro group, reduction, platinum catalyst, H-Cube, hydrogenation

Seznam použitých zkratek

API	aktivní farmaceutická substance
DCM	dichlormethan
DIPE	diisopropylether
DMF	dimethylformamid
HCL	kyselina chlorovodíková
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostním analyzátorem
THF	tetrahydrofuran

1 Úvod

Tématem mé diplomové práce je redukce nitroskupiny v průtokovém reaktoru. Průtoková chemie je již několik let poměrně známou metodou přípravy látek. V posledních letech si také získala zájem farmaceutických firem, zejména kvůli své rychlosti, úspoře prostor, vyšší bezpečnosti a flexibilitě. Toto téma jsem si vybral především proto, že jsem přesvědčen, že průtoková chemie má ve farmaceutickém průmyslu zajištěnou budoucnost. Dalším důvodem byl můj zájem o pracovní zkušenost ve velké farmaceutické firmě a získání znalostí o jednotlivých zařízeních užívaných při výrobě.

Zabývám se zde optimalizací reakce pro výrobu nové cytostatické látky pro firmu Teva Czech Industries s.r.o v Opavě. Reakce byla prováděna klasickou metodou ve vsádkovém reaktoru, ta je ale z časového hlediska náročnější, a proto byl vytvořen požadavek na oddělení vývoje a výzkumu, aby se otestovala reakce v průtokovém reaktoru.

Mým cílem byla optimalizace podmínek reakce tak, aby výsledný produkt obsahoval co nejméně nečistot a následné zpracování získané krystalické látky. Zkoumanými parametry byly především tlak vodíku, rychlost průtoku, teplota a koncentrace výchozího roztoku.

2 Teoretická část

2.1 Průtočná chemie

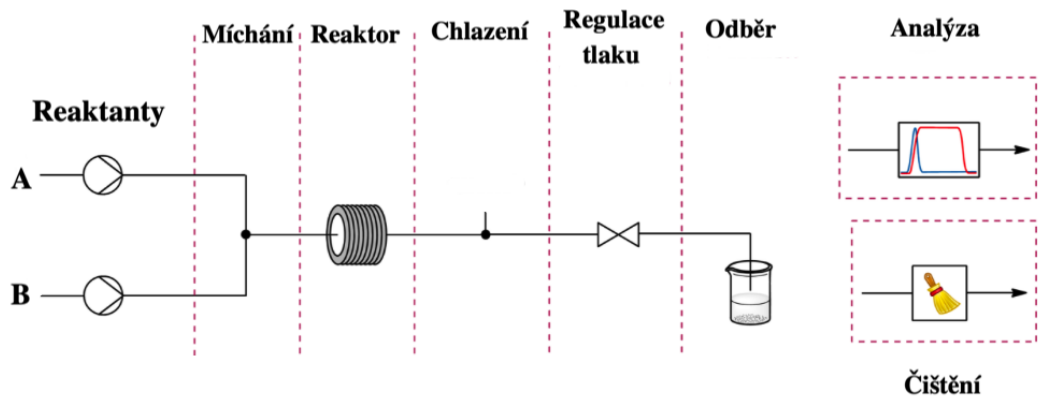
Průtočná chemie je obvykle definována jako kontinuální průtok dvou a více látek, které spolu reagují v kapilárách o průměru 10–500 µm (laboratorní měřítko). Z pravidla jde o jednu výchozí látku, která je čerpána do reaktoru, kde se setkává s činidlem, se kterým v našem případě putuje ke katalyzátoru, kde probíhá reakce. Průtokové reaktory mohou obsahovat další mixery, díky kterým mohou probíhat další reakční kroky. Používané nástroje průtokové chemie přináší chemikům větší možnost dozoru nad nastavovanými parametry. [1–3]

V průběhu minulých let došlo k širokému uplatnění průtokové chemie v syntéze organických sloučenin. Velkou výhodou oproti klasické syntéze je rychlé zahřívání a přenos hmoty. Mezi další nesporné výhody patří nízká nákladovost, bezpečnost, úspora prostor, rychlost smísení látek, šetrnost k přírodě a vysoká efektivita. Chemikům působícím ve vývoji a výzkumu se tedy přirozeně nabízí otázka: *Nemělo by se to zkusit v průtoku?* Ve snaze na tuto otázku odpovědět je nutné si shrnout všechny podmínky pro průběh reakce. Proměnných pro kompletní optimalizaci reakce je mnoho, a proto je nutné nejdříve kriticky zhodnotit celou situaci. Ne vždy jsou totiž mikro-reaktory příhodnějším řešením oproti vsádkovému reaktoru. [1,4]

Výroba farmaceutických surovin, nebo přímo aktivní farmaceutické substance (API), je mnohem komplexnější než výroba látek komoditních. Při výrobě farmaceutických látek se často jedná o vícestupňovou syntézu, která bývá v mnoha případech zakončena kontinuální krystalizací. Výhody, které průtoková chemie přináší farmaceutickému průmyslu, jsou stále více doceňovány. Dochází proto k vysokému nárůstu experimentů v této oblasti.[5]

Velmi zajímavým případem v průtočné chemii, je výroba aliskirenu v centru pro kontinuální výrobu od firmy Novartis-MIT. Jedná se o syntézu typu *end-to-end,* kdy jsou všechny kroky od syntetické reakce, přes krystalizaci, sušení, až po formulaci do konečné podoby látky farmaceutické kvality, prováděny v kontinuálním procesu. [6,7]

Obrázek 1 na následující straně vyobrazuje obecnou představu o průtokových systémech. Výchozí látka je pumpována do mixéru, kde je smísena s činidlem. Z mixéru pokračuje směs do reakční zóny, která může obsahovat katalyzátor, který umožňuje průběh reakce. U takovýchto systémů je nutné dbát na určité parametry, kterými jsou především teplota, tlak a rychlost průtoku.

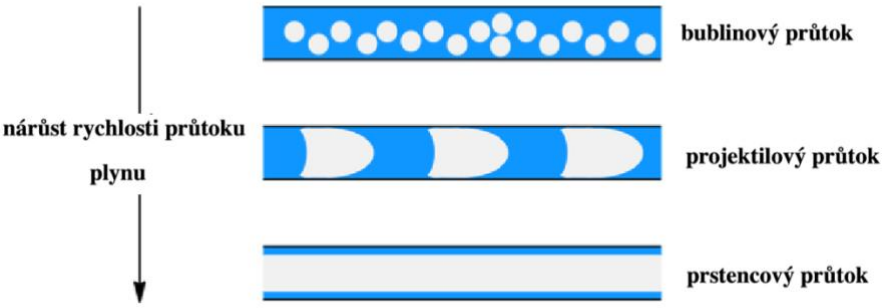


Obrázek 1 Obecné zobrazení průtokového systému, přejato a pozměněno z [1].

2.1.1 Vícefázové systémy

Reakce se v těchto systémech odehrává na rozhraní několika fází (plynné – kapalné, pevné – kapalné, kapalné – kapalné a další). Pro zaručení dobré reaktivity látek v průtoku, je nutné brát také ohled na mísení a míchání jednotlivých fází. Pro každý vícefázový systém existují různé vícefázové režimy průtoku. Při reakcích u těchto systémů hraje velmi významnou roli plocha. Vsádkové reaktory mohou v tomto případě rychlost reakce omezovat, proto lze průtočné reaktory považovat za výhodnější prostředek pro přípravu některých látek.[1]

U rozhraní kapalného a plynného prostředí nastávají tři různé situace, které jsou znázorněny níže (obrázek 2). Tyto režimy jsou ovlivněny zejména rychlostí průtoku, viskozitou a vlastnostmi kapiláry, jejíž rozměry se v laboratoři obvykle pohybují v rozmezí 0.25 – 0.75 mm v průměru. V průtokových reaktorech nejčastěji pozorujeme projektilový průtok. [1]

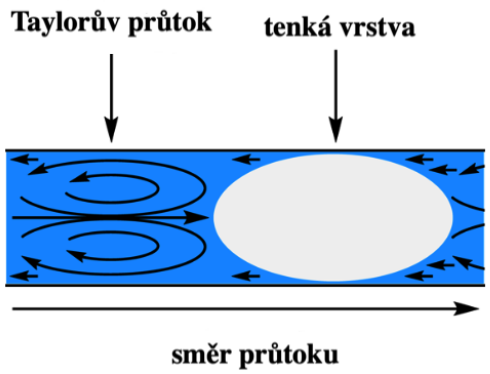


Obrázek 2 Popis rozhraní plyn – kapalina – bublinový, projektilový a prstencový průtok přejato a upraveno [1].

Na rozhraní kapalného a pevného prostředí, které je charakterizováno pevným katalyzátorem, existují tři typy těchto reaktorů: tzv. *packed bed, fluidized bed* a *mixed bed*. Částice jsou suspendovány a podle rychlosti průtoku se mohou pohybovat turbulentním tokem kapalné fáze. [1]

V případě této práce se jedná o vícefázový systém typu kapalina – pevná látka – plyn, který je výhodný pro hydrogenaci nejen nenasycených sloučenin, ale také nitrosloučenin. Tento proces má výhodu v tom, že může být levný a často i selektivní. [1]

Velké opodstatnění v průtokové chemii hraje již zmíněná reakční plocha, která se odlišuje od vsádkových reaktorů svou velikostí. Velký důraz je také kladen na míchání, které je nejen v průtokové chemii zásadním faktorem pro úspěch reakce. Dále je uveden speciální typ mísení kapalné a plynné fáze. Jedná se o Taylorův průtok (obrázek 3), který vzniká při projektilovém typu průtoku plynu soustavou. Plyn je při tomto jevu separován od kapiláry tenkou vrstvou kapaliny a před touto částí vzniká turbulentní tok, který zajistí kvalitní promísení reaktantů. [1,8]



Obrázek 3 Vyobrazení Taylorova průtoku, přejato a upraveno z [1].

Dalším podstatným parametrem je rozpustnost plynu v kapalné fázi, bez které by k reakci nemohlo dojít. U většiny reakcí je rozpustnost plynu limitující při laboratorní teplotě. [1]

2.1.2 Teplota

Teplota může významně ovlivňovat celkový průběh i výtěžek reakce. Závislost teploty na reakční rychlosti je odvozena ze srovnání Arrheninova vztahu (rov. č.1) s Eyringovou rovnicí (rov. č.2), která udává především hodnoty aktivační entalpie a entropie. Tyto veličiny jsou rovny rozdílům entalpie nebo i entropie mezi aktivovaným komplexem a výchozími látkami. Tyto rovnice sice znázorňují dva různé jevy, ale slouží

zde především jako ilustrace vztahu mezi absolutní teplotou a rychlostní konstantou. Některé reakce, které probíhají pomaleji při laboratorní teplotě, lze proto urychlit zahřátím. [1]

$$k = Ae^{-E_a/(RT)}$$

Rovnice 1 k – rychlostní konstanta, A – frekvenční faktor, E_a – aktivační energie, R – molární plynová konstanta, T – teplota.

$$k = \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^{\ddagger}/RT}$$

Rovnice 2 k – rychlostní konstanta, k_B – Boltzmannova konstanta, T – teplota, R – molární plynová konstanta, h – Planckova konstanta, ΔG‡ - Gibbsova volná energie.

Pro výrobu látek ve velkém měřítku je temperování reakce na nízkou teplotu často nákladné až problematické, proto se většina výrobních reakcí optimalizuje pro laboratorní, respektive vyšší teploty. Jednou z hlavních možností snížení teploty jsou takzvané *cryo-flow* reakce. Ty vyžadují speciální reaktor a materiály, z nichž nejvíce používané jsou pevný CO_2 a tekutý dusík. Pro zacílení na určitou teplotu jsou používány kombinace těchto kryogenních materiálů. Avšak i přes to, že jsou nízkonákladové, jsou vědci málo používané. Více využívané jsou Peltierovy chladiče a kapalinové cirkulátory, které jsou zatíženy vyšší spotřebou proudu. Příklady novějších zařízení pro průtokovou chemii jsou *The Polar Bear* a *Polar Bear Plus* reaktory s Peltierem, které jsou schopny udržet teplotu až -70 ºC, po dobu několika hodin při zachování stabilních podmínek průběhu reakce. Velmi důležitá je i volba používaných materiálů, zejména pak kapilár. Kapiláry musí mít optimální velikost, aby nedocházelo k přílišné kondenzaci a následnému zamrznutí kapalin uvnitř. [9,10]

V laboratorních podmínkách se dá docílit snížení teploty v okolí katalyzátoru pomocí ledování.

2.1.3 Míchání

Jak již bylo naznačeno v kapitole *2.1.1*, míchání je dalším podstatným parametrem pro úspěšnou reakci. Důkladné smísení výchozích látek je důležité hlavně proto, aby nedošlo k lokálnímu zreagování ještě před dosažením homogenního roztoku. K této situaci často dochází u vsádkových reaktorů. Pro popis mísení látek v systémech

obsahujících kapiláry nebo trubky se používá Reynoldsovo číslo, které je znázorněno rovnicí č. 3. Hodnota Reynoldsova čísla pomáhá určit, zda při mísení dochází k laminárnímu proudění, nebo k proudění turbulentnímu. Prostřednictvím tohoto vztahu

$$\mathrm{Re} = \frac{QD_H}{\nu A}$$

Rovnice 3 Re – Reynoldsovo číslo, Q – rychlost průtoku, D_H – průměr trubice, υ – kinematická viskozita, A – velikost kanálků.

(rov. č. 3) lze učit o jaký typ mísení se bude jednat, což může být velmi podstatné pro průběh reakce. Pokud je hodnota čísla nižší než 2000, jedná se o laminární tok. Je-li tato hodnota vyšší než 4000, pak je míchání označováno jako turbulentní. V případě, že se hodnota vyskytuje v rozmezí 2000–4000, jedná se o přechodné míchání. [1,11,12]

U trubkových reaktorů je kratší difúzní čas a k míchání dochází s větší rychlostí než ve vsádkových reaktorech. Dalším vztahem, který popisuje míchání v průtočných systémech, je Damköhlerovo číslo (rov. č. 4). Tato jednotka vyjadřuje poměr rychlosti reakce k rychlosti přenosu hmoty pomocí difúze. V situacích, kdy je Damköhlerovo číslo menší než 1, je směs téměř homogenní a dochází ke smísení před započetím reakce.

$$\mathrm{Da} = kC_0^{\,n-1}\tau$$

Rovnice 4 Da – Damköhlerovo číslo, k – konstanta reakční rychlosti, C_0 – koncentrace, n – reakční řád, τ – rezidenční čas.

Pokud je číslo větší než 1, je reakce rychlejší než přenos hmoty, což může mít za následek koncentrační gradienty, které jsou spojeny se vznikem nežádoucích vedlejších látek. [1,11]

2.1.4 Rezidenční čas

Jednou z klíčových hodnot je rezidenční čas. Jedná se o čas, který látka stráví v reaktoru, v našem případě v cartridge s katalyzátorem v tzv. reakční zóně. U reakcí ve vsádkových reaktorech mluvíme o tzv. reakčním čase. Tuto veličinu lze vypočítat pomocí rov. č. 5, která udává podíl objemu cartridge a rychlosti průtoku.[1]

$$t_{res} = \frac{V}{\nu}$$

Rovnice 5 t_{res} – rezidenční čas, V – objem cartridge, ν – rychlost průtoku.

Pro reakce v systémech kapalina/pevná látka a kapalina/plyn je zapotřebí brát v potaz další hodnoty (rozpustnost plynu v kapalině a mrtvý objem [1,13,14]

Reakční čas je směrodatný pro porozumění reakci z hlediska množství daného katalyzátoru, jež je zapotřebí pro zaručení plné konverze látky při současném zabránění vzniku nečistot. Vyplývá to z přiloženého grafu 1.

Graf 1 Závislost koncentrace na čase vyjadřuje porovnání mezi celkovým výtěžkem a výtěžkem ve stabilním stavu. [1]

2.1.5 Nebezpečné reakce v chemii

Průtočná chemie dává možnost provádět některé nebezpečné reakce. Dříve byl problém provádět některé riskantní reakce, a to kvůli toxickým meziproduktům, škodlivým výparům, hrozícím explozím, práci s cytotoxickými látkami atd. Další výhodou je použití reaktantů *in situ*, díky kterým nemusí docházet k rozkladným reakcím. [15,16]

Nejvíce problematické jsou zejména reakce exotermické, velmi rychle probíhající a reakce při vysokém tlaku. Tyto reakce mohou skončit nekontrolovatelným procesem – tzv. *runaway* reakcí. Mezi takovýto typ reakcí patří například halogenace a nitrace. [16]

Mezi jednotlivé typy vyráběných nebezpečných látek lze zařadit fosgen, jehož výroba je založena na *in situ* průtokové proceduře. V práci od Yasukouchi a jeho koleg ů, je smíchán trifosgen a tributylamin za okamžitého vzniku fosgenu. Takto lze vytvořit až 60 g fosgenu za zhruba 5 minut. Další nebezpečnou látkou je diazomethan, který je

toxický a nestabilní. Průtoková chemie dává také prostor nitracím, které jsou potenciálně nebezpečnými reakcemi. Získané nitrosloučeniny jsou cennými látkami, které lze použít v širokém poli reakcí. Dalším příkladem jsou výbušné azidy, které obsahují některé molekuly léčiv. [15,16]

Další látky, které jsou vyráběny nebo používány v průtokovém režimu, jsou např. hydrazin, tionyl chlorid a isokyanidy. Mezi nebezpečné reakce, jejichž bezpečnost je zvýšena prováděním v průtoku, lze mimo jiné zařadit také halogenaci, ozonolýzu a oxidaci. [15,16,18]

2.1.6 Průtokové systémy

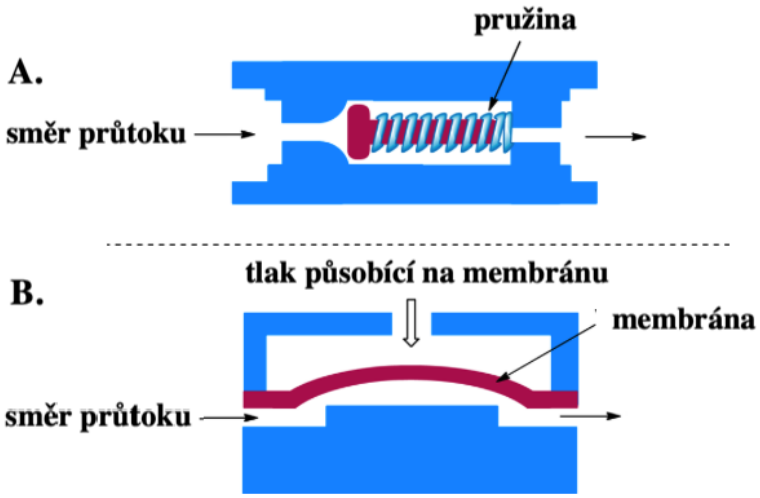
Průtokový systém obsahuje několik základních komponent, jak již bylo naznačeno v úvodní kapitole *2.1*. Případně může jít o zapojení vsádkových reaktorů paralelně za sebou.

První částí, kterou reaktor ke svému fungování potřebuje, je čerpadlo, které čerpá výchozí látku do systému a určuje rychlost průtoku. Čerpadla se používají buď laboratorní, nebo procesní. Nejčastěji používaným čerpadlem v laboratorních podmínkách je analytické pístové čerpadlo. Dalšími typy jsou injekční nebo peristaltická čerpadla.[19]

Další potřebnou součástí je mixér ve tvaru T, případně Y. U některých reaktorů jsou sofistikovanější mixéry, ve kterých se výchozí reaktanty spojí a homogenně smísí. Existuje řada mixerů od mikro-čipových po velké statické například Koflo mixéry. Použití mixéru se rozlišuje dle použitého průtoku a viskozity. [16]

Následně látka putuje do reaktoru, kde na základě zádrže je odečítán rezidenční čas. Obecně lze říct, že rozlišujeme tři základní typy reaktorů. Mikrofludní čipové reaktory s výborným mícháním, které jsou využívány pro malé objemy látek a jsou vhodné pro rychlé reakce dále stočené trubkové reaktory a kolonové reaktory, které většinou obsahují příslušný nosič s katalyzátorem. Jejich detailnější popis je uveden v následující kapitole *2.1.7.*[1,20]

Poslední součástí je u většiny reaktorů regulátor zpětného tlaku. Ten kontroluje tlak v systému a umožňuje vysokoteplotní podmínky. Jedná se o speciální typ ventilu, jehož hlavním úkolem je zajistit konstantní systémový tlak. Existují dva typy těchto ventilů. Prvním z nich je ventil s pružinou, který reguluje tlak tím, že tlačí tekutinu proti ploše pístu, dokud není dosaženo předdefinovaného tlaku, čímž se uvolní cesta tekutině (obrázek 4A.). Druhý typ ventilu vyvíjí tlak proti membráně, čímž nastavuje tlak pro celkový průběh reakce. (obrázek 4B.). [1]

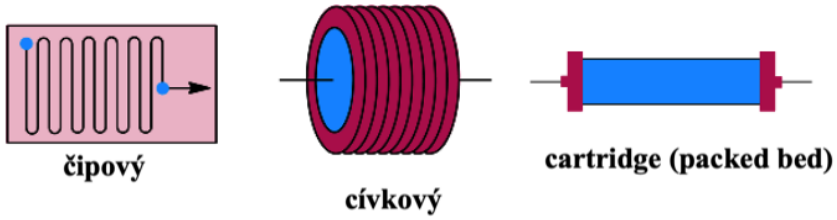


Obrázek 4 Znázornění dvou typů regulátorů zpětného tlaku, převzato a upraveno z [1]

2.1.7 Typy průtokových reaktorů

Průtokové reaktory se v zásadě dělí do tří skupin, které se liší svou stavbou, materiály a také jsou specifické pro různé typy reakcí. Přehled základních typů ilustruje obrázek 5.

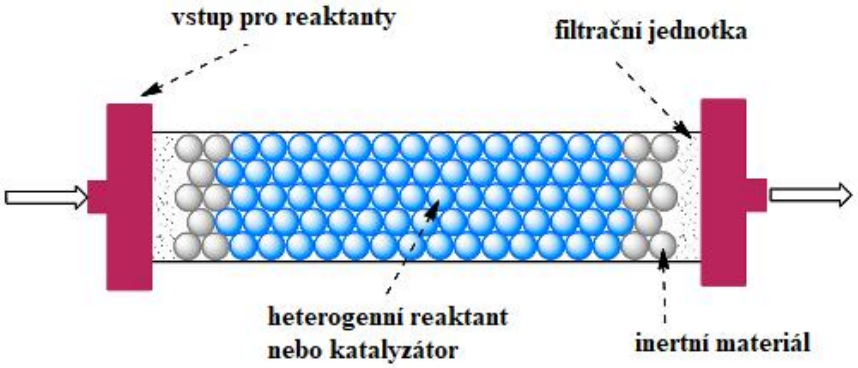
První typ, který zde uvedu, je reaktor čipový, jenž je zároveň nejdražším. Ze všech tří reaktorů nabízí čipový reaktor nejlepší výměnu tepla s okolím, a to hlavně díky velkému reakčnímu povrchu. Materiály pro výrobu těchto reaktorů jsou sklo, silikon, keramika nebo ocel.[1]



Obrázek 5 Druhy průtokových reaktorů, převzato a upraveno z [1]

Druhým typem je cívkový reaktor složený z trubice, která je většinou vyrobena z některých fluoropolymerů (polytetrafluoroethylen, fluorovaný ethylen propylen). O tom, jaký typ cívkového reaktoru se použije, rozhoduje druh reakce, kterou chceme provádět. Parametry, kterým je třeba věnovat pozornost, jsou tlak, teplota, míra koroze reaktantů a tloušťka stěny trubice. [1]

Posledním typem je kolonový reaktor (obrázek 6), jehož součástí je většinou heterogenní katalyzátor či reaktant. Cartridge je plněna katalyzátorem, nebo reaktantem v pevném stavu v kombinaci s nosičem.[1]



Obrázek 6 Popis kolonového reaktoru *(packed bed reactor),* převzato a pozměněno z [1].

Jedním z nejdůležitějších předpokladů pro reakci je velikost částic uvnitř tohoto reaktoru. Větší částice zmenšují reakční plochu, čímž mohou značně omezit výtěžnost celé reakce. Menší částice mohou ucpat filtrační jednotku, nebo zvýšit tlak na zpětném ventilu. Právě cartridge reaktor byl použit pro reakce v rámci mé práce. Mimo jiné existují také reaktory pro elektrochemické reakce nebo speciálně upravené cívkové reaktory pro reakce fotochemické.[1] Tyto druhy reaktorů však nejsou relevantní pro účely této práce.

2.1.8 Průtočná chemie jako odpověď na požadavky zelené chemie

V dnešní době se téměř veškerý průmysl snaží přejít na výrobu, která méně zatěžuje životní prostředí. Principy zelené chemie jsou velmi dobře aplikovatelné na průtočnou chemii a použití kontinuálních reakcí ve výrobě se těší stále většímu zájmu. Environmentálními profity těchto reakcí jsou: eliminace vedlejších produktů, zvýšení výtěžnosti, bezpečnost a reprodukovatelnost. Dalším plusovým faktorem je nižší spotřeba materiálu při laboratorním vývoji a do budoucna také jistá automatizace vývoje. Existují průtokové systémy, které jsou po spojení a nakonfigurování s počítačem schopné podle algoritmů optimalizovat celou syntézu. Optimalizace probíhá do té doby, než dojde k dosažení nejvyššího možného výtěžku. [21–23]

Pro lepší představu o tom, jak průtoková chemie pomáhá chránit životní prostředí, poslouží následující příklady.

Löwe a kolektiv prováděli celkem šest reakcí se sekundárními aminy. Jednalo se o variantu Michaelovi adice s nenasycenými karbonylovými sloučeninami v průtokovém reaktoru s mikro-mixérem. Tyto reakce jsou vysoce exotermické a reakční čas ve vsádkovém reaktoru je velmi dlouhý (přibližně 17–25 hodin) s výtěžkem vyšším než 85 %. Časově nejnáročnějším krokem je přidávání aminového nukleofilu k akceptoru. Při reakci ve vsádkovém reaktoru je nukleofil přidáván po kapkách v řádu několika hodin z důvodu větší bezpečnosti, neboť dochází k velkému uvolnění tepla. V mixéru průtočného reaktoru tentýž proces proběhne v řádech několika minut a jeho výtěžky přesahují 90 %. Z výsledků lze také konstatovat, že snížením reakční doby a zvýšením koncentrace může průtokový reaktor produkovat 235krát více materiálu za hodinu. [21,24]

Dalším příkladem může být studie prováděná Xuan Ye a kolektivem, která se věnuje oxidaci alkoholů v průtokovém reaktoru pomocí 8% O_2 v N_2 na palladiovém katalyzátoru. Oxidace 1-fenyletanolu na acetofenon proběhne v průtokovém reaktoru za 45 minu, což je samozřejmě v porovnání s 18 hodinami v reaktoru vsádkovém velmi dobrý výsledek. Je toho dosaženo především díky použité teplotě 60 ºC, což je teplota o 35 ºC vyšší než u reakce prováděné ve vsádkovém reaktoru, kde by stejná teplota zapříčinila rozklad katalyzátoru. Výtěžnost v kontinuální přípravě byla 87 % (ve vsádkovém reaktoru 55 %). Studie tak potvrdila, že reakce je snadno převeditelná z baňky do průtoku a umožní tak snížit ekologickou zátěž. [23]

2.1.9 Uplatnění a trendy průtočné chemie ve farmaceutickém průmyslu

Průtokové systémy začali zasahovat do světa biotechnologické a farmaceutické výroby zhruba před dvaceti lety. Dnes se tyto systémy používají zcela běžně pro splnění stále specifičtějších cílů průmyslu. Díky průtočným systémům je možné reakce přesněji a jednodušeji optimalizovat. Farmaceutické firmy v dnešní době investují velké množství peněz do rozvoje této technologie pro environmentální a ekonomické benefity, které přináší. [16, 25]

Ve farmaceutickém průmyslu se průtokové systémy uplatňují zejména při kontinuální výrobě API. Průtokové reaktory mohou být také nápomocné při prvotním vývoji, jelikož reakci jde snadno kontrolovat. Mimo jiné je *scale-up* pomocí této technologie mnohem jednodušší než při používání vsádkových reaktorů. [16]

Pro lepší představu o tom, jak průtoková chemie dosahuje cílů ve farmaceutickém průmyslu zde uvedu několik příkladů syntézy API.

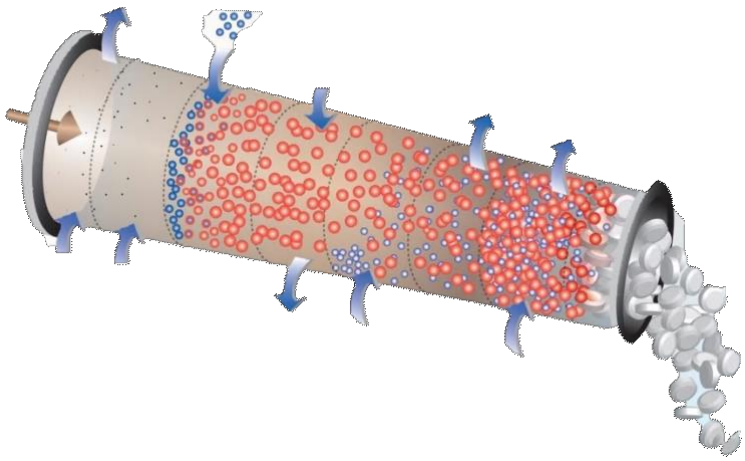
Prvním příkladem kontinuální výroby léčiv je příprava ibuprofenu, který Jamison s kolektivem, vyráběli za využití průtočného reaktoru. K této syntéze postačili tři reakční kroky a jedna extrakce typu kapalina – kapalina. Výtěžek byl přes 80 % sodné soli ibuprofenu a dosažená rychlost produkce byla rovna 8 g za hodinu. Celkový čas syntézy trval 3 min – jedná se tedy o syntézu velmi rychlou. Mimoto je díky průtočnému systému tato syntéza jednoduchá a levná. [16, 26]

Jako další příklad možného uplatnění průtokové chemie ve farmaceutické produkci je možno uvést metody skupiny vědců z Novartis–MIT. Jejich cílem bylo propojení několika reaktorů spolu s následnou purifikací a separací látek. Tyto systémy pak generují stovky až tisíce dávek API za 24 hodin. Mezi testované léčivé látky v této studii patří lidokain a difenhydramin hydrochlorid, diazepam a fluoxetin. Takto nastavená výroba by ušetřila spoustu času, prostor a celkový proces by se značně zjednodušil. Navíc by se jednotlivé reakce daly lépe kontrolovat, čímž by se zajistila vyšší bezpečnost při práci. Tento výzkum se soustředil na topické, kapalné a orální podávání léčivých látek. Velmi důležité je i závěrečné shrnutí této publikace samotnými autory, kde hovoří o tom, že pro kompletní výrobu léčivého přípravku by bylo třeba používat stejné metody, jako při výrobě ve vsádkovém reaktoru. Jedná se především o krystalizaci, sušení a další. Při použití nových metod by bylo dle autorů vhodné zvážit možnosti 3D tisku tablet. Poslední slovo při schvalování této metody má FDA a již několik let je snaha prosadit použití průtokových systému u tohoto úřadu. Představu o výrobě farmaceutických

surovin v praxi podle výzkumné skupiny vědců z Novartis–MIT ilustruje obrázek 7. [16, 27]

Existuje celá řada reakcí, které byly ve farmaceutickém průmyslu převedeny do průtoku. Výše zmiňované dva příklady tak slouží především pro lepší představu pestrosti využití průtokových systémů, které je možno velmi dobře nastavit pro specifické podmínky.

Mezi novodobé přístupy využití průtokové chemie patří kryogenní průtoková chemie, díky jejíž dobré výměně tepelné energie je možné provádět reakce i při velmi nízkých teplotách. V neposlední řadě je novinkou průtoková elektrochemie, jejíž popularita v průběhu let stále roste. Pozoruje se také nárůst reakcí prostřednictvím průtokové fotochemie. Velmi zajímavým trendem je použití biokatalyzátorů v průtočných systémech, neboť používání specifických enzymů se stává stále více rozšířeným.[16]



Obrázek 7 Znázornění představy o kontinuální výrobě podle firmy Novartis-MIT a její výzkumné skupiny pro kontinuální zpracování, převzato a upraveno z [28].

2.1.10 Výroba ve vsádkovém nebo průtokovém reaktoru?

Nejdůležitější je samozřejmě otázka bezpečnosti. Není-li reakce ve vsádkovém reaktoru bezpečná, je vhodné bez rozsáhlejší diskuze použít průtokový systém. Pokud je požadovaná reakce již dokumentována v literatuře s dobrým výtěžkem a přijatelným reakčním časem, není nutné převádět danou reakci do průtokového systému. Dalším neopomenutelným parametrem je bezesporu rychlost, která u reakcí hraje samozřejmě velmi podstatnou roli. Důležitý je také fakt, zda selektivitu reakce ovlivňuje teplota, nebo je zapotřebí využití pevného heterogenního katalyzátoru. V neposlední řadě také to, zda je reakce řízena fotochemicky či elektrochemicky. Závěrem je také vhodné se zamyslet nad tím, jestli reakce v průtoku přinese lepší výsledky oproti reakci ve vsádce. [1, 29]

Jelikož každý typ reaktoru provádí míchání výchozích látek odlišně, je na místě zhodnotit i tento faktor. Je to kritický parametr, který ovlivňuje konverzi a selektivitu, když je rychlost reakce vyšší než rychlost mísení. (Jestliže je totiž rychlost reakce vyšší než rychlost mísení, dochází k ovlivnění konverze a selektivity.) [29]

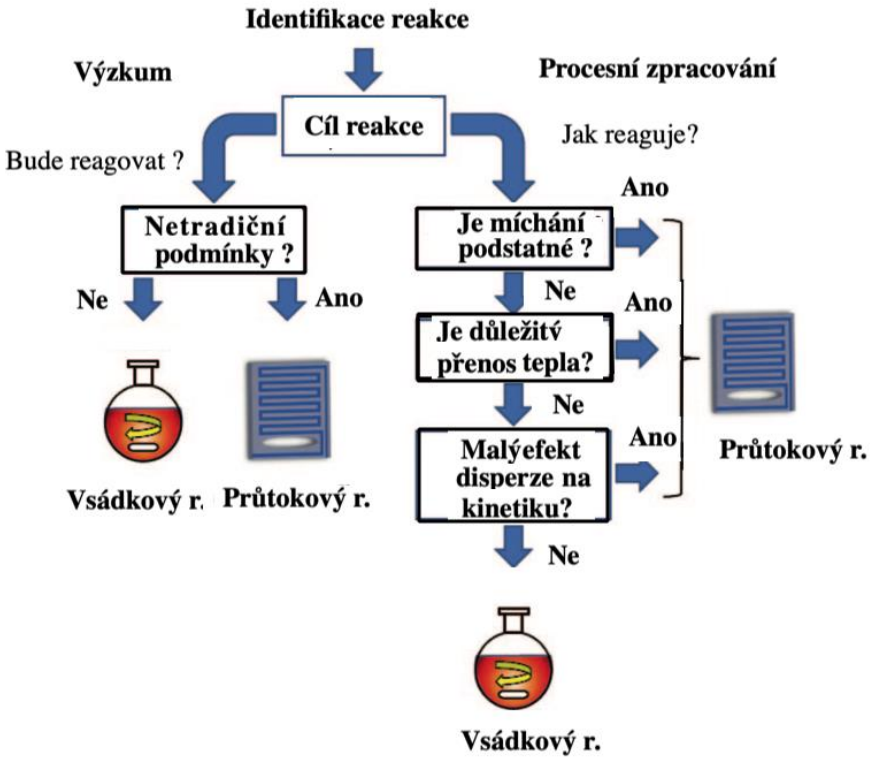
Pro porovnání těchto dvou přístupů je vhodné vyzdvihnout přednosti a nedostatky jak průtokových, tak vsádkových reaktorů. Průtočné systémy jsou výhodné hlavně díky nižšímu reakčnímu času. Příčinou zkráceného reakčního času je vylepšené míchání a zahřívání látek. V průtoku je možné docílit vyšší čistoty i výtěžku. Umožňují nám rovněž dosahovat vyšší i nižší teploty a vysokých tlaků. Také *scale up* je jednodušší pro průtočné systémy a při reakcích poskytuje zvýšenou bezpečnost. Mimo jiné jsme schopni v průtoku lépe optimalizovat podmínky a rezidenční čas. Pochopitelně ne vždy hrají všechny zmiňované faktory ve prospěch průtokových reaktorů, neboť vždy musí být splněna základní podmínka, tedy úplné rozpuštění výchozích látek. Směs nebo jednotlivé výchozí látky musejí být rozpuštěny spolehlivě, aby nedocházelo k precipitaci, což by mohlo vést k ucpání systému a při nepozornosti i k nárůstu tlaku uvnitř soustavy. Příprava ve vsádkovém reaktoru je v mnoha ohledech překonána, ale nelze veškeré výhody průtokové chemie paušalizovat na všechny reakce. Suspenzní roztoky výchozích látek je stále nemožné převést do průtoku, je to však jeden z dalších cílů moderních průtokových metod. Příprava ve vsádku je velmi výhodná z hlediska použití jedné baňky pro veškeré úkony od reakce, přes krystalizaci, odpařování, sušení a další. Tyto úkony se průtočná chemie snaží spojit do jednoho in-line systému. Výhodou vsádkových reaktorů je také nižší cena. Je nutno brát v potaz i časté protékání a ucpávání mikro-reaktorů, ale také životnost reaktorů, kapilár a kanálků, jež není většinou známá. Nakonec veškeré

stereoselektivní reakce v průtoku jsou jistým zádrhelem. U těchto reakcí jsou problémové především katalyzátory, jejich aktivace, životnost a efektivita. [30, 31]

Obrázek 8 uvádí základní informace o tom, jestli je průtočná chemie vhodná pro danou reakci či ne. Zde ovšem rozhodování ještě nekončí, neboť musí následovat diskuze o tom, jaký typ průtokového reaktoru je pro reakci vhodný. [29]

Rozhodnutí o tom, zda přecházet na reakce v průtoku, rozhodně není jednoduché. Přes všechny úspěchy, které jsou podloženy články z minulých kapitol, má průtoková chemie své limity. Mezi její další přednosti však patří napojení analýzy IR nebo Ramanových spekter, které se používají pro analýzu v průtoku. [29, 31,32]

Závěrem kapitoly pokládám za vhodné zmínit poznatek z článku od Newby *et al.,* který poměrně věcně připomíná, že účelem průtokové chemie rozhodně není upřednostnit průtokové reaktory před vsádkovými. Průtočná chemie by neměla být vnímána jako soupeř vsádkových a jiných reaktorů, ale jako moderní nástroj pro asistenci při syntéze.[10]



Obrázek 8 Základní otázky při rozhodování o volbě reaktoru převzato a pozměněno z [29].

2.2 Hydrogenace

Hydrogenace je reakce vodíku s výchozí látkou zpravidla za přítomnosti katalyzátoru. Často bývá označována jako radikálová adice, v některých případech jako radikálová substituce. Dále je třeba podotknout, že jde o reakci heterogenní, čímž se liší od většiny reakcí v organické chemii. Jedná se o redukci látek, která je například u nenasycených sloučenin (alkenů, alkynů, cykloalkenů) charakterizována adicí molekul vodíku na dvojnou či trojnou vazbu. Ještě přesnějším vyjádřením je tzv. *syn*-adice. Pojmem *syn*-adice značíme to, že se atomy vodíku váží na atomy uhlíků ze stejné strany, a dochází tak ke stereoselektivitě. V první fázi se vodík absorbuje na katalyzátor, následně se vytvoří komplex s reaktantem a poté dojde k uvolnění redukované látky. Vazba mezi dvěma atomy vodíku je slabá, proto se při sorpci rozděluje na atomy. U aromátů je zapotřebí silnější katalyzátor – například platina nebo rhodium na uhlíku, dále také vyšší teplota i tlak. Katalytická hydrogenace se používá například u redukce aromatických acylhalogenidů nebo u nitrosloučenin. Tento typ redukce je hojně využíván zejména v potravinářském průmyslu pro výrobu nasycených tuků a olejů. [33–35]

Nitro skupinu na aromatickém jádře lze redukovat více způsoby, v této práci se věnuji její redukci pomocí vodíku. Průběh reakce v průtokovém reaktoru je metodou, která je nová ve výrobě farmaceutických látek v Tevě.

2.2.1 Historie a současnost

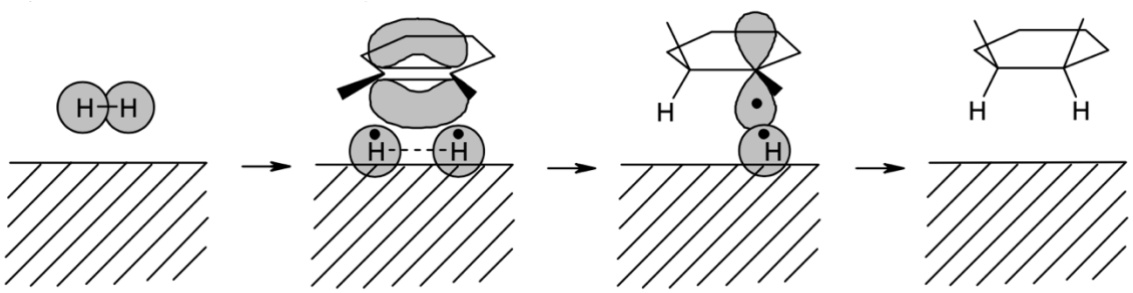
Roku 1897 se začala používat metoda katalytické hydrogenace od Paula Sabatiera s nejpoužívanějšími katalyzátory niklem a mědí. Díky této metodě byly objeveny nové sloučeniny a Sabatier za ni v roce 1912 obdržel Nobelovu cenu. Ovšem od těchto metod bylo později upuštěno, kvůli lepším možnostem hydrogenace. První katalytickou hydrogenaci za zvýšeného tlaku provedl Vladimir Ipatieff. Ten prováděl redukci za přítomnosti železa a oxidů niklu jako katalyzátorů. [34]

Novější pojetí katalytické hydrogenace uvádí dva přístupy, podle kterých je možno redukci provést. Ty se liší ve výši tlaku a teploty. Buď redukce probíhá při nízkém tlaku (1–4 atm) a teplotě do 100 °C, nebo naopak při tlaku vysokém (až 350 atm) a teplotě až do 400 °C. [34]

Zcela novým typem katalytické hydrogenace je redukce prováděná v průtočných mikroreaktorech a dalších průtokových systémech. Tento typ hydrogenace je podrobně rozebrán níže v kapitole *2.2.4*.

2.2.2 Katalyzátory

Hydrogenace se odehrává na povrchu katalyzátoru, kde plynný vodík interaguje s výchozí látkou. Jde o heterogenní katalýzu, kdy katalyzátor je v pevné fázi a reaktanty ve fázi plynné nebo kapalné. V některých případech nemusí být katalyzátor přítomen. V takových situacích je ale nutné několikanásobně zvýšit teplotu, neboť aktivační energie je velmi vysoká. Pro lepší představu o hydrogenaci je zde uveden obrázek s detailním popisem této reakce (obrázek 9). U aromátů je potřebná vyšší teplota a tlak i při použití katalyzátorů. [33,34] Redukci nitrosloučenin se budu věnovat v následující kapitole.



Obrázek 9 Mechanismus hydrogenace nenasycených sloučenin, převzato a upraveno z [35].

Katalyzátory pro tento typ redukce jsou vybírány podle jejich hydrogenační aktivity, tedy podle toho, jak moc dokáží snížit aktivační energii. Pro katalytickou hydrogenaci se jako katalyzátor užívají především paladium, platina, rhodium, ruthenium, nikl a Raney nikl. Hydrogenační aktivita klesá v pořadí Pd > Pt > Ni a Co > Cu > Fe. Mimo kovy se používají také oxidy kovů – ZnO, Cr_2O_3, WO_3 nebo sulfidy WS_2, NiS. Provádění hydrogenačních aktivit oxidů a sulfidů je mnohonásobně snazší. Aktivní látka je nanesena na nereaktivní nosič (Al_2O_3, aktivní uhlí, křemelina). Všechny přechodné kovy jsou schopné vodík aktivovat, avšak jejich hydrogenační potenciál je významně nižší než u výše zmiňovaných.[36]

Platina se řadí k vzácným kovům, což má přirozeně za následek i její vyšší cenu. K hydrogenaci většiny sloučenin se používá PtO_2, známý jako Adamsův katalyzátor, který je při prvním hydrogenačním kroku konvertován na platinu. Mezi výhody platinového katalyzátoru lze zařadit redukci aromátů a alifatických ketonů. Hlavní slabinou platiny je však její vysoká reaktivita, která často vede k hydrogenačnímu štěpení. Nosičem platiny je nejčastěji aktivní uhlí. [33, 34]

Palladium je svými vlastnostmi velmi blízké platině a rovněž patří k ekonomicky náročnějším možnostem při volbě katalyzátoru. Používá se k redukci sloučenin ve formě

PdO. Nosičem palladia může být aktivní uhlí, $CaCO_3$ nebo $BaCO_3$. Tento katalyzátor je vhodné použít při práci ve velmi kyselém nebo zásaditém prostředí. Za zmínku jistě stojí i to, že palladiové katalyzátory neredukují karboxylové skupiny. [34]

Dalším z velmi rozšířených katalyzátorů je nikl, který je univerzální a je používán při laboratorní i průmyslové produkci. Speciální formou vysoce aktivního niklu je Raney nikl, který se navíc skládá z hliníku a hydroxidu sodného. Niklové katalyzátory mohou být použity pro redukci většiny sloučenin, který je hojně užíván nejen v laboratořích, ale také ve velkovýrobě. [34]

U katalyzátorů hodnotíme jejich aktivitu, selektivitu, životnost a odolnost při používání. Můžeme k nim přidat určitý typ látek pro zlepšení jejich aktivity nebo k jejich stabilizaci. Látkám, které stabilizují aktivní fázi, říkáme modifikátory. Inhibitory katalyzátor inhibují, čímž mohou ovlivnit selektivitu reagujících látek, a naopak látky zvané aktivátory pomáhají potencovat jejich reaktivitu. Vlastnosti katalyzátorů se odvíjejí od jejich výroby. Příklady jsou katalyzátory srážené, impregnované, tavené, redukované a sušené. [36]

2.2.3 Redukce nitrosloučenin – mechanismus reakce

Redukovat nitrosloučeniny můžeme více způsoby, vždy však záleží na prostředí, ve kterém reakci provádíme a na zvolené metodě. Redukcí vzniká nejdříve nitroso skupina, následně hydroxylamin a nakonec amin (schéma 1). [35] Pokud bychom použili železo a kyselinu chlorovodíkovou, jednalo by se o Béchampovu reakci.

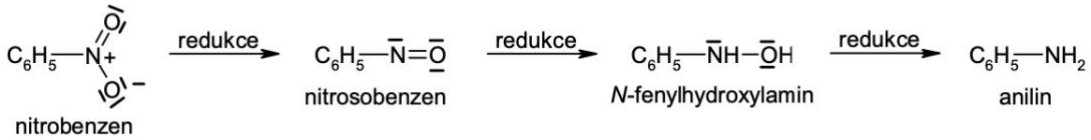


Schéma 1 Mechanismus redukce nitroskupiny, převzato z [35].

Redukce nitrosloučenin může probíhat buď pomocí kovů (např. zinku, železa) v kyselém prostředí, nebo prostřednictvím již několikrát zmiňované katalytické hydrogenace. Nejpoužívanějším katalyzátorem je železo, díky jeho cenové dostupnosti.

Redukce často probíhají ve vodném nebo alkoholovém prostředí s patřičnou kyselinou. U hydrogenace nitroarylů dochází také ke vzniku azoxy, azo, hydrazo popřípadě diazo derivátů, které vznikají z vedlejších produktů (schéma 2). S použitím katalytické hydrogenace a správně nastavených podmínek lze zachytit všechny meziprodukty vyjma nitroso meziproduktu. [33, 34]

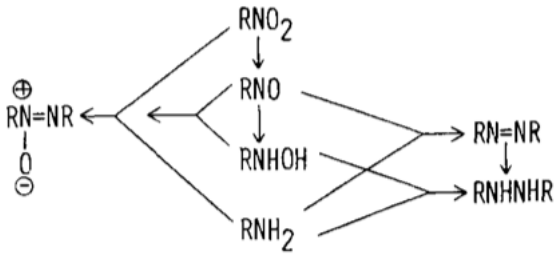


Schéma 2 Vznik nečistot při redukci nitroskupiny, převzato a upraveno z [34].

Pro postup výkonu parciální redukce aromatických nitro sloučenin existuje mnoho návodů, které velmi často vyžadují použití katalytické hydrogenace. Zajímavým příkladem je redukce nitroskupiny na hydroxylamin pomocí zinku. Tato reakce probíhá v závislosti na hodnotě pH. V kyselém prostředí vzniká substituovaný hydroxylamin a při přechodu do prostředí bazického dochází ke vzniku azoxybenzenu. [35]

Jak vyplývá z uvedených odstavců výše, při redukci nitro skupiny na aromatickém kruhu může za specifických podmínek docházet k jeho částečné hydrogenaci.

2.2.4 Rozdíly katalytické hydrogenace v průtokovém a vsádkovém reaktoru – zaměřeno na redukci nitroskupiny

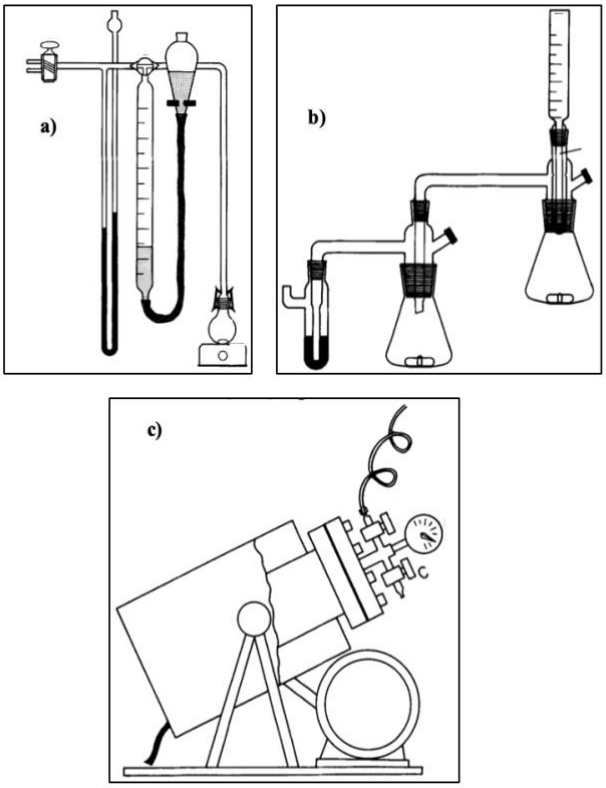
Velmi rozšířenou redukční metodou je katalytická hydrogenace, která je využitelná při redukci alifatických, aromatických nebo heteroaromatických nitrosloučenin. Tento typ hydrogenace je však možné použít i pro redukci mnoha dalších funkčních skupin. I přes možnosti homogenní katalýzy, kdy je katalyzátor ve směsi rozpuštěn, stále převažuje využívání katalýzy heterogenní. Heterogenní katalýza s sebou přináší celou řadu výhod od jednoduché optimalizace reakce, až po možnost redukovat méně reaktivní sloučeniny. Jejími limity jsou samotné reaktory, jednotlivé reakce a obtížně redukovatelné skupiny látek. Tento typ hydrogenace našel své uplatnění nejen při přípravě API, ale také při výrobě agrochemikálií a dalších látek. Jedná se o jednu z nejjednodušších možností redukce aromatických nitrosloučenin na aminy. [37–40]

Katalytická hydrogenace není v průtokových systémech nejnovějším počinem. Ještě modernější jsou průtočné mikroreaktory, které usnadňují práci při vývoji a výzkumu

a zároveň pomáhají při převodu technologické metody do velkovýroby. Další novinkou je změna velikosti částic katalyzátorů, která se nyní pohybuje v řádu nanometrů. [38]

Ke katalýze používáme téměř veškeré dříve zmiňované katalyzátory, ale vhodné jsou i částice zlata. Zlato v některých studiích dosahuje dobrých výsledků, a to díky své vysoké chemoselektivitě. [39]

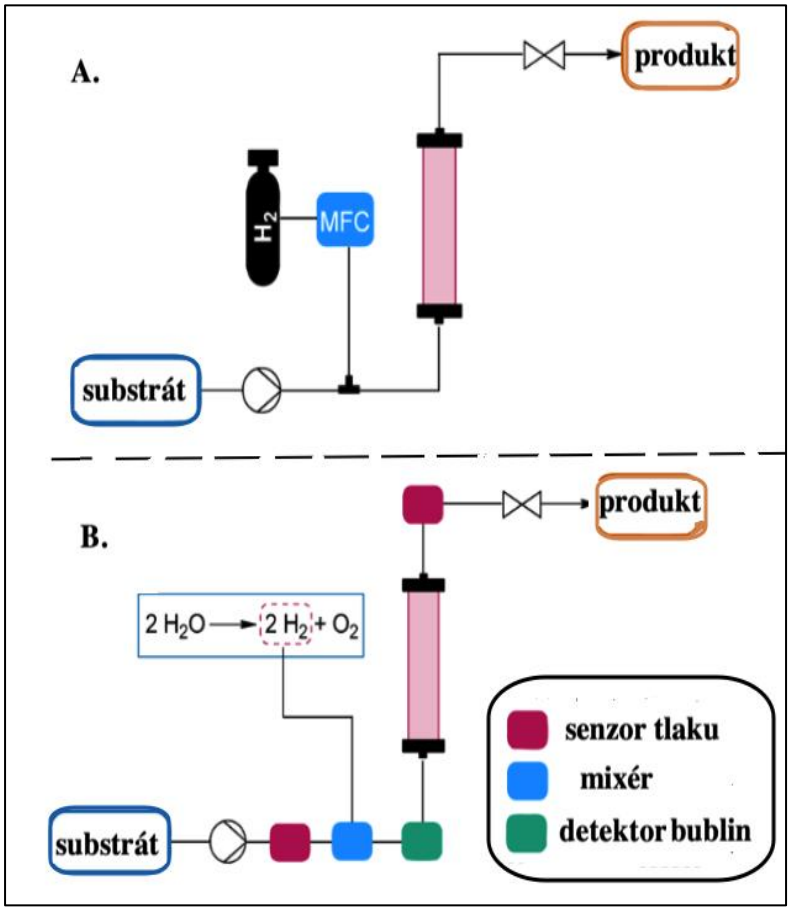
V laboratorním uspořádaní může katalytická hydrogenace probíhat několika způsoby. Pro reakce probíhající za nízkého tlaku je používána aparatura (obrázek 10a) sestávající z baňky, která je připojena na zdroj vodíku a zároveň propojena s dalším rezervoárem tekutiny (např. voda). Další aparatura (obrázek 10b) pro hydrogenaci za atmosférického tlaku se skládá ze dvou propojených Erlenmayerových baněk. V první z nich je rozkladem generován vodík z tetrahydrogenboritanu sodného za přítomnosti kyseliny. V druhé baňce je přítomna sůl katalyzátoru, která je nejprve redukována vodíkem a poté dochází k samotné katalýze reakce. Pro reakce probíhající za vysokého tlaku je nutné použít speciálně upravený reaktor s tlakovým vodíkem (obrázek 10c), který dokáže pracovat až s hodnotami do 350 atm. U tohoto reaktoru musí být zaručeno míchání a kontrola teploty. [34]



Obrázek 10 Možnosti katalytické hydrogenace ve vsádkovém reaktoru, převzato a upraveno z [34].

Katalytická hydrogenace v průtokových reaktorech probíhá nejčastěji s heterogenním katalyzátorem uloženým v cartridge. Tento typ reakce je pro redukci nejpoužívanější metodou. Jedná se o vícefázový systém plyn/kapalina/pevná látka. [1, 41]

V průtočných systémech lze redukovat celou řadu funkčních skupin, mezi které řadíme nitrily, azdidy, karbonylové a nitrosloučeniny. Používají se především dvě metody, které se od sebe liší generováním vodíku do reakce. U první metody (obrázek 11A) jde o generování vodíku z vodíkového cylindru. Druhý přístup (obrázek 11B) se liší tím, že vodík je generován elektrolýzou vody. Druhá sestava, na rozdíl od té první, obsahuje senzor tlaku, mikromixér a bublinový detektor. [1]



Obrázek 11 Ilustrace hydrogenačních průtokových systémů, převzato a upraveno z [1].

Demonstrací toho, že průtokové mikroreaktory nacházejí své uplatnění při redukci aromatických nitrosloučenin, jsou studie od Kappe a kolektivu. První z jejich několika studií se zabývá redukcí nitroarenů pomocí hydrazinu a železitých chloridů a oxidů, kde využívali nanočástice těchto sloučenin. S takto nastavenými podmínkami dosáhli

výborných výsledků. Kupříkladu redukce heterocyklických sloučenin s nitroskupinou přesahovaly 95 %. [38,43]

Skupina Kappe a spol. pracovala také na výrobě linezolidu a tizanidinu, za přítomnosti hydrazinu. Katalyzátorem byl zmíněný hydrazin s koloidními nanočásticemi železa, které se dají lehce recyklovat pomocí magnetické separace. Nanokrystaly oxidu železa vznikají *in situ* a působí velmi spolehlivě. Tato skupina vědců prováděla reakci nejprve ve vsádkovém reaktoru, kde fungovala spolehlivě. Následně byl však kvůli vyšší bezpečnosti doporučen převod do kontinuální výroby. Reakce je unikátní také díky tomu, že se u ní nepoužívá plynný vodík, což ji činí ještě bezpečnější. [38,44]

Další redukcí, kterou Kappe *et al.* prováděl, je redukce nitro skupiny na látce ze skupiny dihydropyrimidinů. Využívali k tomu zařízení H-Cube od ThalesNano, které je podobné tomu, jež bylo použito i při mé práci. Katalyzátorem bylo palladium na uhlíku s pomocí plynného vodíku. Výtěžky se pohybovaly okolo 91 %.[45]

Redukcí nitroarenů se zabýval také Try a kolektiv, který uskutečnil v průtočných mikroreaktorech H-Cube redukci nitroskupiny na amino sloučeniny s výtěžky 92 %, a to opět za použití palladia na uhlíku a vodíku. Redukce nitroskupiny na aromatickém jádře prováděné v průtokovém reaktoru, které jsou předmětem zkoumání této práce, hrají kritickou roli ve farmaceutickém průmyslu. K hydrogenaci těchto sloučenin je používáno více druhů katalyzátorů, velmi často pak palladium na uhlíku. [42, 46, 47]

Pro tento typ reakcí se začínají používat také nanočástice zlata, které zaručují výbornou chemickou selektivitu. [38]

3 Cíl práce

Hlavním cílem mé práce je zredukovat funkční nitro skupinu v molekule nového cytostatického léčiva na skupinu aminovou. Dalším z cílů je parametrizovat reakci pro nejlepší profil nečistot. Posledním cílem je porovnat přípravu a celkově shrnout rozdíly mezi metodou přípravy ve vsádkovém a v průtokovém reaktoru.

Práce tedy hledá odpovědi především na tyto otázky: *Jaké jsou vhodné podmínky pro průběh redukce a minimální zastoupení nečistot? Existuje ideální katalyzátor pro průběh reakce? Je tato metoda přípravy výhodnější, než příprava ve vsádkovém reaktoru? Je možné uvažovat o velkovýrobě dané látky pomocí průtokového reaktoru?*

4 Experimentální část

4.1 Testované látky

4.1.1 Výchozí látka (nitro-aromatický karbamát, *R-05*)

Výchozí látkou je nitroaromatický karbamát žluté barvy. Jedná se o slabě bazický amin s nitroskupinou na aromatickém jádře. Z důvodu ochrany dat zde nemohu konkretizovat veškeré funkční skupiny, které daná látka obsahuje. Molekuly, o kterých práce pojednává, jsou vyobrazeny v reakčním schématu (schéma 3). Manipulování s touto látkou bylo prováděno v rukavicovém boxu.

4.1.2 Produkt (amino-aromatický karbamát, *R-01*)

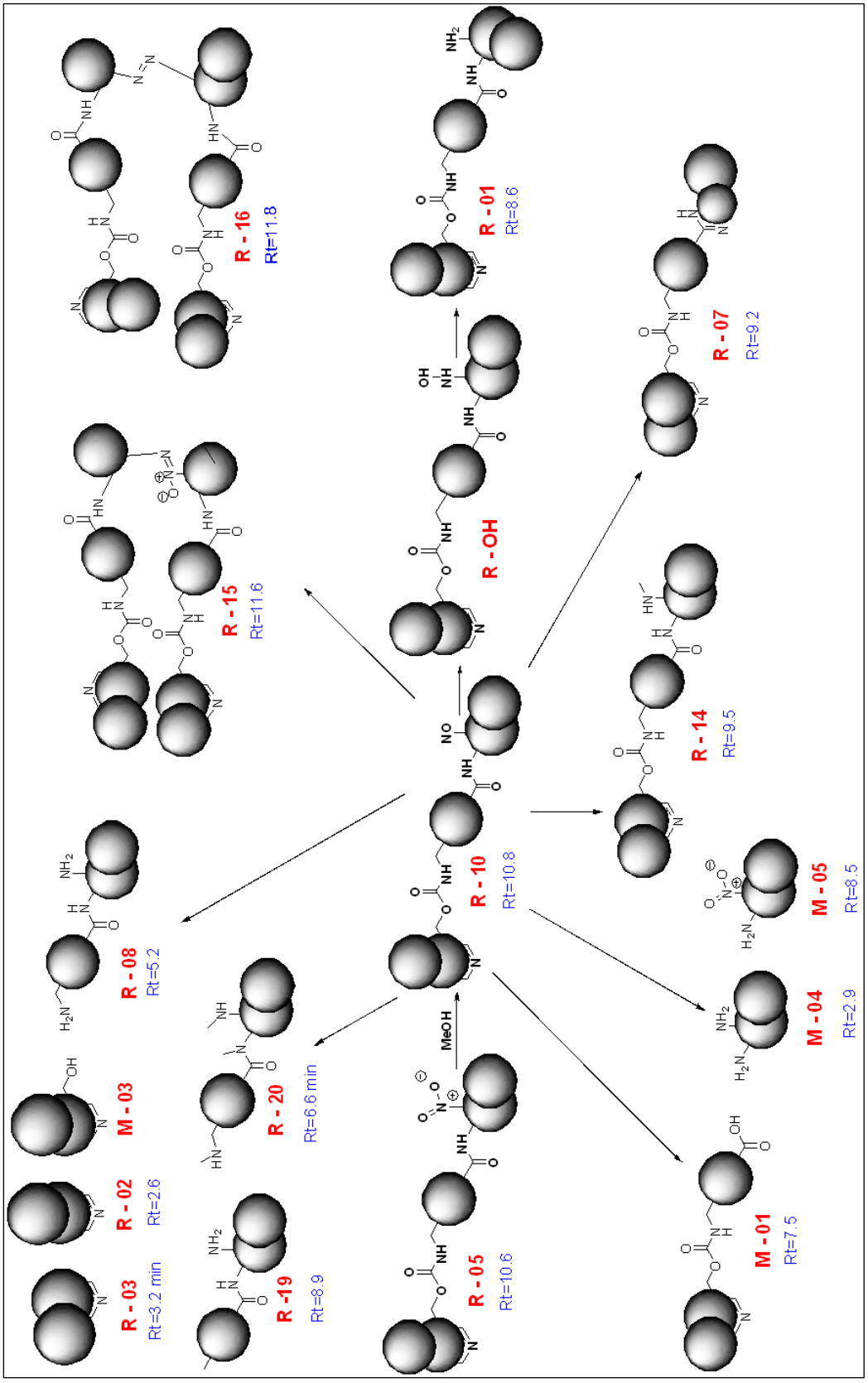
Produktem reakce je amino-aromatický karbamát bílé barvy. Jedná se o cytostatikum, které je prozatím ve fázi klinického testování, pro léčbu různých typů karcinomů (zejména karcinomy ovarií). Z důvodu ochrany dat opět nelze uvést přesné struktury dané látky, proto jsou některé reakční skupiny v reakčním schématu 3 cenzurovány.

4.1.3 Reakční schéma, profil nečistot

Reakční schéma 3 znázorňuje mechanismus reakce a redukci nitro skupiny na aromatickém jádře *(R-05)* na amino skupinu *(R-01)*. Popis mechanismu reakce se nachází v kapitole *2.2.3*.

V reakčním schématu jsou dále znázorněny vznikající nečistoty během reakce. Nejčastěji jde o štěpení esterových vazeb, ke kterým často dochází změnou pH prostředí. Dále si lze povšimnout vzniku azosloučenin a v neposlední řadě také vzniku cyklických molekul. Kritickými nečistotami jsou *R-07, R-08, R-10, R-15 a R-16*, které nelze snadno odstranit pomocí krystalizace (na rozdíl od jiných nečistot). Při našem experimentování jsme se také setkávali s nově vznikajícími nečistotami, které jsme identifikovali pomocí hmotnostní spektrometrie. Nové nečistoty většinou vznikaly při změně podmínek nebo díky reakcím s rozpouštědly.

Schéma 3 Reakční schéma a přehled nečistot s HPLC retenčními časy



4.2 Rozpouštědla

Základním rozpouštědlem pro výchozí látku byl metanol, který jsme používali velmi často i v kombinacích s dalšími rozpouštědly. Podle tabulky rozpustnosti výchozí látky (tabulka 1), byla vyzkoušena tato rozpouštědla: dichlormethan (DCM), tetrahydrofuran (THF), aceton, dimethylformamid (DMF), dále také kyselina octová.

Nejlepší rozpustnost byla zaznamenána u DMF a podobně také u DCM. V DMF bylo možno dosáhnout vyšší koncentrace, bohužel u tohoto rozpouštědla docházelo zároveň k otravě katalyzátoru během reakce, kdy produkt byl zabarven do černa, proto jsme s DMF dále nepracovali.

Dobrá rozpustnost v nižších koncentracích byla zaznamenána také u metanolu a acetonu. Pro zvyšování rozpustnosti byla směs zahřívána na teplotu 40–50 °C.

Celkem obstojně se výchozí látka rozpouštěla i v kombinaci metanolu s přídavkem kyseliny chlorovodíkové (HCl). Rozpouštění látky *R-05* v THF je možné za laboratorních podmínek do koncentrace 16 mg/ml.

Tabulka 1 Rozpustnost výchozí látky *(R-05)*

Navážka:	10 mg	Látka: *R-05*	-
Č.:	Rozpouštědlo	Množství rozpouštědla (µl)	Rozpustné (ano/ne)
1.	DCM	200	ano
2.	THF	800-1500	ne (opalescence)
3.	Metanol	1500	ne (opalescence)
4.	Aceton	600	ano
5.	Etanol	1500	ne
6.	DMF	30	ano
7.	H_2O	1500	ne

Vhodná rozpouštědla pro produkt byla poskytnuta firmou Sigma-Aldrich s.r.o. Rozpustnost jsme zkoušeli také kvůli následné krystalizaci produktu. Veškerá data o rozpustnosti produktu jsou zaznamenána v tabulce 2.

Tabulka 2 Rozpustnost produktu *(R-01)*

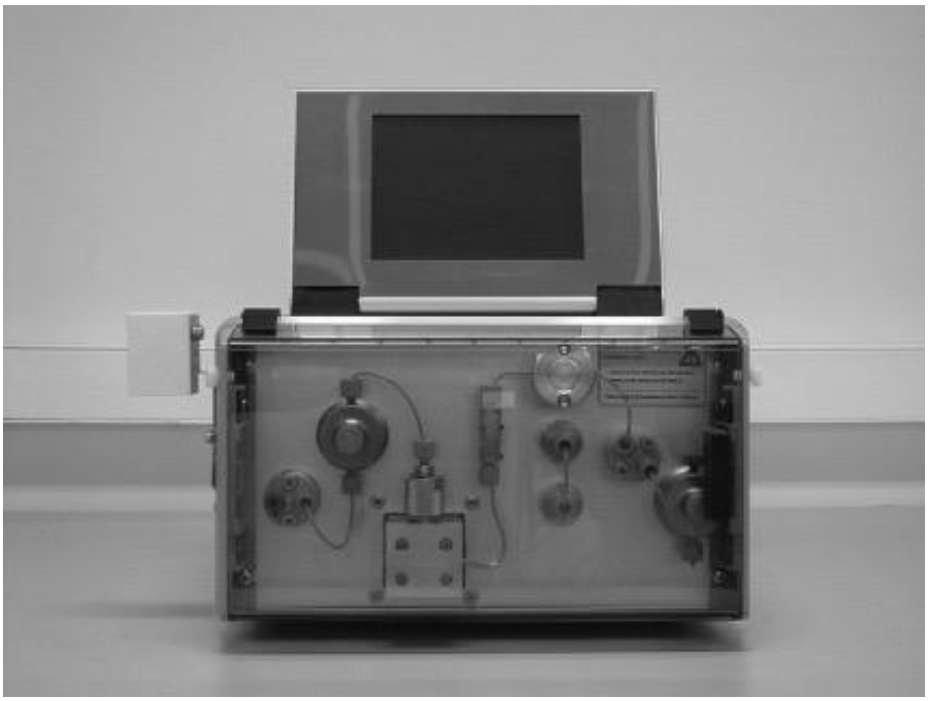
Navážka:	10 mg	Látka: *R-01*	-
Č.:	Rozpouštědlo	Množství rozpouštědla (µl)	Rozpustné (ano/ne)
1.	DCM	1500	ne
2.	THF	1500	ano
3.	Metanol	1000	ano
4.	Aceton	1500	ne
5.	Etanol	1500	ne
6.	DMF	40	ano
7.	H_2O	1500	ne

4.3 Specifikace použitého zařízení

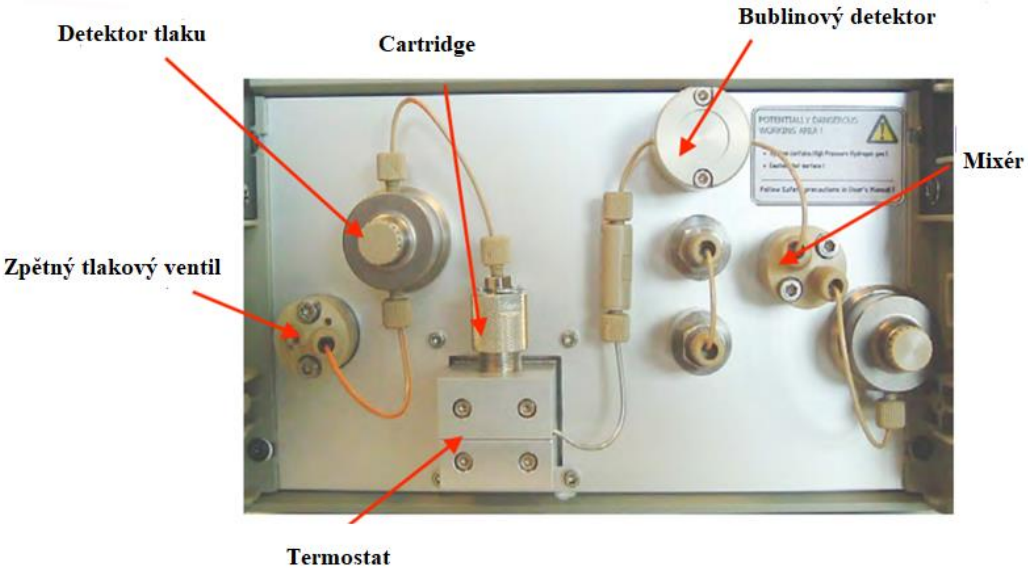
4.3.1 H-Cube systém

Jedná se o průtokový reaktor H-Cube firmy ThalesNano (obrázek 12), který generuje vodík elektrolýzou deionizované vody. Další nezbytnou součástí pro hladký průběh reakce je katalyzátor. Detailní popis reaktoru je uveden u obrázku 13.

Tento typ reaktoru je koncipován především pro nitro redukce, adice alkenů a alkynů, N– a O–debenzylace, nitrilové redukce, adice na heterocykly, iminové redukce, desulfurizace a dehalogenace.

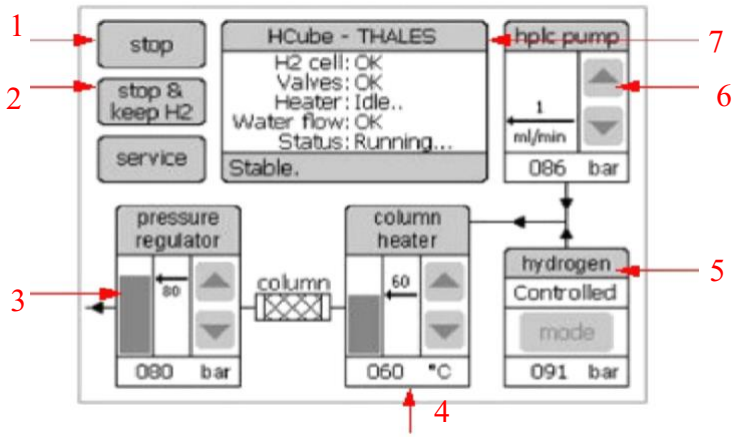


Obrázek 12 Průtokový reaktor H-Cube, převzato a upraveno z [48].



Obrázek 13 Vyobrazení jednotlivých části průtokového reaktoru H-Cube, převzato a upraveno z [49].

Většina parametrů byla nastavena přes dotykový panel reaktoru, který je možné vidět na obrázku 14. H-Cube obsahuje mimo jiné termostat, ve kterém bývá umístěn katalyzátor. Pro lepší reprodukci výsledků, jsme si teplotu kontrolovali sami. Pro kontrolu teploty jsme cartridge s katalyzátorem umístili do vodní nebo etanolové lázně



Obrázek 14 Dotykový displej průtokového reaktoru H-Cube. 1 – zastaví celou soustavu a vypustí vodík, 2 – zastaví čerpadlo, ale ponechá si v zásobě vygenerovaný vodík, 3 – hodnota tlaku na zpětném tlakovém ventilu, 4 – teplota na katalyzátoru, 5 – tlak generovaného vodíku, 6 – tlak čerpadla, 7 – hodnoty jednotlivých parametrů, převzato a upraveno z [49].

4.3.2 Tlakové režimy v H-Cube

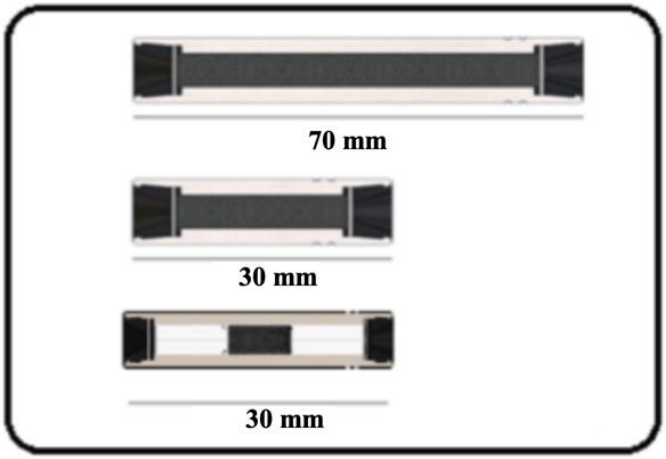
Mezi hlavní nastavované parametry patří tlak generovaného vodíku. V nabídce jsou tři režimy. *Kontrolovaný režim* nastaví hodnotu tlaku generovaného vodíku v zásobníku o 7 barů vyšší, než je tlak reakčního systému. Vodík je do mixéru připouštěn při tlaku systému od 10 až do 100 barů. Dalším režimem je tzv. *full* H_2 režim bez tlakového omezení. Veškerý vodík, který je v tomto režimu vygenerován, je následně vypouštěn do reakce. Třetí režim *No* H_2 umožňuje průběh reakce bez přítomnosti vodíku.

4.3.3 Teplota

Jak již bylo zmíněno v úvodu kapitoly (4.3.1), termostat reaktoru jsme nepoužívali, neboť jsme chtěli získat co nejpřesnější teplotní údaje. Z toho důvodu jsme umístili cartridge do vodní nebo etanolové lázně s teploměrem, ze kterého jsme teplotu odečítali. Tento postup nám také umožnil teplotou snižovat i zvyšovat podle potřeby.

4.3.4 Katalyzátory

Tato podkapitola uvádí přehled katalyzátorů, které byly použity při této práci. Jedná se o originální katalyzátory od firmy ThallesNano. Velikosti používaných cartridge pro katalyzátory uvádí obrázek 15.



Obrázek 15 Velikosti používaných cartridge, převzato a upraveno z [50].

Seznam použitých katalyzátorů je uveden v tabulce 3. Při práci jsme také připravovali vlastní platinový katalyzátor (kapitola 4.8.1). Používali jsme cartridge o velikosti 30 a 70 mm s vnitřním průměrem 4 mm.

V této práci byla velikost částic všech použitých katalyzátorů stejná, a to 40–100 µm. Standartní velikost cartridge při laboratorní přípravě je 30 × 4 mm, která pojme okolo 140 mg katalyzátoru. [47]

Tabulka 3 Přehled použitých katalyzátorů firmy ThalesNano.

10% Pd/C
Raney - Ni
10% Pt/C
2.5% Pt/C + 2.5% Pd/C
10% Pd/Al_2O_3

4.3.5 Čerpadlo

Rychlost průtoku jsme byli schopni navolit díky HPLC čerpadlu které pracuje v rozmezí od 0,1 ml/min do 10,0 ml/min. Tlak čerpadla se zobrazuje na displeji reaktoru, který by potenciálně mohl signalizovat problém roztoku *R-05* ještě před započetím samotné reakce. V případě, že by byl roztok *R-05* nehomogenní, došlo by k nárůstu tlaku, či dokonce k ucpání kapiláry.

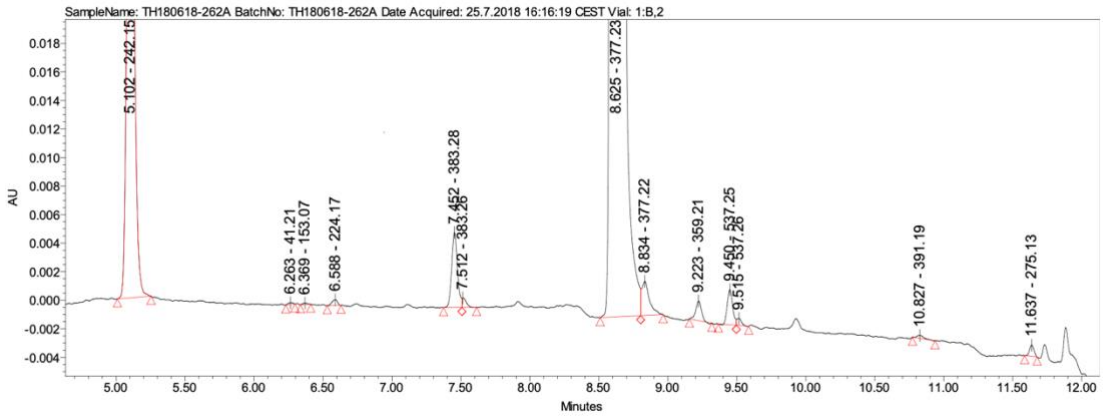
4.3.6 TLC a HPLC analýza

TLC analýza byla prováděna na skleněných deskách firmy Merck. Stacionární fází byl Silikagel 60 F_{254} a mobilní byla vždy směs acetonu a toluenu v poměru 4:6 v/v. Vzorky jsme nanášeli pomocí skleněné kapiláry. Po vyvíjení byly destičky analyzovány pod UV (254 nm) a podle výsledků byly vzorky následně analyzovány pomocí HPLC.

HPLC analýzu prováděli u vybraných vzorků v metanolu (c=1 mg/ml) pracovníci analytického oddělení firmy Teva Czech industries s.r.o v Opavě. Pro ilustraci je níže uveden jeden z HPLC chromatogramů (obrázek 16). Procentuální zastoupení látek je vyjádřeno pomocí rovnice 6.

$$A[\%] = \frac{plocha\ píku}{\sum plocha\ všech\ píků}$$

Rovnice 6 Výpočet pro zjištění procentuálního zastoupení jednotlivých látek v produktu.



Obrázek 16 Příklad HPLC chromatogramu látky 262A, která byla následně analyzována pomocí LC-MS, kvůli většímu zastoupení nečistot.

4.4 Vyhodnocení výsledků

Vyhodnocení výsledků probíhalo v tabulkách Microsoft Excel od MS Office a za pomoci programu JMP 14.0.0 ® a 15.0.0 ®.

4.5 Příprava vzorku

Každý roztok byl připraven rozpuštěním v příslušném rozpouštědle za zvýšené, nebo laboratorní teploty. V každé kapitole, která uvádí výsledky jednotlivých experimentů, je vždy přesně specifikováno, jak byl roztok připraven.

Obecně byla výchozí látka navážena v rukavicovém boxu a následně rozpuštěna v daném objemu rozpouštědla. Poté byl roztok přesunut do digestoře a nasáván kapilárou do průtokového reaktoru. Pokud bylo třeba a objevila se opalescence, bylo nutné roztok zahřívat na teplotu kolem 40–50 ºC. Jakmile byla reakční směs takto připravena, zahájili jsme reakci pomocí ovládacího panelu na reaktoru za současného zapnutí čerpadla, které výchozí roztok čerpalo do průtokového systému. V průběhu reakce byly odebírány jednotlivé vzorky, které jsme označili šarží a následně odeslali k HPLC analýze

4.5.1 Průběh reakce v průtočném reaktoru

Výchozí látka je pomocí čerpadla uvedena do průtokového systému, kde *R-05* dále putuje skrz kovové kapiláry o průměru 0,5 mm do mixéru, kde se mísí s vodíkem. Po smísení reaktantů pokračuje směs ke katalyzátoru v cartridge, kde probíhá hydrogenace. Po reakci na katalyzátoru je produkt odváděn skrz další detektor tlaku. Dále putuje do poslední komponenty reaktoru, kterou je zpětný tlakový ventil. Princip jeho

fungování byl vysvětlen v teoretické části v kapitole *2.1.6.* Následně již produkt vytéká do sběrné baňky.[48]

Krystalizace probíhala u jednotlivých reakcí specificky a bližší postup je vždy v příslušné kapitole rozveden. Po krystalizaci vždy následovala filtrace za použití Büchnerovy nálevky v rukavicovém boxu.

4.5.2 Průběh reakce ve vsádkovém reaktoru

Níže je uvedena modelová redukce látky *R-05* ve vsádkovém reaktoru, jež je v závěru porovnána s nejlepšími výsledky, které jsme získali hydrogenací v průtokovém reaktoru. Touto metodou jsme látku nepřipravovali, pouze jsme obdrželi záznamy o tom, jak reakci prováděli vývojový chemici opavské Tevy.

Výchozí látka (10 g) byla rozpuštěna v metanolu (100 ml) a jako katalyzátor posloužila 5% platina na uhlíku (300 mg). Tato suspenze byla v baňce přesunuta do autoklávu, kde se zahřívala na teplotu 50 ºC při tlaku v rozmezí 2–5 barů. Po 3,5 hodinách byla reakce ukončena a vzorek produktu po naředění metanolem (1 mg/ml) odeslán na analýzu HPLC. Reakční směs byla následně filtrována přes Büchnerovu nálevku za sníženého tlaku a dvakrát promyta 5 ml metanolu. Následně byla pomalu přikapávána destilovaná voda (110 ml), přičemž docházelo k okamžité krystalizaci. Neustálé míchání této směsi pokračovalo 30 minut a další půlhodinu se směs chladila. Poté došlo k odfiltrování krystalů, které byly promyty směsí metanolu a vody v poměru 1:1 (2 × 20 ml). Nakonec následovalo sušení látky zhruba po 48 hodin ve vakuové sušárně umístěné v rukavicovém boxu. Výtěžek byl 84 %, a po HPLC analýze je složení produktu následující – **R-01: 98,23 %, R-07: 0,18 %, R-08: 0,23 %, R-15: 0,94 %.** [51]

4.6 Testované parametry

Mezi hlavní testované parametry patří teplota (4 – 70 ºC), tlak vodíku v systému (10 – 90 bar), rychlost průtoku soustavou (0,1 – 10,0 ml/min) a v neposlední řadě také koncentrace výchozí látky v roztoku (1 – 42 mg/ml). Všechny parametry jistým způsobem ovlivňovaly profil nečistot i výtěžek.

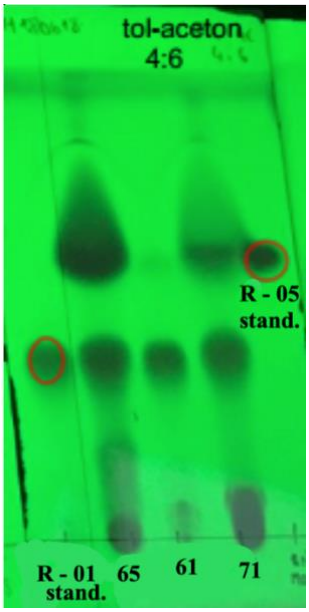
5 Výsledky a diskuse

5.1 Experimenty s různými druhy katalyzátorů kromě Pt/C

5.1.1 Pd/Al_2O_3

Prvním vyzkoušeným katalyzátorem bylo palladium s oxidem hlinitým jako nosičem. Tuto kombinaci jsme vybrali kvůli použití jiného nosiče, než jsme dosud byli zvyklí (většinou se pracuje na uhlíku).

Prováděli jsme experimenty při koncentraci 5 mg/ml v metanolu a 25 mg/ml ve směsi metanolu a kyseliny octové. Systémový tlak jsme nastavovali pomocí kontrolovaného režimu na 10 anebo 40 barů. Teplota byla zkoušena v rozmezí 10 °C – 50 °C a rychlost průtoku se pohybovala od 0,25 ml/min do 3 ml/min. Ještě před analýzou HPLC vybraných vzorků jsme prováděli analýzu TLC (obrázek 17).



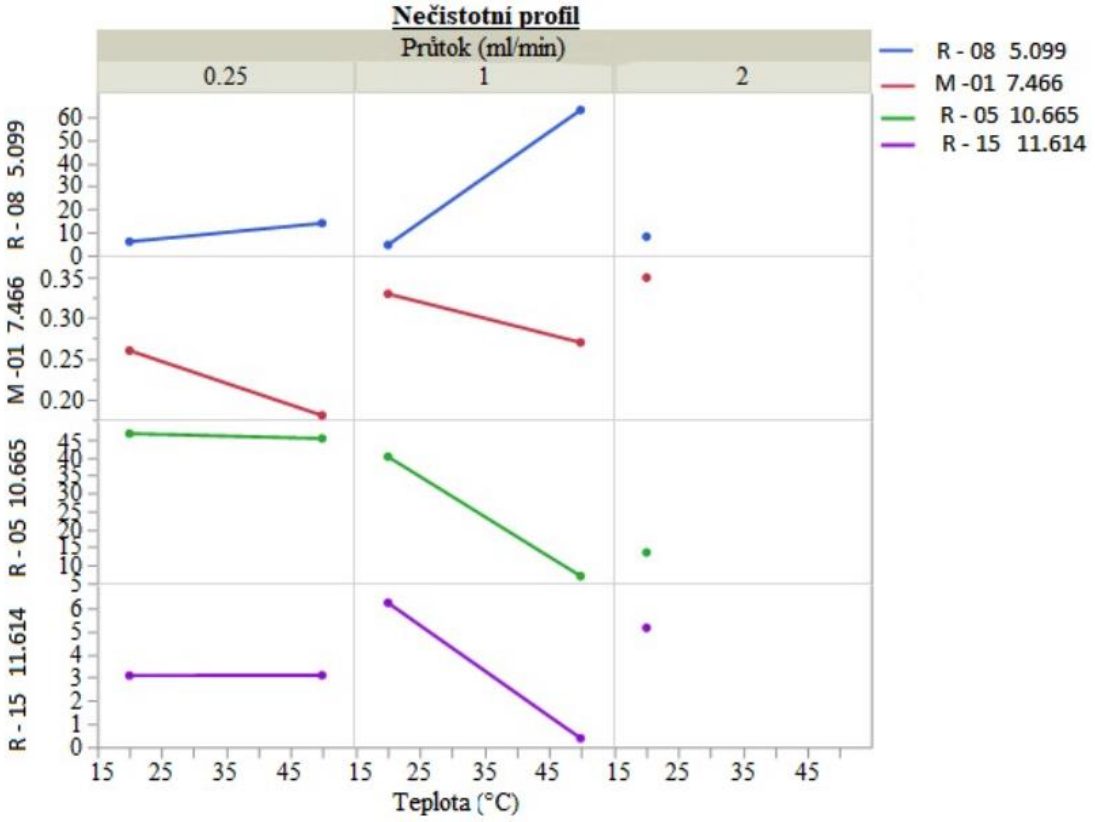
Obrázek 17 TLC chromatogram vzorků 61, 65, 71 v porovnání se standardy *R-05* a *R-01*.

Diskuze:

Při koncentraci 25 mg/ml nebylo dosaženo úplné konverze výchozí látky. Pravděpodobně nejlepší poměr nečistot a produktu byl u vzorku č. 69. Výsledný obsah *R-01* dosahoval průměrně přes 60 % a přítomnost výchozí látky byla průměrně nižší než 14 % u ostatních analyzovaných vzorků. Dalším vypozorovaným jevem za těchto

podmínek, je lepší redukce nitroskupiny při vyšší teplotě. Nečistota *R-08* vzniká z přechodného meziproduktu *R-10*, jak je naznačeno ve schématu 3.

Na obrázku 18 lze vidět profil nečistot vyobrazený pomocí několika závislostí. Jedná se o grafy závislosti teploty na rychlosti průtoku, výsledném procentuálním množství daných nečistot a *R-05*. V tomto případě působí výhodně kombinace průtoku na úrovni 1 ml/min a nastavená teplota kolem 35 °C.



Obrázek 18 Grafy udávající obsah výchozí látky (*R-05*) a kritických nečistot v závislosti na rychlosti průtoku a teplotě.

Lepších výsledků jsme dosáhli s koncentrací 5 mg/ml *R-05* pouze v metanolu, kde v nejlepším případě byla konverze výchozí látky přes 85 %. Hlavní nečistotu představovala *R-08*, jejíž koncentrace dosahovala necelých 16 %. Další nečistoty se krom *R-10*, jejíž koncentrace průměrně přesahovala 1 %, neobjevovaly v množstvích větších než 0,8 %. Bohužel z důvodu vysokého tlaku vodíku (přes 80 barů) jsme dále při těchto podmínkách nepokračovali, kvůli bezpečnosti.

Pokusy s tímto katalyzátorem nezaznamenaly příliš velký úspěch při žádné z testovaných teplot a tlaků. Při opětovném uvažování nad užitím tohoto katalyzátoru by pravděpodobně byla na místě změna režimu tlaku vodíku na *full* H_2, změna koncentrace či použití jiného rozpouštědla.

5.1.2 Pd/C

Pro nevyhovující výsledky s katalyzátorem Pd/Al_2O_3 bylo po důkladném uvážení zvoleno palladium na jiném nosiči (uhlík). Paladium na uhlíku se jevilo jako vhodný katalyzátor, což jsme usoudili na základě dříve prováděných pokusů dr. Holasem.

Zkoušeny byly různé varianty nastavených parametrů, kdy jsme měnili rozpouštědla, jejich poměry, koncentraci *R-05* v roztoku, rychlost průtoku, teplotu a velikosti cartridge.

První sérii experimentů jsme prováděli v metanolu a kyselině octové při koncentraci 25 mg/ml, přičemž jsme obměňovali rychlost průtoku od 0,25 ml/min až do 1 ml/min. Tlak byl nastaven na 10 barů, tedy stejně jako u předchozích pokusů. Po HPLC analýze se však ukázalo, že takto nastavené podmínky bohužel nejsou vhodné pro výrobu dané látky. Konverze *R-05* na *R-01* probíhala jen ve značně omezeném množství a profil nečistot byl velmi rozmanitý.

Při nižším průtoku (0,25 ml/min) a vyšší teplotě (50 °C) byl pozorován snížený obsah azosloučeniny *R-15* Celkově by se dalo říci, že se redukce nezdařila ani částečně, neboť většina výchozí látky (*R-05)* zůstala po průchodu soustavou v nezměněném stavu. Z hlediska konverze bylo v tuto chvíli palladium s Al_2O_3 jako nosičem, kde konverze při stejných podmínkách probíhala alespoň částečně.

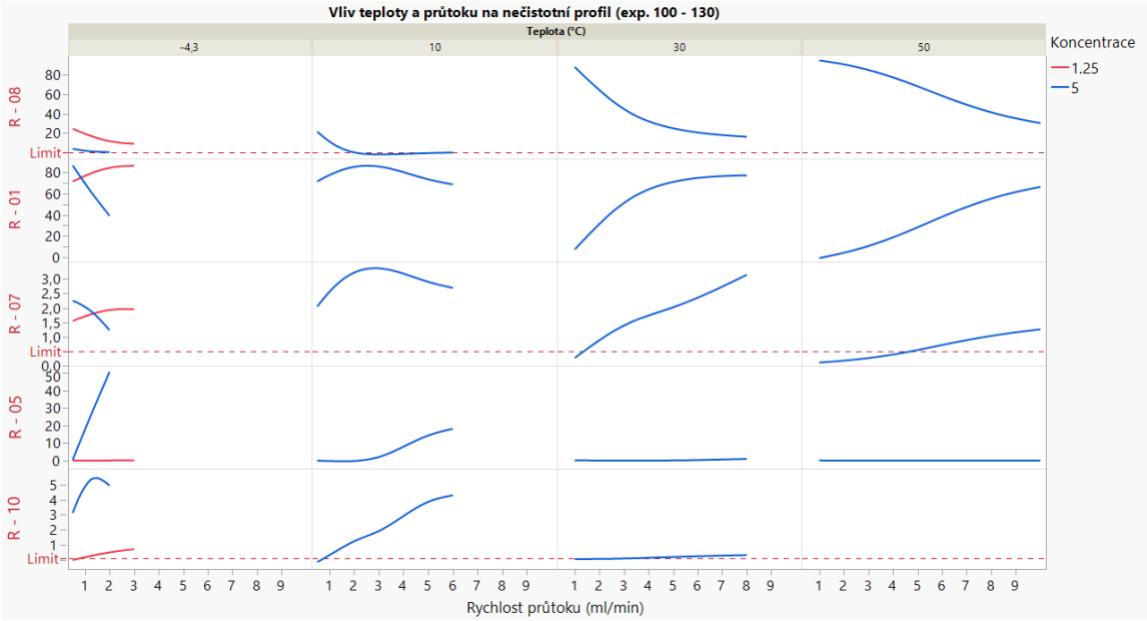
Pro další sérii reakcí jsme zvolili stejnou koncentraci 25 mg/ml *R-05* v metanolu, ale pro zaručení rozpuštění jsme místo octové kyseliny použili 2,1 molárního ekvivalentu 36 % HCl. Tlak zůstal v kontrolovaném režimu při 10 barech. V tabulce 4 jsou podrobně uvedeny nastavené parametry a výsledky z HPLC analýzy. Při takto zvolených podmínkách je zřejmé, že výtěžnost nezávisela na teplotě, jelikož obsah produktu *R-01* se nijak výrazně neměnil (obsah přibližně 35 %). Při sníženém průtoku o více než polovinu byl pozorován mírný procentuální nárůst *R-01*. Poněvadž jsme si nebyli jistí stabilitou vzorků v kyselém prostředí, tak jsme vystupující proud z reaktoru, vzorek č. 90, před odesláním k HPLC analýze zneutralizovali pomocí triethylaminu. Teprve z HPLC výsledků vše nasvědčovalo tomu, že produkt je po reakci v kyselém pH degradován a výsledky mohou být zkreslené. Z tabulky 4 lze také vyčíst, že v čase 8,1 minut se objevila nová významnější nečistota, která zatím nebyla identifikována. Vzorek č. 87 byl proto odeslán k analýze LC-MS k určení struktury neznámé nečistoty.

Nicméně ani tato změna podmínek nevedla k zlepšení. Konverze *R-05* byla průměrně okolo 39 % a profil nečistot byl bohatý. Tuto metodu je tedy opět možno označit za nevhodnou pro výrobu požadované látky *R-01*.

Tabulka 4 Procentuální zastoupení jednotlivých látek ve vzorcích odebíraných v průběhu reakce (vzorky 85 – 90).

10%Pd/C	Šarže	TH180618-85	TH180618-87	TH180618-88	TH180618-89	TH180618-90
ThallesNano cartridge	Režim	kontrolovaný	kontrolovaný	kontrolovaný	kontrolovaný	kontrolovaný
	Systémový tlak (bar)	10	10	10	10	10
	Tlak vodíku (bar)	25	24	24	26	
	Tlak pumpy (bar)	18	10	15	15	
	Tlak zpětného ventilu (bar)	10	6	11	10	
	Poznámka					+20 µl TEA
	Teplota (°C)	**22**	**22**	**50**	**50**	**50**
	Rychlost průtoku (ml/min)	**1**	**0,4**	**1**	**1**	**1**
	Čas odběru vzorku (min)	10	3	2	5	4
R - 03	3,1					
R - 08	5,1	0,99	1,9	29,81	2,92	3,02
R - 20	6,6					
M - 01	7,4					
M - 272	8,1	**2,29**	**3,15**		**1,2**	**1,21**
	8,5	0,7	0,46	0,03	0,09	0,1
R - 01	**8,6**	**30,62**	**39,07**	**56,43**	**33,89**	**35,37**
R - 19	9,0			3,78		
	9,2	0,61	0,75		0,62	0,3
R - 05	**10,7**	**62,33**	**53,77**	**9,4**	**61,2**	**59,89**
R -10	10,8	1,23	0,44	0,52	0,08	0,12
	10,9	0,29	0,21	0,02		
	11,0	0,3	0,15			
R - 15	11,4	0,64	0,1			

Následující sérii pokusů jsme prováděli s koncentrací 5 mg/ml v metanolu. V rámci jednotlivých reakcí byla měněna teplota a rychlost průtoku. Rozpětí nastavené teploty bylo velmi široké – od -4 °C až do 50 °C. Tlak byl ponechán v kontrolovaném režimu při 10 barech. Roztok dále obsahoval 2,1 molárního ekvivalentu HCl pro snazší rozpustnost látky. Koncentrace *R-05* v roztoku byla následně obměněna na 1,25 mg/ml, kvůli snížené teplotě. U koncentrovanějších roztoků docházelo ke krystalizaci při nízké teplotě. Obrázek 19 znázorňuje výsledky HPLC analýzy pomocí grafů. Mezi významně zastoupené nečistoty patří v první řadě látka *R-07*, jejíž koncentrace vzrůstala se zrychlujícím se průtokem. Zprvu se její obsah pohyboval okolo 0,1 %, později už mírně přesahoval hranici 1 %. Další podstatnou nečistotou je *R-08*. Tato látka naopak klesala úměrně se zvyšováním rychlosti průtoku. Při teplotě 30 °C jsme zaznamenali procentuální nárůst produktu *R-01*. Současně se zde však objevila další významná nečistota – látka *R-10 (*c > limit 0,1 %).



Obrázek 19 Grafy udávající obsah produktu, *R-05* a kritických nečistot v závislosti na rychlosti průtoku a teplotě.

Při 50 °C koncentrace látky *R-07* stoupala úměrně se zvyšující se rychlostí průtoku (v rozmezí od 0.2 % do 3 %). Podíl nečistoty *R-08* klesal se zvyšující se rychlostí průtoku až pod 20 %. Nárůst produktu *R-01* se v tomto případě postupně zvyšoval v rámci zrychlujícího se průtoku a jeho konečná hodnota činila přibližně 75 %,

Při teplotě 10 °C (vzorky 117–124) jsme zaznamenali nárůst látky *R-07,* a to zejména při nižších rychlostech průtoku (v některých případech skoro až na 4 %). Naopak nečistota *R-08* zůstávala na nulových hodnotách. Obsah produktu vždy přesahoval 65 %. Z hlediska konverze dopadl nejlépe vzorek č. 120 při průtoku 2 ml/min, kde obsah požadované látky *R-01* činil 86 %. Bohužel však při těchto podmínkách narůstali další nečistoty.

Při teplotě -4,3 °C se nečistota *R-07* se průměrně vyšplhala k 2 %. Podíl látky *R-08* se oproti předchozím podmínkám navýšil, a to průměrně o 8 %. Výchozí látka se redukovala hůře, než tomu bylo v předchozích experimentech (obsah produktu *R-01* byl průměrně 73 %).

Pro nejvyšší výtěžek látky *R-01* je nejlepší teplota 10 °C a rychlost průtoku 2 ml/min. Pozorovali jsme však i nárůst kritické nečistoty *R-07*, jež byla průměrně zastoupena ve 2,5 %.

Z provedených experimentů jsme získali dostatečný přehled o vlivu reakčních podmínek na redukci výchozí látky a také na vznik nečistot. Nicméně podmínky, které

byly nastaveny u těchto reakcí při různých teplotách, nejsou pro výrobu produktu *R-01* vhodné. To kvůli nedostatečnému obsahu látky *R-01,* přílišnému zastoupení ostatních nečistot a dále pro narůstající tlak vodíku při vyšších rychlostech průtoku soustavou. Obsah *R-01* při přípravě ve vsádkovém reaktoru byl přes 98 % a podíl kritických nečistot byl nižší.

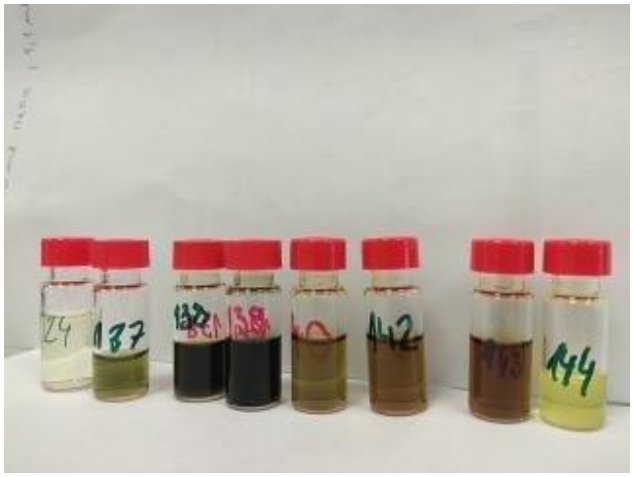
Pro následující sérii reakcí s 10% palladiem na uhlíku byl použit roztok o koncentraci 42 mg/ml v metanolu s přídavkem 1 molárního ekvivalentu 36% HCl. V průběhu byl změněn katalyzátor z 30 mm Pd/C na 70 mm Pd/C. Další změna byla provedena u teploty, kterou jsme zvyšovali z 30 ºC až na necelých 80 ºC. K nižší teplotě jsme se již nevraceli, neboť bychom museli snížit koncentraci *R-05*. Tlak u těchto reakcí zůstal v kontrolovaném režimu 10 barů. Naředění vzorků metanolem bylo provedeno na konci tohoto experimentování a všechny byly odeslány k analýze HPLC. Výsledky analýzy uvádí tabulka 5.

Tabulka 5 Procentuální zastoupení jednotlivých látek ve vzorcích odebíraných v průběhu reakce po HPLC analýze (vzorky 138–144).

10%Pd/C	Šarže	138	138B	139	139B	140	141	142	143	144
ThallesNano cartridge	Režim	kontrolovaný		kontrolovaný		kontrolovaný	kontrolovaný	kontrolovaný	kontrolovaný	kontrolovaný
	Systémový tlak (bar)	10		10		10	10	10	10	10
	Tlak vodíku (bar)	30		62		44	31	27	28	26
	Tlak pumpy (bar)	10		56		37	11	16	21	5
	Tlak zpětného ventilu (bar)	2		10		10	5	10	10	3
	Poznámka	Zředěný ihned	Zředěný vz.138 po 2 hodinách.	Zředěný ihned	Zředěný vz.139 po 2 hodinách.			70 x 4 mm nová Thales-Nano cartridge		
	Teplota (°C)	**30**		**30**		**58,4**	**79,3**	**31,4**	**30,4**	**61,9**
	Rychlost průtoku (ml/min)	**0,5**		1		0,5	0,5	0,5	1	**0,5**
	Čas odběru vzorku (min)	5		5		5	5	5	5	5
R - 08	5,1	0,46	0,46	1,01	1,05	1,11	0,24	0,53	0,32	0,62
M - 272	8,1	0,38	0,40	0,35	0,44	0,11	0,11	2,68	0,93	0,48
R - 01	8,6	**17,78**	**17,93**	**34,46**	**33,05**	**29,78**	**20,45**	**11,02**	**9,22**	**6,95**
	9,2	0,70	0,67	1,00	1,06	1,54	1,58	0,39	0,36	0,57
R - 05	10,7	72,80	73,12	48,56	48,03	65,73	76,99	81,85	84,81	90,86
R - 10	10,8	2,78	2,17	6,95	3,81	1,03	0,34	1,36	1,71	0,34
	11,4	0,41	0,18	0,59	0,45	0,05	0,02	0,18	0,17	0,02
R - 15	11,6	4,69	5,06	7,10	12,11	0,65	0,26	2,00	2,50	0,16

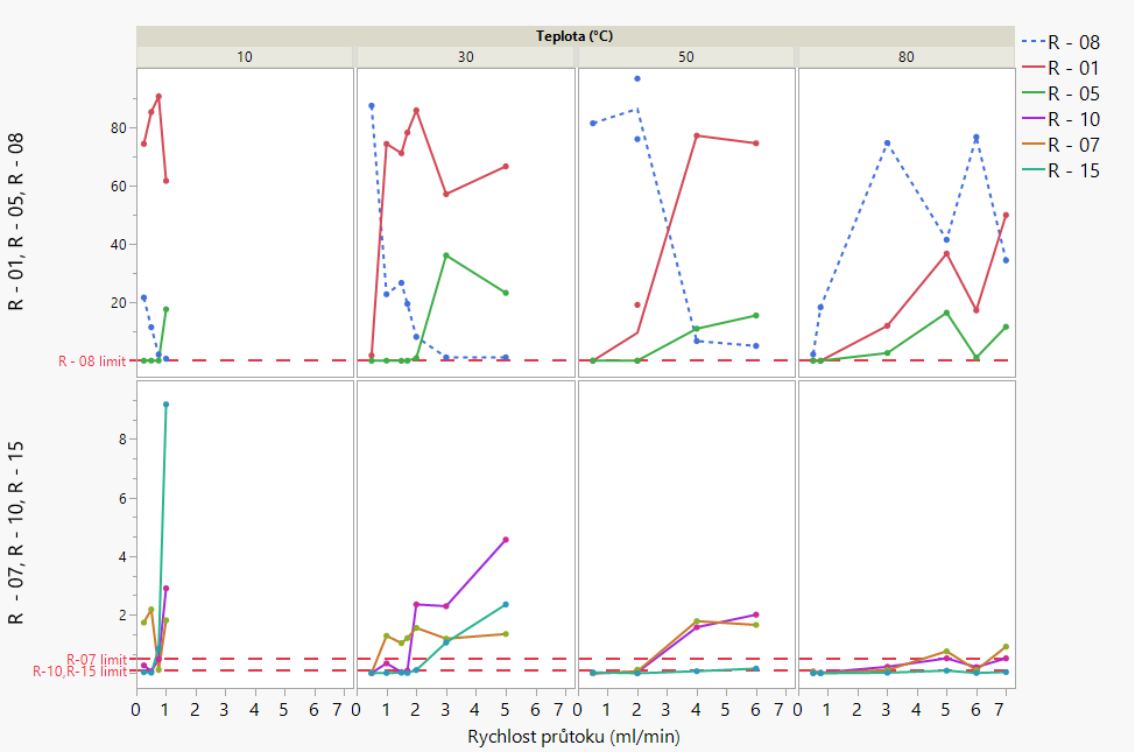
Redukce, která probíhala na 30 mm cartridge (vzorky 138–141), nebyla zcela zdařilá. Konverze probíhala pouze částečně a výtěžnost se průměrně pohybovala okolo 25 %. Z profilu nečistot bylo zřejmé vyšší zastoupení nežádoucích látek. Objevila se zde opět nová nečistota jako v případě použití většího množství katalyzátoru. Také docházelo k eluci látky *R-15* průměrně okolo 5 %. Tato nečistota je hůře odstranitelná než např. *R-08,* což je dáno její strukturou, která ve své molekule obsahuje azoskupinu.

Větší množství katalyzátoru (délka 70 mm) nepřineslo žádnou výraznou změnu. Konverze byla opět kriticky nízká a také docházelo k precipitaci roztoku uvnitř reaktoru, což nás přimělo experimentování při těchto podmínkách ukončit. Alternativně by mohlo být přidáno větší množství kyseliny chlorovodíkové, aby vznikla stabilnější sůl. To by ovšem znamenalo vyšší nárůst *R-07* a dalších. U vzorků č. 138 a 139 byla provedena opětovná analýza HPLC (po 24 hod.), neboť dalším problémem bylo to, že po zhruba 2 hodinách tyto vzorky ve vialkách zčernaly (obrázek 20).



Obrázek 20 Odebrané vzorky (124–144) po 24 hodinách při laboratorních teplotě.

Poslední experimenty s tímto katalyzátorem (vzorky 145–168) byly provedeny za následujících podmínek – roztok *R-05* v metanolu byl okyselen 1,5 ekvivalentem 36% HCl (c= 20 mg/ml); teplotní rozmezí (10 – 80 °C); rychlost průtoku (0,25 - 7 ml/min); poprvé za celou dobu experimentování byl změněn tlak systému na režim *full* H_2. Tento režim neomezuje tlak vodíku, který je vytvářen elektrolýzou z deionizované vody, ale všechen jej vypustí do mixéru, kde reaguje s výchozí látkou. Díky tomuto procesu jsme dosáhli lepších výsledků než při kontrolovaném režimu tlaku vodíku. Výsledky experimentů ukázaly, že konverze a profil nečistot jsou striktně závislé na rychlosti průtoku a teplotě. Obrázek 21 vyobrazuje grafy těchto závislostí. Z hlediska výtěžnosti reakce dopadly velmi zdárně experimenty prováděné při 30 ºC. Dále jsme pozorovali kompetitivní reakce při vyšší rychlosti průtoku. Při nízké rychlosti průtoku dochází ke štěpení karbamátové skupiny a vznikají látky *R-08* a *R-03*. Dále také dochází k reakci látky *R–10* na azosloučeniny *R–15* a *R–16*. Byl zaznamenán také vyšší nárůst nečistoty *R–07*. Již z předešlých experimentů vyplývá, že tato látka vzniká v kyselém prostředí při nižší teplotě, kdy dochází k zacyklení molekuly.



Obrázek 21 Grafy zobrazující procentuální zastoupení nečistot, *R-05* a *R-01* v závislosti na teplotě a rychlosti průtoku.

Diskuze:

Hodnoty všech kritických nečistot velmi kolísaly. Většinou šlo o to, že když byly hodnoty přijatelné pro *R-07, R-10 a R-15,* docházelo k nárůstu látky *R-08* a zároveň k poklesu množství produktu. V této fázi jsme se rozhodli pokračovat v experimentování s novým katalyzátorem, nepodařilo se totiž nastavit optimální podmínky pro redukci nitroskupiny. Mezi hlavní poznatky patří především to, že produkt není zcela stabilní a po několika hodinách stání v uzavřené vialce mění své zbarvení z čiré na žlutou, v některých případech až černou barvu, což dokládá obrázek 20. Dalším z podstatných zjištění bylo to, že mnohem lepších výsledků je dosahováno při režimu *full* H_2. Všechny další experimenty byly proto prováděny v tomto režimu.

5.1.3 Směs platiny a palladia na uhlíku

Mezi experimenty prováděnými na palladiovém a platinovém katalyzátoru jsme se rozhodli vyzkoušet ještě jiné typy pro robustnost této práce. Po diskuzi jsme jako první vybrali smíšený 70 mm katalyzátor 2,5% palladia s 2,5% platinou. Prováděli jsme dvě série experimentů, nejprve s acetonem a následně s metanolem. Výchozí roztoky látky *R-05* byly připraveny v koncentraci od 6,25 mg/ml v acetonu a 5 mg/ml v metanolu. Rychlost průtoku se pohybovala v rozmezí 1–5 ml/min. Teplota byla nastavena na 30 ºC a tlak zůstal ve *full* H_2 režimu.

Diskuze:

Konverze *R-05* na *R-01* probíhala velmi špatně, neboť průměrný výtěžek u obou rozpouštědel sahal pouze k 21 %. Za lepší rozpouštědlo považujeme pro tyto podmínky metanol, protože zastoupení nečistot v produktu bylo nižší než při pokusech v acetonu, kdy mnoho nečistot vznikalo kvůli reaktivitě s ním samotným. Kritické nečistoty *R-07, R-10, R-15, R-16,* byly téměř vždy pod hranicí limitu 0,1 %, kromě *R-08*, která dosahovala vždy minimálně 50 %.

Tento katalyzátor se neosvědčil ani po změně rozpouštědla a koncentrace. Další možností pro optimalizaci reakce by bylo změnit teplotu roztoku a rychlost průtoku. Lepších výsledků bychom pravděpodobně mohli dosáhnout s menším množství katalyzátoru (30 mm), díky němuž by došlo ke snížení rezidenčního času. I přes tyto možnosti optimalizace jsme se raději rozhodli vyzkoušet jiný katalyzátor.

5.1.4 Raney Nikl

Po vyhodnocení výsledků v předcházející kapitole jsme se rozhodli vyzkoušet ještě 30 mm katalyzátor Raney nikl. Vytvořili jsme 3 zásobní roztoky pro posouzení reaktivity. Koncentrace v metanolu byla 5 mg/ml, v acetonu 6,25 mg/ml a v THF 16.6 mg/ml. Tlakový režim jsme ponechali v módu *full* H_2 a rychlost průtoku se pohybovala v rozmezí od 0,5 ml/min až po 1 ml/min. Teplota byla opět o něco vyšší než laboratorní, a to 30 ºC.

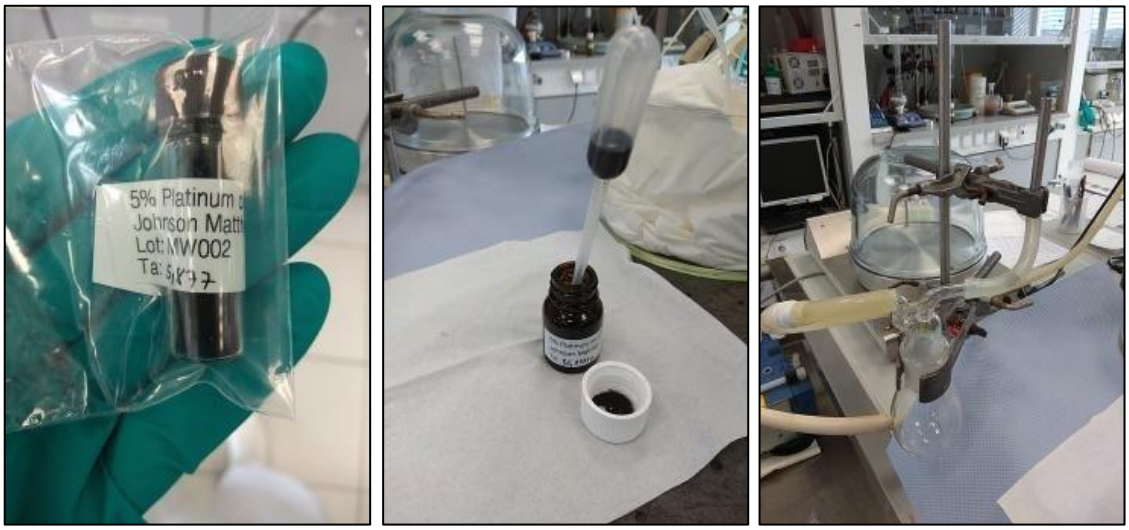
Diskuze:

Konverze látky *R-05* na *R-01* byla při těchto podmínkách v průměru necelých 11 %. Spektrum nečistot sice nebylo bohaté, ale výchozí látka zůstávala téměř v nezměněném stavu, krom reakcí prováděných v metanolu. Při těchto experimentech docházelo k nárůstu azosloučeniny *R-15* průměrně na 60 %. U pokusů v acetonu a THF, se tato látka držela pod hranicí 15 % a *R-05* procházela soustavou v téměř nezměněném stavu. Další kritické nečistoty se vůbec neobjevily.

Předpokládáme, že minimální konverze je způsobena především nízkým tlakem vodíku, který se pohyboval okolo pouhých 3 barů. U jiných typů katalyzátorů se tlak vodíku při stejných podmínkách pohybuje v rozmezí 30–50 barů a dochází k plné konverzi. Velikost částic byla stále stejná (*40–100 μm*), tedy také žádná změna oproti předcházejícím pokusům. Rozhodli jsme se tedy upustit od experimentování s tímto katalyzátorem, neboť je pro výrobu *R-01* nevhodný.

5.2 Reakce s katalyzátorem připraveným v laboratorních podmínkách

V laboratoři byla naplněna cartridge 5% platinou typu Johnson-Mathey. Podrobný postup je uveden pod obrázkem 22. První experimentování bylo prováděno v prostředí metanolu s kyselinou chlorovodíkovou. Roztok *R-05* byl v koncentraci 20 mg/ml, teplota nastavená na 30 ºC a rychlost průtoku měněna od 0,5 do 1 ml/min. Režim tlaku jsme na základě posledních pokusů ponechali v režimu *full* H_2. Experimentální data přináší tabulka 6.



Obrázek 22 Ilustrace plnění cartridge 5% platinou *(MW002)* za sníženého tlaku, nejprve byl připraven roztok platiny, který byl následně nanášen plastovou pipetou do cartridge, která byla napojena na vakuum, které umožnilo usazení platiny uvnitř.

Tabulka 6 Procentuální zastoupení jednotlivých látek ve vzorcích odebíraných v průběhu reakce (vzorky 169–170)

5%Pt/C	Šarže	TH180618-169	TH180618-170
Johnson - Mathey, Typ 117, 70 mm	Režim	full H2	full H2
	Systémový tlak (bar)	0	0
	Tlak vodíku (bar)	20	59
	Tlak pumpy (bar)	20	58
	Tlak zpětného ventilu (bar)	0	0
	Teplota (°C)	30	30
	Rychlost průtoku (ml/min)	0,5	1
	Čas odběru vzorku (min)	5	5
R - 03	3,1		
R - 08	5,0	8,3	36,19
	5,6	6,12	0,11
	6,2	1,66	0,32
	7,5	1,27	7,27
M - 272	8,1	4,74	0,06
R - 01	**8,6**	**46,91**	**55,14**
R -07	9,1	3,62	0,51
R - 05	10,7	0,44	0,01
R - 10	10,8	5,64	0,01
R - 15	11,6	1,74	0,02

Diskuze:

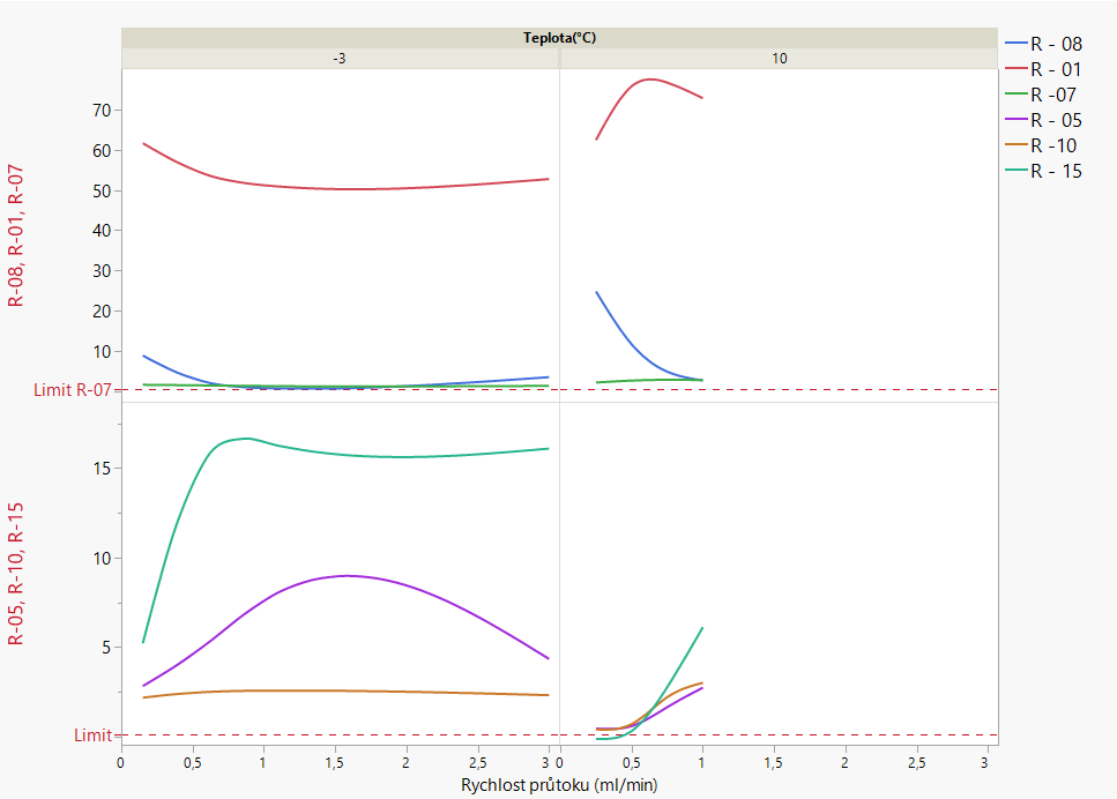
Cartridge naplněná 5% platinou typu Johnson - Mathey neposkytla při reakci příznivé výsledky. Konverze byla sice úplná, ale obsah látky *R-01* se pohyboval pouze do 50 %. Při vyšším průtoku byl zaznamenán nárůst nitrososloučeniny *R-10* a také azosloučeniny *R-15*. Tyto látky vymizely po zvýšení rychlosti průtoku, což lze pozorovat u vzorku č. 170 uvedeného v tabulce 6 Na druhou stranu byl u tohoto vzorku pozorován vyšší nárůst nečistoty *R-08*, obsah převyšoval 35 %. Navíc v průběhu experimentu č. 170 došlo k ucpání cartridge a to je patrné i ze záznamu vyššího tlaku. S touto cartrige proto nebylo dále pokračováno. Nárůst tlaku způsobil i částečný rozklad a platina byla unášena do sběrné baňky. Před odesláním k analýze byl produkt přefiltrován.

Johnson – Mathey 5% platinu lze považovat za nevhodný katalyzátor pro tuto reakci. Neúspěch by se dal pravděpodobně vysvětlit laboratorním plněním platiny do cartridge, kdy jsme manipulací s roztokem platiny či samotným uzavíráním této patrony, mohli některou část poškodit a plnění nemuselo být zcela přesné.

5.3 Reakce s katalyzátorem 10% platina na uhlíku

5.3.1 Konverze *R-05* v prostředí *HCl*

V následujícím případě byl rozpuštěn hydrochlorid látky *R-05* v metanolu (c= 20 mg/ml). Pro možnost srovnání s předchozími experimenty jsme zvolili nižší i vyšší teploty s rychlostí průtoku od 0,15 ml/min do 5 ml/min. Pro ověření hypotézy s tlakovým režimem, jsme se rozhodli ještě ověřit závislost průběhu reakce na tlaku. Prozkoušen byl režim i kontrolovaný při 10 a 50 barech a. především režim *full* H_2. Obrázek 23 zobrazuje závislost procentuálního zastoupení kritických nečistot v produktu na rychlosti průtoku a teplotě.



Obrázek 23 Grafy vyobrazují vliv teploty a průtoku na profil nečistot pouze u *full* H_2 (vzorky 171–187)

Diskuze:

Sled těchto experimentů ukázal lepší výsledky při teplotě 10 ºC něž při teplotě nižší. V tlakovém režimu *full* H_2 probíhala konverze lépe dokonce i s menším zastoupením nečistot. Obsah *R-01* byla v jednom ze zdařilejších vzorků 77 %. *R-05* dosahovala pouze 0,4 %, přičemž docházelo ke vzniku *R-08*, jejíž hodnota tvořila kolem 11 % obsahu. Tato tendence se opakovala i v ostatních případech, jak si lze povšimnout obrázku 23. Pro teplotu 10 ºC byla výhodou pomalejší rychlost průtoku (0,25–0,5 ml/min).

Dle těchto experimentů lze usuzovat, že pokud nedojde ke kompletní konverzi, je možné pozorovat souběžný nárůst nečistot *R-10* a *M-01*. Z mechanismu reakcí (schéma 3) vyplývá, že pokud látka *R-10* nebude dále hydrogenována, dojde k reakci s aminoskupinou, což způsobí vznik azosloučeniny *R-15* a *R-16*.

Výtěžek nejzdařilejších experimentů lze přirovnat k reakcím ve vsádkovém reaktoru, u kterých byl také použit platinový katalyzátor. Bohužel všechny nečistoty byly

v nadlimitních množstvích. Přípravou ve vsádkovém reaktoru bylo při podobných podmínkách možno připravit 98,23 % *R-01* s menším zastoupením *R-08* (0,23 %).

Když porovnáme dosažené výsledky s využitím platinového a palladiového katalyzátoru při stejných podmínkách, tak palladiový katalyzátor se prozatím jeví jako účinnější. Výtěžnost doposud nejzdařilejšího experimentu při použití 10% palladiového katalyzátoru činila 85 % a *R-08* byla zastoupena 5%.

5.3.2 Konverze *R-05* v prostředí kyseliny octové a metanolu

Byly připraveny tři roztoky *R-05* v různých koncentracích. Pro porovnání s výsledky na Pd katalyzátoru jsme se rozhodli vytvořit sůl *R-05* s kyselinou octovou, jako v několika předcházejících případech.

První z roztoků byl připraven rozpuštěním 2 g *R-05* ve směsi 80 ml metanolu, 16 ml vody a 42 ml kyseliny octové (c=15 mg/ml). Druhý ze zkoušených roztoků byl v koncentraci 50 mg/ml. Jako rozpouštědlo byla použita pouze kyselina octová. Poslední roztok byl připraven pouze v metanolu v koncentraci 5 mg/ml. Data dokládající HPLC analýzu jsou uvedena v tabulce 7.

Tabulka 7 Procentuální zastoupení jednotlivých látek ve vzorcích odebíraných v průběhu reakce po HPLC analýze.

(vzorky 188–199)

10%Pt/C	Šarže	188	189	190	191	192	193	194	195	200	196	197	198	199
ThallesNano 70 mm cartridge	Režim	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2
	Tlak vodíku (bar)	12	25	32	51	64	70	20	31	80	15	48	50	70
	Tlak pumpy (bar)	11	24	31	50	64	70	19	31	80	14	18	49	70
	Tlak zpětného ventilu (bar)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Poznámka	15 mg/ml; 2 g R - 05, 80 ml metanol, 16 ml vody, 42 ml octové						50 mg/ml R - 05 v kyselině octové			5 mg/ml R -05 v metanolu			
	Teplota (°C)	10	10	10	10	10	10	20	20	**30**	30	30	30	30
	Rychlost průtoku (ml/min)	**0,5**	0,75	1	2	2,5	3	0,5	1	**3**	1	3	5	7
	Čas odběru vzorku (min)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
R - 08	5,0	62,11	43,57	29,76	21,14	14,41	7,32	50,34	18,68	7,15	1,09	8,31	2,53	2,35
	5,4			0,24	0,47	0,81	0,46	0,01	0,00		0,00	0,06	0,03	0,05
	6,2	2,94	2,1	1,39	0,92	0,57	0,20	1,17	0,48	1,05	0,01	0,15	0,16	0,13
	7,4	10,52	6,37	4,33	2,93	2,22	1,08	6,57	2,41	0,84	0,05	0,01	0,06	0,04
	8,5	0,02	0,02	0,01	0,04	0,31	0,75	0,00	0,00		0,03	0,01	0,04	0,01
R - 01	8,6	**23,66**	**46,3**	**62,01**	**71,64**	**77,03**	**84,11**	**41,22**	**77,22**	66,9	**96,49**	**90,65**	**96,27**	**96,16**
R - 07	9,2	0,65	1,33	1,77	1,88	1,90	1,90	0,58	1,08	5,95	0,23	0,32	0,35	0,34
R - 14	9,5	0,01	0,09	0,19	0,32	0,35	0,28	0,10	0,13		2,08	0,49	0,55	0,63
	9,8	0,1	0,08	0,17	0,54	0,68	0,46							0,29
	10,5		0,14	0,13	0,12	0,25	0,47							
R - 10	10,8					0,13	0,37			11,11				
	10,9					0,34	0,70			0,41				
	11,1					0,36	0,41							
	11,2					0,34	0,38			0,01				
R -15	11,7					0,30	1,11			5,45				

Diskuze:

První odebrané vzorky při reakci (188–193) v prostředí vodného roztoku kyseliny octové a metanolu ukázaly plnou konverzi. V prvotních případech jsme pozorovali nárůst *R-08* společně s nižším zastoupením ostatních nečistot. Nejlepší výtěžnost byla zaznamenána v případě č. 193 (výtěžek *R-01* přes 80 %). Zastoupení nečistot v produktu stoupalo se zvyšující se rychlostí průtoku. Kvůli vysokému tlaku (70 bar) jsme rozhodli o ukončení tohoto experimentování. Nehodnocené a neidentifikované nečistoty nejsou tak podstatné a vznikají ojediněle.

Experimenty 194, 195 a 200 byly provedeny při teplotě 20 °C a 30 ºC s různou rychlostí průtoku. Konverze byla úplná, částečně vznikala i nečistota *R-08*. Zvyšující se rychlost průtoku ukázala stejný trend jako v předchozích případech. Z předložených dat v tabulce 7 vyplývá, že ideální rychlost průtoku by se mohla pohybovat v hodnotách kolem 2 ml/min. Při provádění těchto experimentů (194, 195, 200) docházelo opět k velkému nárůstu tlaku vodíku (80 bar), proto jsme dále pokračovali s jinými podmínkami.

Poslední série experimentů (196–199) ukázala nejlepší výsledky. Konverze byla ve všech těchto případech přes 90 %. Předpokladem pro ještě lepší konverzi by mohla být rychlost průtoku mezi 4–6 ml/min. V případě nižší rychlosti průtoku přesahoval sice výtěžek *R-01* 95 %, avšak současné 2% zastoupení *R-07* je nevýhodné z hlediska obtížné separace (na rozdíl např. od *R-08*). Při zvyšování rychlosti průtoku jsme se nevyhnuli opětovnému nárůstu tlaku vodíku. Výsledkem však nebyla takřka žádná změna pro obsah nečistot, a proto bylo následně pokračováno s jinými podmínkami.

Jak již bylo předesláno výše, nečistota *R-07*, která vzniká zpravidla v kyselém prostředí, je při čištění těžko odstranitelná. Z toho důvodu jsme se rozhodli vrátit zpět k prostředí neutrálnímu.

5.3.3 Konverze *R-05* v prostředí acetonu a směsi aceton/metanol

Byly připraveny tři rozdílné roztoky *R-05*. První o koncentraci 5 mg/ml byl připraven rozpuštěním v čistém acetonu. Rychlost průtoku se pohybovala v rozmezí od 0,5 ml/min až po 7 ml/min a teplotu jsme nastavili na 30 ºC.

Druhý roztok o maximální rozpustné koncentraci 6,25 mg/ml *R-05* v acetonu procházel soustavou o rychlosti 0,5–5 ml/min s teplotou nastavenou na 10 ºC na základě předchozích úspěšnějších experimentů.

Třetí roztok o koncentraci 8,3 mg/ml, byl připraven pomocí směsi metanolu a acetonu v poměru 1:1. Rychlost průtoku jsme zkoušeli v intervalu od 0,5 do 3 ml/min, teplota byla ponechána na 10 ºC.

Tlak vodíku byl u všech experimentů ponechán ve *full* H_2 režimu. Data zaznamenaná v tabulkách 8, 9 a 10 uvádí výsledky analýzy HPLC spolu s retenčními časy všech nečistot, *R-05* a produktu.

Tabulka 8 Procentuální zastoupení jednotlivých látek ve vzorcích odebíraných v průběhu reakce po HPLC analýze (vzorky 201–205 v acetonu).

10%Pt/C	Číslo vzorku	201	202	203	204	205
ThallesNano	Režim	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2
	Tlak vodíku (bar)	10	13	27	38	53
	Vstupní tlak (bar)	9	11	0,25	37	53
	Systemový tlak (bar)	0	0	0	0	0
	Poznámka	*5 mg/ml v acetonu*				
	Teplota (°C)	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**
	Rychlost průtoku (ml/min)	0,5	1	3	5	7
	Čas odběru vzorku (min)	5	5	5	5	5
R -08	5,02	0,05	0,02	0,1	0,13	0,26
	6,21					
??	6,50	1,19	2,86	2,44	6,49	5,6
	7,36					
R - 01	8,61	37,78	75,78	**90,67**	**91,3**	**88,9**
R - 07	9,16	0,2	0,06	0,02	0,01	0,01
??	9,42	11,5	10,59	2,8	0,6	0,73
R - 14	9,52	1,59				
	10,04	1,74	0,88	0,42	0,18	0,36
??	10,45	44,03	9,12	3,07	0,9	1,93
R - 05	10,71	0,44	0,14	0,04	0,05	0,31
R - 10	10,80	0,97	0,14	0,11	0,19	1,1
	10,92					
	11,23	0,52	0,42	0,31	0,14	0,34
R - 15	11,66					0,47

Tabulka 9 Procentuální zastoupení látek ve vzorcích po HPLC analýze, tato analýza byla provedena následující den po reakcích, kvůli zjištění stability jednotlivých látek ve vzorcích. (vzorky 201a, 204a. 205a).

10% Pt/C	Šarže	201a	204a	205a
	2,6	0,04	0,06	0,15
R - 08	5,0	0,03	0,04	0,27
??	6,5	1,13	6,30	5,39
R - 01	8,6	**35,16**	**87,18**	**84,81**
R - 07	9,2	1,75	3,70	3,51
??	9,4	11,34	0,59	0,68
	9,5	0,41	0,03	0,05
	9,8	1,37	0,01	0,02
	10,0	0,29	0,01	0,04
	10,3	1,29	0,14	0,30
??	10,5	43,68	1,08	2,22
	10,6			
R - 05	10,7	1,01	0,05	0,56
R - 10	10,9	0,86	0,25	0,44
	11,2	0,84	0,29	0,51
R - 15	11,6	0,13	0,03	0,64
R - 16	11,8	0,67	0,23	0,40

Tabulka 10 Procentuální zastoupení jednotlivých látek ve vzorcích odebíraných v průběhu reakce po HPLC analýze (vzorky 206–212 v acetonu a ve směsi aceton/metanol).

10% Pt/C	Šarže	206	207	208	209	210	211	212
ThallesNano cartridge	Režim	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2
	Systémový tlak (bar)	0	0	0	0	0	0	0
	Tlak vodíku (bar)	10	16	29	95	21	29	81
70 mm	Tlak pumpy (bar)	9	15	28	95	19	28	81
	Tlak zpětného ventilu (bar)	0	0	0	0	0	0	0
	Poznámka	**Pt/C, 6.25 mg/ ml aceton**				**Pt/C 8.3 mg/ml směs aceton/methanol**		
	Teplota (°C)	10	10	10	10	10	10	10
	Rychlost průtoku (ml/min)	0,5	1	3	5	0,5	1	3
	Čas odběru vzorku (min)	5	5	5	5	5	5	5
	2,6	15,54	17,58	17,58	19,16	0,03	0,03	0,05
R - 08	5,0	0,05	0,08	0,08	0,07	0,47	0,51	0,30
??	6,5	0,94	1,31	1,31	0,63	3,39	3,11	0,62
R - 01	8,6	**46,10**	**70,33**	**70,33**	**61,25**	**77,45**	**90,43**	**86,58**
R - 07	9,2	0,03	0,03	0,03	0,12	0,01	0,06	0,09
??	9,4	2,02	1,07	1,07	0,19	2,28	1,30	0,38
	9,5	1,16	0,12	0,12	0,05	0,70	0,24	0,42
	9,8	0,04	0,01	0,01	0,02	0,14	0,10	0,02
	10,0	1,95	0,55	0,55	0,22	0,67	0,25	0,28
	10,3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,01	0,02
??	10,5	27,79	3,32	3,32	1,16	13,90	3,36	8,70
	10,6	1,73	0,47	0,47	0,27	0,15	0,03	0,00
R - 05	10,7	0,14	0,21	0,21	0,67	0,08	0,04	0,30
R - 10	10,9	1,07	1,94	1,94	6,43	0,28	0,25	1,04
	11,2	1,09	0,65	0,65	0,30	0,33	0,23	0,25
R - 15	11,6	0,27	2,23	2,23	8,61	0,01	0,01	0,79
R - 16	11,8	0,09	0,09	0,09	0,10	0,08	0,05	0,13

Diskuze:

U první série experimentů při koncentraci 5 mg/ml *R-05* v acetonu byla konverze téměř absolutní. Některé nečistoty se vůbec neobjevily a látky *R-07* a *R-08* se v některých případech pohybovaly v zanedbatelných množstvích. Bohužel jsme při použití acetonu pozorovali nárůst tří nových nečistot. Následující den byla vyzkoušena stabilita vzorků 201, 204 a 205 přidáním 35 % HCl. Tak vznikly vzorky 201a, 204a a 205a. Výsledky uvedené v tabulce 8 potvrzují skutečnost, že látka *R-07* vzniká především v kyselém prostředí. Pozorováno bylo také snížení obsahu *R-01*, které je pravděpodobně způsobeno reakcí její aminové skupiny s nitrososkupinou *R-10*, díky které vznikají látky *R-15* a *R-16*.

V dalších experimentech byl použit roztok *R-05* v acetonu o maximální koncentraci 6,25 mg/ml. Konverze pobíhala hůře než v případě s nižší koncentrací a profil nečistot byl rozmanitější. Kvůli vysokému tlaku vodíku (95 bar) jsme se rozhodli obměnit parametry pro průběh reakce. Mimoto jedna z azosloučenin (*R-15*) vznikala ve vysokých množstvích.

V poslední sérii experimentů (210–212) byly výsledky lepší než při koncentraci 6,25 mg/ml. Ty se v mnohém podobali pokusům prováděným s koncentrací 5 mg/ml (201–205). Vznikaly Schiffovy báze jako ve všech pokusech s acetonem, které se následně redukovaly. Nárůst ostatních nečistot se oproti tomu snížil. Optimální rychlost průtoku byla 1 ml/min, kdy obsah *R-01* dosahoval hodnot přes 90 % a mezi dvě nejvíce zastoupené nečistoty patřila *R-08* a redukovaná Schiffova báze v čase 10,5 min. V tomto případě (vzorek 211) se i tlak pohyboval v celkem přijatelných hodnotách okolo 30 barů. Naopak při vyšší rychlosti průtoku tlak stoupal až k 80 barům, a proto jsme z bezpečnostních důvodů nepokračovali.

5.3.4 Konverze *R-05* v prostředí DCM a THF

Přestože výsledky byly stále lepší. rozhodli jsme se ještě obměnit použitá rozpouštědla a vytvořit vyšší koncentraci *R-05* v roztoku. Pro další experimenty jsme tak použili roztok v DCM o koncentraci 20 mg/ml a roztok v THF o koncentraci 16,7 mg/ml (vyšší koncentraci roztoku se nepodařilo připravit). Po vzoru předchozích sérií experimentů jsme použili průtok 1 ml/min a nově také 0,75 ml/min, neboť z předchozích experimentů vyplynulo, že se snižující se rychlostí dochází k lepším výsledkům při

teplotě 30 ºC a *full H_2* režimu tlaku vodíku. Výsledky analýzy HPLC jednotlivých vzorků jsou uvedeny v tabulce 11.

Tabulka 11 Procentuální zastoupení jednotlivých látek ve vzorcích odebíraných v průběhu reakce (vzorky 213–216 v DCM a THF).

10% Pt/C	Šarže	213	214	215	216
ThallesNano	Režim	full H2	full H2	full H2	full H2
cartridge	Tlak vodíku (bar)	22	30	16	33
70 mm	Tlak pumpy (bar)	21	29	15	32
	Tlak zpětného ventilu	0	0	0	0
	Poznámka	**Pt/C 20 mg/DCM**		**Pt/C 16.7 mg/ml THF**	
	Teplota (°C)	30	30	30	30
	Rychlost průtoku (ml/min)	0,5	1	0,5	1
	Čas odběru vzorku (min)	5	5	5	5
R - 03	2,6	0,01	0,01	0,01	0,00
R - 08	5,0	2,60	2,21	3,62	3,24
??	6,5	1,05	0,17	1,10	0,21
R - 01	8,6	**94,55**	**96,39**	**94,55**	**95,80**
R - 07	9,2	0,01	0,21	0,04	0,08
??	9,4	0,11	0,03		0,09
	9,5	0,85	0,23	0,35	0,08
	9,8	0,09	0,04		
	10,0	0,06	0,04		
R - 05	10,7	0,03			
R - 10	10,9	0,21	0,37	0,13	0,37
R - 15	11,6	0,04			
R - 16	11,8	0,23	0,31	0,05	0,06

Diskuze:

Redukce nitroskupiny za těchto podmínek proběhla s doposud nejlepšími výsledky. Výtěžky reakcí byly vždy přes 94 %. Nejvíce zastoupenou nečistotou byla látka *R-08*, jejíž obsah se pohyboval okolo 3 %. Další významné nečistoty, které se objevily, patří *R-10* a redukovaná Schiffova báze v čase 6,5 min. Obsah těchto nečistot dosahoval maximálně 1 %. Profil nečistot lze hodnotit velmi pozitivně, proto byla tato rozpouštědla zvolena i při pozdějších experimentech.

5.3.5 Kontinuální proces v prostředí THF a následná krystalizace

Pro představu o tom, jak by výroba cytotoxické látky mohla vypadat, jsme jako další postup zvolili kontinuální proces. Jako prostředí jsme zvolili THF a zvýšením teploty roztoku na 50 ºC jsme vytvořili nejvyšší možnou koncentraci *R-05* – 20 mg/ml. Samotná reakce ale probíhala při teplotě 30 ºC. Experimentální data lze nalézt vtabulce 12.

Tabulka 12 Procentuální zastoupení jednotlivých látek ve vzorcích odebíraných v průběhu reakce (vzorky 231–245 v THF). (ML – matečný louh).

10% Pt/C	Šarže	231	233	235	237	238	239	240	241	242	243	244	245
Thalles Nano cartridge	Režim	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	**krystal**	**ML**	**krystal**	**ML**
	Tlak vodíku (bar)	28	40	42	44	44	46	44	45				
70 mm	Tlak pumpy (bar)	27	39	41	41	41	46	37	36				
	Tlak zpětného ventilu (bar)	0	0	0	0	0	0	0	0				
	Teplota (°C)	30	30	30	30	30	30	30	30	**1.62 g**	**0.3 g**	**2 g**	**0.55 g**
	Rychlost průtoku (ml/min)	1	1	1	1	1	1	1	1	**85%**	**15%**	**78%**	**22%**
	Čas odběru vzorku (min)	**0:15**	**0:45**	**1:15**	**1:45**	**2:15**	**2:45**	**3:15**	**3:45**				
R - 08	5,1	1,23	1,02	0,87	0,83	0,76	0,72	0,51	0,58	**0,26**	**2,47**	**0,11**	**1,56**
	5,6	0,13	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00		**0,08**		
??	6,1	0,53	0,51	0,53	0,55	0,55	0,58	0,45	0,57	**0,14**	**1,96**	**0,04**	**1,27**
	6,6	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	**0,01**			
	7,4	0,08	0,08	0,08	0,06	0,06	0,05	0,05	0,05	**0,02**	**0,24**	**0,05**	**0,09**
	7,5	0,04	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	**0,06**		**0,07**	**0,11**
	7,7	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02		**0,11**		
	7,8	0,02	0,04	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05		**0,22**	**0,01**	**0,21**
R - 01	8,6	**97,00**	**97,31**	**97,35**	**97,36**	**97,28**	**97,15**	**95,67**	**96,35**	**98,40**	**90,47**	**97,75**	**89,52**
R - 07	9,2	0,07	0,10	0,09	0,09	0,09	0,09	0,14	0,10			**0,14**	
??	9,4	0,12	0,12	0,12	0,11	0,13	0,12	0,12	0,12	**0,22**	**0,56**	**0,15**	**0,53**
R - 14	9,5	0,05	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01				
R - 05	10,7	0,05	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03	0,11	0,05		**0,08**	**0,14**	**0,04**
R - 10	10,8	0,58	0,62	0,70	0,72	0,81	0,87	1,37	1,16	**0,79**	**2,71**	**0,45**	**2,46**
R - 15	11,6	0,06	0,04	0,08	0,11	0,16	0,24	1,46	0,88	**0,10**	**1,10**	**1,02**	**4,19**

Diskuze:

Celkem jsme odebrali osm vzorků při zhruba čtyřhodinovém procesu vždy v 30minutovém intervalu. Rozpustnost *R-05* je v THF mnohem lepší než v metanolu, ale pozorovali jsme opět nově vznikající nečistoty spojené s tímto rozpouštědlem. Při nižší koncentraci vycházelo zastoupení nečistot mnohem lépe. Mezi nejvíce zastoupené nečistoty patřily kritické *R-08, R-10, R-15* a nově vznikající nečistoty v čase 6,1 a 9,4 min. Tyto látky nezůstávaly jen v krystalickém produktu, ale z větší části také přecházely do matečného louhu. Tuto skutečnost potvrzují data uvedená v tabulce 12. Na počátku byl nárůst *R-08* vyšší, avšak ke konci docházelo k jeho poklesu až o polovinu. Na druhou stranu docházelo k navyšování nechtěné látky *R-10*. Výtěžek u odebraných vzorků vždy přesahoval 95 %.

Konečné množství 200 ml získaného produktu v roztoku jsme rozdělili na 2 stejné roztoky a každý z nich jsme zpracovali odlišným způsobem.

Prvních 100 ml jsme zahustili a suspenzi jsme přefiltrovali za sníženého tlaku v rukavicovém boxu. Matečný louh jsme opět odpařili a odparek zfiltrovali. Při filtraci jsme promývali 2 × 5 ml THF, ve kterém *R–01* není rozpustná. Z prvního roztoku jsme získali 1,62 g bílé krystalické látky o obsahu 98,40 % *R-01* (výtěžek 84 %).

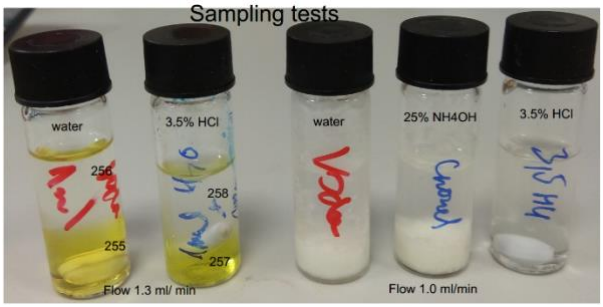
Ke zbylým 100 ml výsledného roztoku jsme přidali 50 ml n-heptanu a za stálého míchání došlo ke krystalizaci. Následnou filtrací, která byla provedena stejným způsobem jako v předchozím případě, byly připraveny 2 g látky *R-01* o obsahu 97,75 %.

V průběhu vznikaly nové nečistoty z THF, předně v čase 6,1 min. Pro zhodnocení byly vzorky odeslány k analýze LC-MS.

Z výsledků vyplývá, že THF sice není zcela ideálním rozpouštědlem, ale podařilo se nám, při těchto podmínkách, dosáhnout velmi dobrých výsledků. Ideální není kvůli jeho reaktivitě s meziprodukty a vzniku nových nečistot.

5.3.6 Standardizace ve směsi DCM a metanolu

Nově vznikající nečistoty v prostředí THF nás vedli k další možné kombinaci rozpouštědel, ve které bychom se jich vyvarovali. Rozpustili jsme 6 g *R-05*ve 300 ml směsi metanolu a DCM v poměru 1:1. a použili jsme stejný katalyzátor jako v předchozí kapitole. Nastavené podmínky se podobaly těm jako v předešlé kapitole. Tlak zůstal v režimu *full* H_2, teplota byla nastavena na 30 ºC a rychlost průtoku na 1 a 1.3 ml/min. V průběhu redukce byly opět odebírány vzorky. Rozhodli jsme se rovněž sbírat produkt do různých rozpouštědel s vidinou okamžité krystalizace, ke které také došlo, jak dokládá přiložená fotografie vialek (obrázek 24).



Obrázek 24 Okamžité nakapání produktu do různého prostředí (vody, kyseliny chlorovodíkové a roztoku hydroxidu amonného)

Následně byly pomocí filtrace a odpařování v rukavicovém boxu připraveny celkem 4 krystalické látky *R-01* o proměnlivé čistotě a hmotnosti. Experimentální data jsou uvedena v tabulkách 13 a 14. Po HPLC analýze jednotlivých vzorků odebíraných v průběhu syntézy jsme v produktu objevili nové nečistoty. Tyto látky jsme podrobili další analýze pomocí LC-MS. K podrobnější analýze byl odeslán vzorek 262A, který měl největší množství čtyř nových nečistot, které přecházejí do krystalického produktu.

Tabulka 13 Tabulka zobrazují procentuální zastoupení jednotlivých látek v odebraných vzorcích po analýze HPLC (vzorky 250–263).

10% Pt/C	Šarže	250	251	252	253	254	262	262A	263
Thalles Nano cartridge	Režim	full H2	full H2	full H2	full H2	full H2	**Krystal 1**	**Krystal 2**	**ML**
70 mm	Tlak vodíku (bar)	12	15	14	15	16			
	Tlak pumpy (bar)	12	16	14	16	14			
	Tlak zpětného ventilu (bar)	0	0	0	0	0			
	Teplota (°C)	30	30	30	30	30	**1.72 g**	**0.74 g**	**0.6 g**
	Rychlost průtoku (ml/min)	**1,3**	**1,3**	**1,3**	**1,3**	**1,3**	**56%**	**24%**	**20%**
	Čas odběru vzorku (min)	**0:30**	**1:00**	**1:30**	**2:00**	**2:26**			
Čas	10:20	10:50	11:20	11:50	12:20	12:46			
R - 08	5,1	9,38	6,90	5,73	5,12	4,51	1,78	2,46	30,95
	6,3	0,10	0,07	0,05	0,04	0,05			0,03
	6,4	0,08	0,05	0,04	0,04	0,04			
	6,6	0,08	0,07	0,06	0,06	0,06			0,35
	7,4	0,35	0,29	0,26	0,24	0,22	0,14	0,23	0,77
	7,5	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	0,03	0,02	0,23
R - 01	8,6	**89,51**	**92,05**	**93,28**	**93,90**	**94,39**	**97,66**	**96,91**	**66,29**
	8,8	0,06	0,08	0,06	0,06	0,05	0,11	0,14	0,03
R - 07	9,2	0,12	0,09	0,09	0,07	0,10	0,06	0,06	0,17
	9,4	0,15	0,13	0,13	0,13	0,14	0,08	0,10	0,28
R - 14	9,5	0,04	0,03	0,02	0,03	0,03		0,02	0,11
R - 10	10,8	0,07	0,15	0,19	0,22	0,34	0,08	0,01	0,44
R - 15	11,6	0,00	0,03	0,03	0,05	0,01	0,02	0,03	0,34

Tabulka 14 Tabulka zobrazují procentuální zastoupení jednotlivých látek v odebraných vzorcích po analýze HPLC (vzorky 259–267).

10% Pt/C	Šarže	259	260	264	265	261	266	267
Thalles Nano cartridge	Režim	full H2	full H2	**Krystal 3**	**ML**	full H2	**Krystal 4**	**ML**
70 mm	Tlak vodíku (bar)	35	36			36		
	Tlak pumpy (bar)	34	36			35		
	Tlak zpětného ventilu (bar)	0	0			0		
	Teplota (°C)	30	30	**0,37 g**	**0,09 g**	30	**0.15 g**	**0.13 g**
	Rychlost průtoku (ml/min)	**1**	**1**	**80%**	**20%**	**1**	**54%**	**46%**
	Čas odběru vzorku (min)	13:05	13:26			13:44		
R - 08	5,1	6,63	5,50	1,41	26,23	4,87	0,29	15,23
	6,3	0,06	0,05	0,01	0,06	0,11	0,01	0,38
	6,4	0,05	0,04	0,01	0,03	0,07	0,00	0,33
	6,6	0,11	0,10	0,01	0,44	0,09	0,01	0,19
	7,4	0,31	0,28	0,20	0,57	0,24	0,12	0,18
	7,5	0,06	0,06	0,00	0,35	0,06	0,00	0,02
R - 01	8,6	**92,35**	**93,58**	**98,02**	**70,83**	**94,11**	**99,21**	**71,27**
	8,8	0,12	0,08	0,10	0,11	0,06	0,08	0,11
R - 07	9,2	0,10	0,08	0,08	0,30	0,12	0,06	0,22
	9,4	0,13	0,13	0,11	0,53	0,15	0,10	2,33
R - 14	9,5	0,06	0,04	0,02	0,23	0,05	0,04	0,35
R - 10	10,8	0,03	0,04	0,03	0,29	0,06	0,04	9,35
R - 15	11,6	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,02	0,04

Diskuze:

Dosáhli jsme dobrých výsledků hlavně v případě krystalu 4, kde byla přítomnost *R-01* přes 99 %. Docházelo k plné konverzi a s výtěžky jsme byli poměrně spokojení. To, co nám působilo potíže byl profil nečistot. I když docházelo k eluci nečistot v minimálních množstvích, vnikali nové látky, které jsme později podrobili další analýze.

Zastoupení látky *R-08* bylo průměrně 6 %. Tato nečistota je dobře odstranitelná krystalizací. Látka *R-10* vznikala spíše při rychlejším průtoku (1,3 ml/min). Při snížení rychlosti byl její obsah roven průměrně 0,05 %. Nečistota *R-07*, jež je částečně odstranitelná krystalizací, zde byla zastoupena pouze 0,06 %.

Tento nový technologický postup zavádění produktu přímo do dalšího prostředí nám ukázal jistý posun ve vývoji metody pro potenciální výrobu dané látky. Naší snahou byla čistota API (99,9 %), ke které jsme se dostali zatím nejblíže od započetí experimentování (99,21 %). V tabulce 15 jsou uvedeny doposud nejlépe nastavené parametry pro průběh redukce.

Tabulka 15 Prozatím nejvýhodnější hodnoty pro průběh redukce *R-05*.

Podmínka	**Hodnota**
Tlak (režim)	full H_2
Teplota (ºC)	30
Rychlost průtoku (ml/min)	1
Rozpouštědlo	DCM: metanol (1:1)
Koncentrace *R-05* (mg/ml)	20

5.3.7 Kontinuální zpracování reakční směsi pro dosažení *R-01* × *HCl*

Pro robustnost této práce jsme se rozhodli vyzkoušet nový technologický postup výroby podle předchozí kapitoly. Výchozí roztok jsme připravili z 6 g *R-05*, rozpustili jsme jej ve 300 ml THF a kapilárou ho zavedli přímo do 53 ekvivalentu 4M HCl v dioxanu a v druhém případě do 28 ekvivalentu 2M HCl v diisopropyletheru (DIPE). Podmínky jsme nastavili podle posledních úspěšnějších reakcí v THF – rychlost průtoku 1 ml/min (později snížena na 0.75 ml/min); teplota 30 ºC; tlakový mód *full* H_2.

Celkem byly provedeny 3 reakce, z nichž každá probíhala zhruba jednu hodinu. Vzorky byly odebírány po 20 minutách a odběr probíhal přímo z koncové kapiláry bez přidání HCl. Suspenze, které vznikaly v prostředí kyseliny chlorovodíkové, byly filtrovány, promyty THF a vysušeny. Veškerá experimentální data jsou zaznamenána v tabulkách 16 a 17.

Tabulka 16 Tabulka zobrazují procentuální zastoupení jednotlivých látek v odebraných vzorcích po analýze HPLC (vzorky 268–276).

10% Pt/C	Šarže	268	269	270	271	273	275	276
Thalles Nano cartridge	Režim	full H2	full H2	full H2	**Krystal 1**	full H2	full H2	**Krystal 2**
70 mm	Tlak vodíku (bar)	33	36	37		33	38	
	Tlak pumpy (bar)	32	34	34		32	33	
	Tlak zpětného ventilu (bar)	0	0	0		0	0	
	Teplota (°C)	30	30	30	**1,28 g**	30	30	**1,2 g**
	Rychlost průtoku (ml/min)	**1**	**1**	**1**	**100%**	**1**	**1**	**100%**
	Čas odběru vzorku	**10:51**	**11:11**	**11:31**		**13:29**	**14:09**	
R - 08	5,1	0,62	0,54	0,33	0,62	0,59	0,49	0,53
R - 08.THF	6,1	0,54	0,53	0,31	0,48	0,53	0,46	0,43
	7,5	0,11	0,11	0,12	0,11	0,12	0,13	0,1
	7,8	0,04	0,07	0,06	0,05	0,06	0,08	0,07
R - 01	8,6	**96,39**	**95,58**	**95,96**	**93,33**	**95,81**	**95,67**	**92,73**
	8,8	0,09	0,07	0,13	0,08	0,04	0,04	0,01
R - 07	9,2	0,05	0,13	0,10	1,96	0,13	0,05	1,34
	9,4	0,14	0,26	0,12	0,09	0,14	0,13	0,12
M - 410	9,6	0,01	0,03	0,05	2,43			4,15
	10,1				0,19			0,13
	10,5	0,01	0,14	0,33	0,15	0,27	0,26	0,09
R - 10	10,8	0,97	2,46	2,21	0,28	2,06	2,64	0,16
	10,9			0,14	0,23	0,23	0,05	0,14
R - 15	11,6	0,97	0,09	0,15	0,01			

Tabulka 17 Tabulka zobrazují procentuální zastoupení jednotlivých látek v odebraných vzorcích po analýze HPLC (vzorky 278–281).

10% Pt/C	Šarže	278	279	280		281
Thalles Nano cartridge	Režim	full H2	full H2	full H2		**Krystal 3**
70 mm	Tlak vodíku (bar)	25	28	30	Produkt přiváděn do 28 ek. 2M HCl v DIPE	**Suspenze filtrována**
	Tlak pumpy (bar)	24	24	24		
	Tlak zpětného ventilu (bar)	0	0	0		
	Teplota (°C)	30	30	30		**0,82 g**
	Rychlost průtoku (ml/min)	**0,75**	**0,75**	**0,75**		**100%**
	Čas odběru vzorku	14:54	15:14	15:34		
R - 08	5,1	0,49	0,47	0,48		0,58
R - 08.THF	6,1	0,6	0,61	0,60		0,57
	7,5	0,14	0,14	0,13		0,15
	7,8	0,08	0,08	0,09		0,08
R - 01	8,6	**96,65**	**96,48**	**96,44**		**93,36**
	8,8	0,12	0,1	0,09		0,09
R - 07	9,2	0,08	0,07	0,09		1,68
	9,4	0,14	0,14	0,12		0,11
M - 410	9,6					2,85
	10,1					0,15
	10,5					0,1
R - 10	10,8	0,76	0,79	0,81		0,15
	10,9					0,13
R - 15	11,6	0,95	1,12	1,15		

Diskuze:

Jak již bylo předesláno, realizovali jsme tři reakce, z nichž první dvě měly zcela shodné podmínky. U třetí reakce byla snížena rychlost průtoku. Tam jsme na základě dat z minulých experimentů v THF předpokládali vyšší výtěžnost. Těmito pokusy jsme dokázali jistou stabilitu procesu, jelikož odebírané vzorky potvrzovaly celkem stálý výtěžek i profil nečistot. Byly také připraveny dva roztoky chlorovodíku jeden v DIPE a druhý v dioxanu, do kterých byl produkt zaváděn. Pozorovali jsme okamžitou precipitaci z *R-01* na *R-01* hydrochlorid.

Probíhala plná konverze s 2–3 % nárůstem *R-10*, který následně přecházel na *R-15*. Při snížení rychlosti průtoku nedošlo k razantnímu nárůstu produktu, ale je jisté, že pro reakci je vhodnější průtok pomalejší. Při těchto podmínkách je *R-08* zastoupena více, ale tato nečistota je později čištěním lépe odstranitelná, než látky *R-10, R-15 a R-07*. Avšak naší výpočetní chybou bylo do směsi přidáno více ekvivalentu HCl (28 a 53 molárních ekvivalentů). V důsledku takto kyselého prostředí jsme pozorovali zvýšený nárůst neidentifikované nečistoty (M–410) v čase 9,6 min. Ta se objevovala již dříve, ale jen v minimálním množství. Tato látka pravděpodobně vzniká z nečistot *R-10 a R-15*, u kterých je zaznamenán pokles po krystalizaci. Dalším možným vysvětlením je

srážení nebo skladování *R-01*, jejíž obsah vždy po krystalizaci klesl zhruba o 3 %. Přítomnost této neznámé nečistoty nezávisí na použitém rozpouštědle.

Podmínky nastavené u těchto reakcí nevyhovují požadavkům pro výrobu dané látky, jelikož profil nečistot je stále hodně rozmanitý. Pro další testování s takto nastavenými podmínkami by bylo vhodné snížit množství HCl.

5.3.8 Kontinuální proces při koncentraci 45 mg/ml R-05 v DCM/metanol

To, že THF není nejvhodnějším rozpouštědlem, jsme věděli již z předchozích experimentů, a tak jsme se vrátili ke kombinaci rozpouštědel DCM/metanol.

Připravili jsme roztok z 6 g *R-05*, přidali 100 ml DCM a následně 120 ml metanolu. Vytvořili jsme koncentraci 45 mg/ml, což je skoro poloviční koncentrace než ta, která byla použita při klasické vsádkové výrobě látky *R-01*, kde rozpustnost nehraje roli a reakce probíhá se suspenzí *R-05*. Tlakový mód *full* H_2 byl ponechán, stejně jako teplota 30 ºC. Rychlost průtoku byla v rozmezí 0,25 – 0,75 ml/min což ukázalo výraznější rozdíly po HPLC analýze. Jednotlivé vzorky byly odebírány v průběhu analýzy a produkt byl okamžitě zaváděn do 30 ml destilované vody. Bezprostředně po zavedení jsme pozorovali krystalizaci. V následující tabulce 18 lze pozorovat veškerá experimentální data k těmto reakcím.

Tabulka 18 Procentuální zastoupení jednotlivých látek ve vzorcích odebíraných v průběhu reakce po HPLC analýze (vzorky 283–301).

10% Pt/C	Šarže	283	290	291(ML)	295(ML)	287	288	289	300	301 (ML)	292	293	294	297	299(ML)
Thalles Nano cartridge	Režim	full H2	**1,21 g**	**0.14 g**	ML reanalýza	full H2	full H2	full H2	**0.33 g**	**0.007 g**	full H2	full H2	full H2	**0,05 g**	**1.975 g**
70 mm	Tlak vodíku (bar)	26	**90%**	**10%**		51	52	66	**98%**	**2%**	50	57	93	**2%**	**98%**
	Tlak pumpy (bar)	25	Přiváděno do 30 ml vody			44	44	60	Přiváděno do 30 ml vody		50	57	94	Přiváděno do 30 ml vody; následné promytí DCM	
	Tlak zpětného ventilu (bar)	0				0	0	0			0	0	0		
	Teplota (°C)	30				30	30	30			30	30	30		
	Rychlost průtoku (ml/min)	**0,5**				**0,25**	**0,25**	**0,25**			**0,75**	**0,75**	**0,75**		
	Čas odběru vzorku (hod)	0:13		dva zředěné vzorky; následné		0:10	0:21	0:27			0:24	0:44	1:04		
R - 08	5,1	4,66	**0,37**	28,01	N/A	2,99	23,75	1,85	0,06	N/A	3,16	2,19	1,43	0,03	2,84
	6,6	0,11	**0,01**	0,53		0,11	0,38	0,07			0,05	0,02	0,02		
	7,4	0,16	**0,08**	0,73		0,12	0,73	0,08	0,03		0,11	0,07	0,06		
	7,5	0,07	0,03	0,65		0,07	0,62	0,07			0,09	0,10	0,10		
R - 01	8,6	94,59	**99,15**	68,15		96,38	71,11	97,3	**99,40**		84,12	80,78	71,47	**95,7**	78,14
	8,8	0,11	**0,09**	0,01		0,08	0	0,09	**0,14**		0,07	0,08		**0,09**	
R - 07	9,2	0,1	0,06	0,19		0,06	1,18	0,08	0,06		0,18	0,18	0,19	0,05	4,19
	9,4	0,12	**0,10**	1,44		0,13	2,24	0,12	0,08		0,12	0,12	0,11	0,04	0,28
R - 14	9,5	0,07	0,07	0,29		0,07		0,17	0,06		0,04	0,01	0,01	0,03	0,09
R - 05	10,7										6,38	4,63	8,52	**0,27**	6,23
R - 10	11,0		0,05					0,16	**0,10**		1,59	2,05	2,73	**2,34**	4,12
R -15	11,6								0,06		4,06	9,78	15,34	**1,46**	2,07

Diskuze:

V rámci 2,5 hodin byly provedeny tři reakce s rozdílnými rychlostmi průtoku. Celkem se nám podařilo připravit tři krystalické látky. Nejlepší výsledky s obsahem 99,40 % *R-01* byly dosaženy při nejnižší rychlosti průtoku (0,25 ml/min).

Nakonec i vyšší koncentrace (45 mg/ml *R-05*) umožnila uspokojivou konverzi. Nejlépe lze hodnotit reakci s rychlostí průtoku 0,25 ml/mi, kdy jsme se dostali velmi blízko limitu pro všechny kritické nečistoty. Nečistota *R-08* byla krystalizací odstraněna a přešla do matečného louhu. Při vyšších rychlostech nedocházelo k plné konverzi, nýbrž došlo k nárůstu kritických nečistot *R-07, R-10* a *R-15*. Nutno také podoktnout, že u takto vysoké koncentrace a vyšší rychlosti průtoku rostl tlak až k 90 barům. Takto vysokému tlaku bychom mohli předejít zvýšením teploty, pravděpodobně by však současně došlo k nárůstu některých nečistot (*R-15, R-16)*, jak vyplývá z předešlých experimentů.

Tuto metodu lze označit jako kvantitativní pro přípravu *R-01*. Byli jsme v celku spokojeni s profilem nečistot i s průběhem reakcí. Ze získaného množství jsme se vždy dostali na výtěžnost přes 90 %.

Tato data byla následně spolu s krystalickými produkty předána do analytických laboratoří opavské Tevy pro další přečištění a následnou analýzu. Tato analýza pak poslouží k dalšímu zhodnocení a věcné diskuzi, zda je vhodné připravovat látku *R-01* pomocí průtokového reaktoru.

6 Shrnutí

Smyslem této práce bylo vyzkoušet hydrogenaci v průtoku a v případě pozitivních výsledků docílit úplné konverze výchozí látky s minimálním obsahem nežádoucích nečistot v konečném produktu.

V profilu nečistot byla pozorována celá řada látek. Z experimentů jasně vyplývá, že k redukci nitroskupiny této látky dochází v závislosti na teplotě, tlaku vodíku, rychlosti průtoku, zvoleném katalyzátoru a také koncentraci.

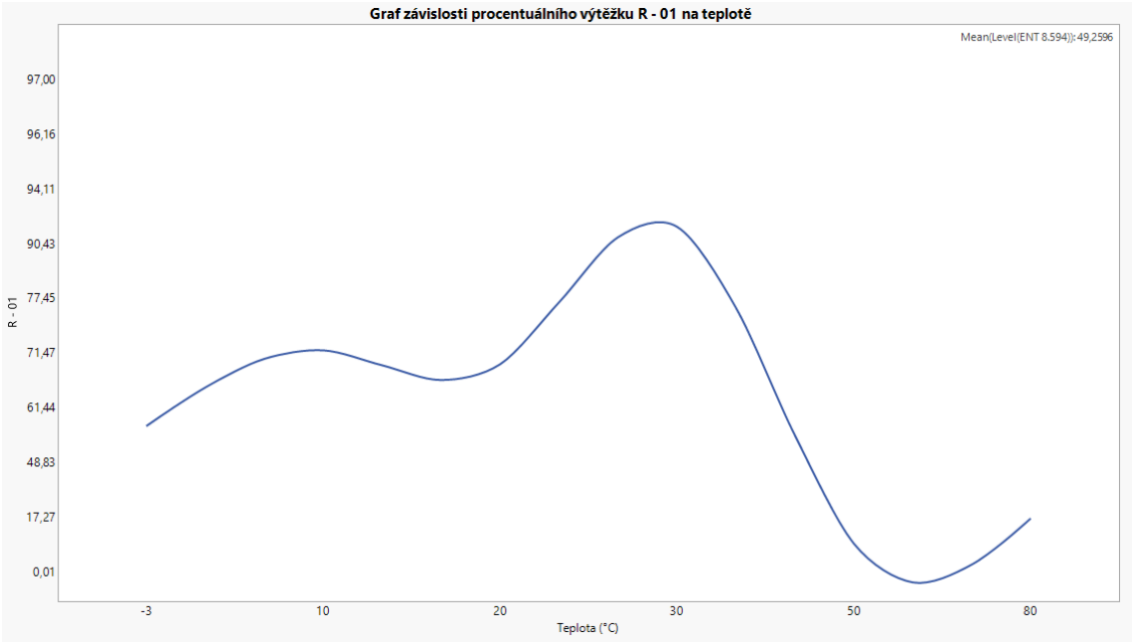
K porovnání výroby ve vsádkovém a průtokovém reaktoru je zapotřebí brát ohled na mnoho aspektů, jak již bylo nastíněno dříve. V první řadě je nutné se zaměřit na koncentraci daného roztoku. Koncentrace *R-01* při optimalizované výrobě ve vsádku byla 100 mg/ml, zato v průtokovém systému jsme se dostali pouze k hodnotám 45 mg/ml za zachování hladkého průběhu reakce s přijatelnými výsledky.

V této práci bylo provedeno nespočet reakcí a odebráno přes 300 vzorků, kdy relevantní byly analyzovány pomocí HPLC.

Nejlepších výsledků jsme dosáhli při plném tlaku vodíku (mód *full* H_2). Během experimentování jsme použili více katalyzátorů, které jsou výrobcem doporučeny k hydrogenaci sloučenin. Ze všech použitých katalyzátorů docházelo k dobré konverzi u 10% Pd/C a vůbec nejlepších výsledků jsme dosáhli s katalyzátorem 10% Pt/C – originální katalyzátor od firmy ThalesNano.

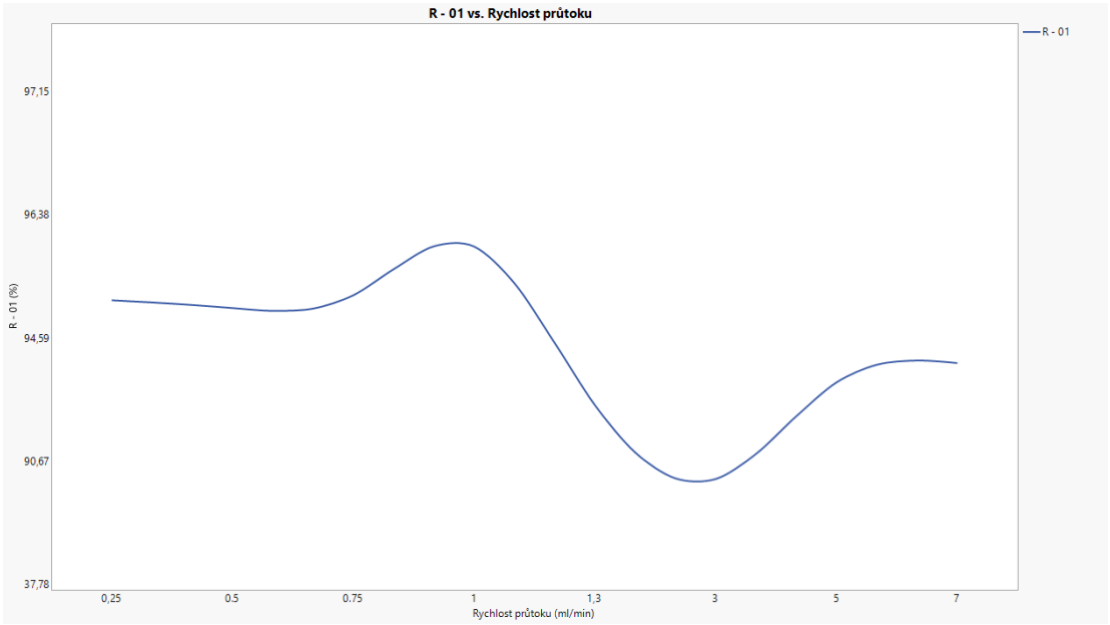
Pro lepší představu o tom, jaká teplota je pro reakci výhodná z hlediska nejvyššího možného výtěžku, byl sestrojen graf závislosti procentuálního zastoupení obsahu *R-01* v produktu na teplotě (graf 2). Uvedené hodnoty v grafu nezohledňují koncentrace ani rozpouštědla a shrnují pouze experimenty prováděné na platinovém katalyzátoru. Graf 2 uvádí, že optimální teplotou z hlediska nejvyšší výtěžnosti je 30 ºC ± 2 ºC.

Po získání optimální teploty jsme se zaměřili na další faktory, které ovlivňují výtěžnost celé reakce. Významným aspektem pro přípravu *R-01* je rovněž rychlost průtoku. V programu JMP byl proto sestrojen graf závislosti procentuálního obsahu *R-01* na rychlosti průtoku (graf 3)



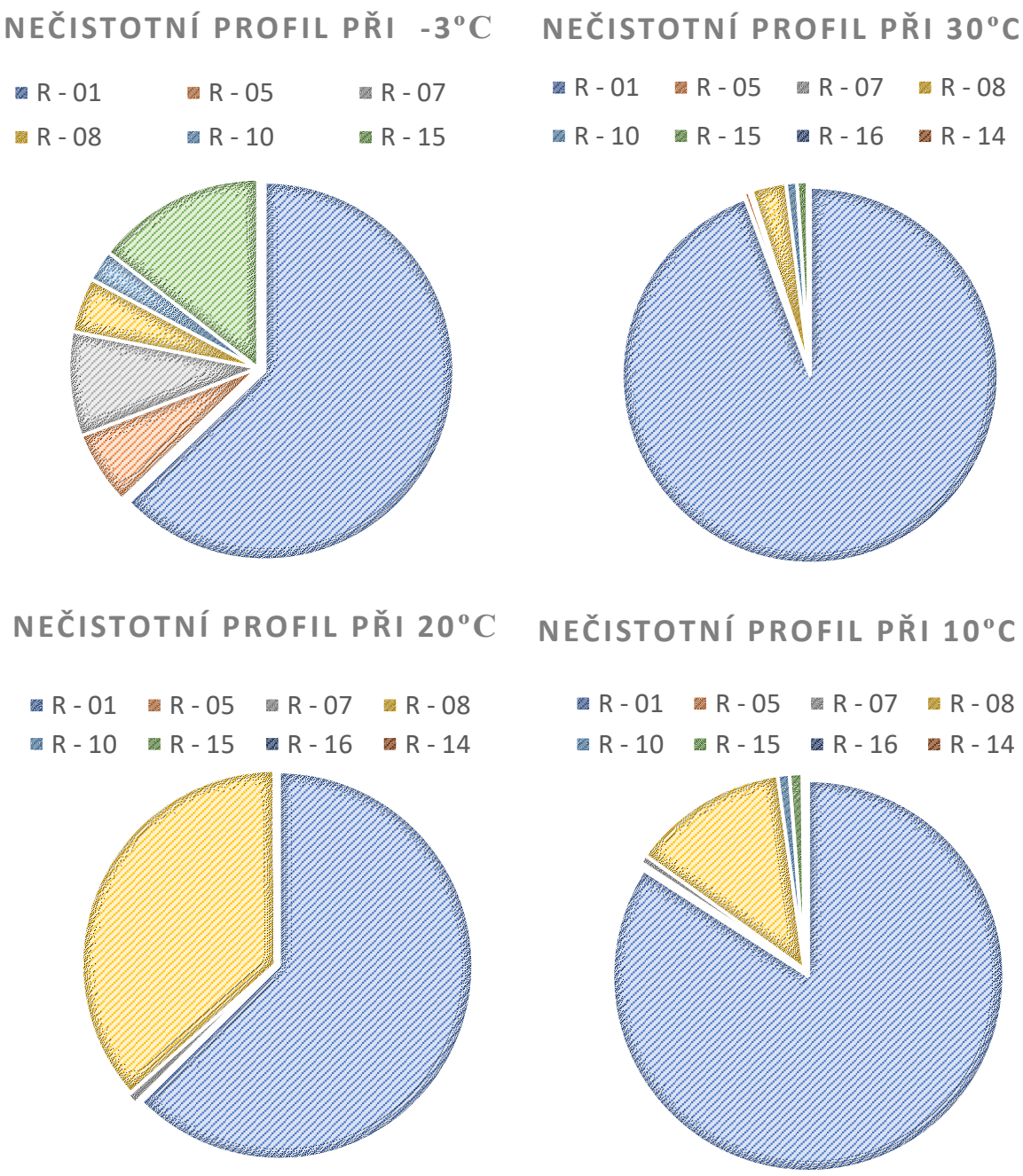
Graf 2 Graf závislosti procentuálního výtěžku *R-01* na teplotě.

Graf 3 udává představu o ideální hodnotě rychlosti průtoku pro teplotu 30 ºC ± 2 ºC, platinový katalyzátor a plný tlak vodíku. Jak je možné vyčíst z grafu 3, za požadovanou rychlost průtoku lze považovat 0,9 ± 0,2 ml/min.



Graf 3 Graf závislosti procentuálního zastoupení *R-01* na rychlosti průtoku.

Podobný postup vyhodnocení jsme zvolili také u hodnocení závislosti obsahu nečistot na teplotě. Procentuální zastoupení nečistot bylo zprůměrováno v rámci teplot, a pro lepší ilustraci byly sestrojeny koláčové grafy (obrázek 26). Opět jsou zohledněny pouze experimenty na platinovém katalyzátoru.

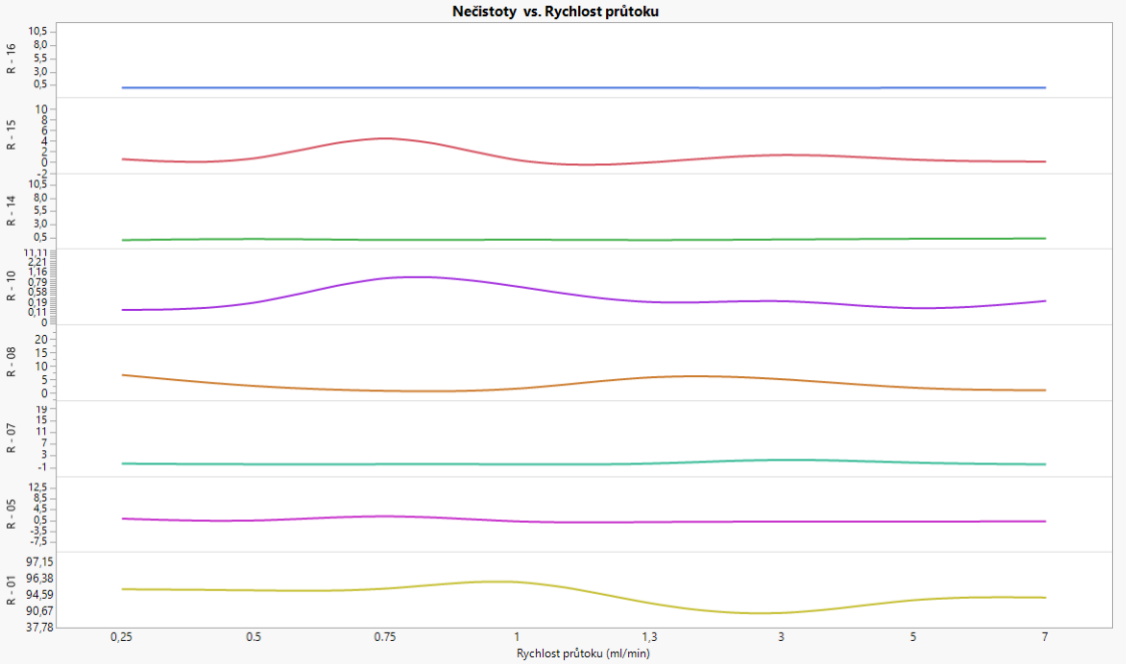


Obrázek 26 Grafy znázorňující průměrné zastoupení kritických nečistot, *R-05* a *R-01* v závislosti na teplotě.

Je zřejmé, že optimální výtěžek je dosažen při teplotě přibližně 30 ºC, ale poměr nejnižšího zastoupení nečistot vychází pro teplotu 20 ºC. Proto je možné do budoucna zvážit experimenty i v rozmezí 20–30 ºC. Vypozorovali jsme také, že při teplotě blížící se k 20 ºC, narůstá látka R-08 na zhruba 30 %, kdežto u 30 ºC zůstává pod hranicí 5 %. Přesně naopak se při těchto teplotních rozdílech chová nečistota *R-10*. Tato nečistota je velmi kritická pro syntézu, protože je výsledkem mezikroku, jenž je nutný ke správné

hydrogenaci molekuly *R-05*. Při vzniku této látky předpokládáme i její jistou reaktivitu s dalšími funkčními skupinami, které reagují za vzniku hůře odstranitelných látek (*R-15, R-16*).

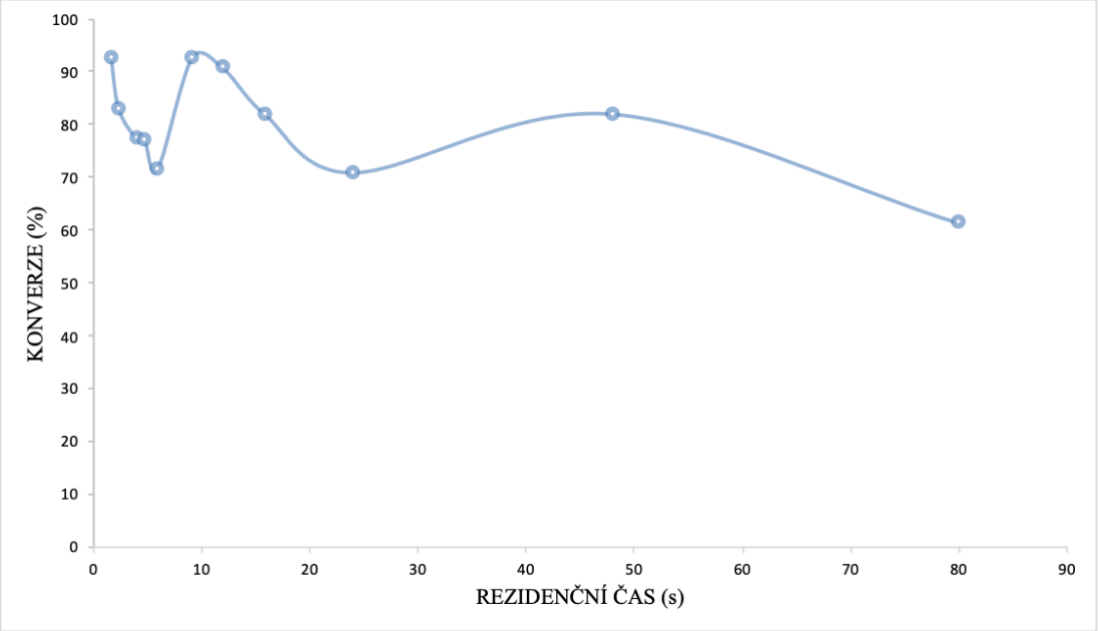
Závislost procentuálního zastoupení nečistot na průtoku při vhodné teplotě 30 ºC vyjadřují grafy na obrázku 27.



Obrázek 27 Závislost procentuálního zastoupení kritických nečistot a produktu na rychlosti průtoku.

Významným problémem je již zmiňovaná látka *R-10.* Při předpokládané ideální rychlosti průtoku, je tato nečistota zastoupena stále ve vyšší míře. Není problémem jen z hlediska přítomnosti, ale také z následné reaktivity na další zbytné nečistoty, jak již bylo řečeno dříve. Výhodná je rychlost průtoku v rozmezí 0,9 ± 0,2 ml/min při plném tlaku vodíku a teplotě 30 ºC.

Již v úvodu bylo zmíněno, že jednou z podstatných proměnných je rezidenční čas. Z toho důvodu zde uvádím graf závislosti konverze na rezidenčním čase (Graf 4). Tato práce prokázala, že platinový katalyzátor je pro redukci této cytostatické látky nejvhodnější, a proto jsme pro vyhodnocení použili experimenty prováděné na 10% platinovém katalyzátoru na uhlíkovém nosiči. Rezidenční čas jsme získali podílem objemu cartridge a rychlosti průtoku, který je roven pro (70 mm) platinu na uhlíku 200 µl. Z uvedeného grafu 4 vyplývá, že optimální hodnotou rezidenčního času je kolem 10–13 vteřin.



Graf 4 Závislost konverze na rezidenčním čase pro experimenty prováděné na platině s uhlíkovým nosičem.

Nejlepší podmínky, které jsme nalezly, jsou uvedeny v tabulce 19, kde jsou porovnány parametry nastavované jak ve vsádkovém, tak průtokovém reaktoru. Je zde také uvedeno procentuální zastoupení nečistot a produktu.

Tabulka 19 Porovnání reakce ve vsádkovém a průtokovém reaktoru.

.	Vsádkový reaktor	Průtokový reaktor
Šarže vzorku	TH180618-300	PH180525-01-03
Koncentrace (mg/ml)	100	45
Rozpouštědlo	MeOH	DCM/MeOH
Teplota (ºC)	50	30
Tlak (bar)	2 – 5	52
R-01 (%)	98,23	99,4
R-08 (%)	0,23	0,06
R-07 (%)	0,18	0,06
R-15 (%)	0,94	0,06
Výtěžek (%)	84	98

K porovnání jsem vybral krystalické látky, které měly nejvyšší čistotu. Z tabulky 19 je zřejmé, že se nám povedlo připravit látku *R-01* s nižším zastoupením kritických nečistot, pomocí průtokového reaktoru. Dále nám také vznikaly i nečistoty nové,

jak udává tabulka 18 (vzorek 300), ale všechny byly v limitu nebo na velmi těsné hranici pro nové nečistoty (0,1 %). V průtokovém reaktoru jsme byli také schopni látku připravit daleko dřív než ve vsádkovém reaktoru, kdy reakce probíhala přes 3 hodiny. Navíc krystalizace v průtokovém reaktoru byla mnohonásobně rychlejší, jelikož produkt ihned krystalizoval v koncové sběrné baňce, na rozdíl od přípravy ve vsádkovém reaktoru, kdy muselo dojít k rekrystalizaci. Na druhou stranu hlavní výhodou vsádkového reaktoru je především možnost provádět redukci v suspenzi a dosáhnout tak vyšší koncentrace, což v průtokovém reaktoru není možné.

Mohlo být jistě vyzkoušeno více katalyzátorů a podmínky obměněny ještě jiným způsobem, avšak časové nároky na vývoj této metody byly neúprosné, a proto jsme zde experimentování ukončili. Tato data a následný *scale-up* firmy Teva v Opavě, by měl rozhodnout o používání průtokového systému pro výrobu této nové nadějné cytostatické látky.

7 Závěr

Na základě výsledků jednotlivých experimentů byla zodpovězena celá řada otázek, a to jak těch předem stanovených, tak i těch, které vyplynuly na povrch až při provádění experimentů.

Použitý hydrogenační průtokový reaktor H-Cube se v praxi velmi osvědčil. S jeho pomocí redukce výchozí látky za vhodných podmínek probíhala velmi uspokojivě a nečistoty se v produktu vyskytovaly v přijatelných množstvích.

Jelikož nastavovaných parametrů pro reakci není málo, byla optimalizace reakce velmi obtížná. Jak již bylo řečeno v úvodu, hlavní roli hráli tyto faktory: katalyzátor, koncentrace, teplota, tlak vodíku a rychlost průtoku soustavou. Neustálé obměňování těchto kritérií nás dovedlo k novému technologickému postupu – zavádění produktu do dalšího roztoku, kde při kontaktu této látky s novým prostředím docházelo k okamžité krystalizaci, což celý proces značně zefektivnilo. Došli jsme k závěru, že nejvýhodnější možný postup vzhledem k průběhu redukce a nejméně zastoupenému profilu nečistot je uskutečnit reakci ve směsi DCM a metanolu (1:1) s rychlostí průtoku 0,25 ml/min a režimem tlaku *full* H_2 při koncentraci 45 mg/ml. Ideálním katalyzátorem v laboratorním měřítku pro nás byla platina na uhlíku.

V porovnání s nejlepším výsledkem této reakce ve vsádkovém reaktoru, který dosáhl maximální čistoty krystalické látky 98,48 %, je náš výsledek 99,40% čistoty produktu lepší. Veškeré nečistoty se pohybovaly pod limitem nebo na hraně limitu, který činí 0,1 %, pro kritickou nečistotu *R-07* je to 0,5 %. Ve vsádkovém reaktoru se objevují nečistoty i nad tímto limitem.

Konečné rozhodnutí o zavedení průtokového systému do výroby této nové cytostatické látky náleží vývojovým chemikům firmy Teva v Opavě. Ještě před tím je však nutné vyzkoušet, zda reakce bude stejně dobře fungovat i ve vyšších množstvích a větším reaktoru. Do budoucna by bylo vhodné uvažovat o kontinuální krystalizaci s kontinuální filtrací na konci procesu.

8 Seznam citované literatury

1. Plutschack, M. B.; Pieber, B.; Gilmore, K.; Seeberger, P. H., The Hitchhiker's Guide to Flow Chemistry. *Chemical Reviews* **2017,** *117* (18), 11796-11893.

2. Gutmann, B.; Kappe, C. O., Forbidden chemistries go flow in API synthesis. *Chimica Oggi/Chemistry Today* **2015,** *33*, 18-24.

3. Movsisyan, M.; Delbeke, E. I.; Berton, J. K.; Battilocchio, C.; Ley, S. V.; Stevens, C. V., Taming hazardous chemistry by continuous flow technology. *Chemical Society reviews* **2016,** *45* (18), 4892-928.

4. Razzaq, T.; Kappe, C. O., Continuous Flow Organic Synthesis under High-Temperature/Pressure Conditions. *Chemistry – An Asian Journal* **2010,** *5* (6), 1274-1289.

5. Gutmann, B.; Cantillo, D.; Kappe, C. O., Continuous-Flow Technology—A Tool for the Safe Manufacturing of Active Pharmaceutical Ingredients. *Angewandte Chemie International Edition* **2015,** *54* (23), 6688-6728.

6. Porta, R.; Benaglia, M.; Puglisi, A., Flow Chemistry: Recent Developments in the Synthesis of Pharmaceutical Products. *Organic Process Research & Development* **2016,** *20* (1), 2-25.

7. Mascia, S.; Heider, P. L.; Zhang, H.; Lakerveld, R.; Benyahia, B.; Barton, P. I.; Braatz, R. D.; Cooney, C. L.; Evans, J. M. B.; Jamison, T. F.; Jensen, K. F.; Myerson, A. S.; Trout, B. L., End-to-End Continuous Manufacturing of Pharmaceuticals: Integrated Synthesis, Purification, and Final Dosage Formation. *Angewandte Chemie International Edition* **2013,** *52* (47), 12359-12363.

8. Angeli, P. G., A. , Taylor Flow in Microchannels. In *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*, Li, D., Ed. Springer US: **2015**; pp 3199 - 3205.

9. Browne, D. L.; Harji, B. H.; Ley, S. V., Continuous Cold without Cryogenic Consumables: Development of a Convenient Laboratory Tool for Low-Temperature Flow Processes. *Chemical Engineering & Technology* **2013,** *36* (6), 959-967.

10. Newby, J. A.; Blaylock, D. W.; Witt, P. M.; Pastre, J. C.; Zacharova, M. K.; Ley, S. V.; Browne, D. L., Design and Application of a Low-Temperature Continuous Flow Chemistry Platform. *Organic Process Research & Development* **2014,** *18* (10), 1211-1220.

11. Paul, E. L.; Atiemo-Obeng, V. A.; Kresta, S. M., *Handbook of Industrial Mixing: Science and Practice*, Str. 431. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey 2003. ISBN 0-471-26919-0

12. White, F. M., str.27-28 . 4th Ed., *Fluid Mechanics*. McGraw-Hill, a business unit of The McGraw-Hill Companies, Inc., New York 2011. ISBN 978-0-07-352934-9

13. Hessel, V.; Kralisch, D.; Kockmann, N.; Noël, T.; Wang, Q., Novel Process Windows for Enabling, Accelerating, and Uplifting Flow Chemistry. *ChemSusChem* **2013,** *6* (5), 746-789.

14. Baxendale, I. R., The integration of flow reactors into synthetic organic chemistry. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **2013,** *88* (4), 519-552.

15. Ager, D. J., Managing Hazardous Reactions and Compounds in Process Chemistry. In *Managing Hazardous Reactions and Compounds in Process Chemistry*, American Chemical Society: **2014**; Vol. 1181, pp 285-351.

16. Bogdan, A. R.; Dombrowski, A. W., Emerging Trends in Flow Chemistry and Applications to the Pharmaceutical Industry. *Journal of Medicinal Chemistry* **2019,** *62* (14), 6422-6468.

17. Yasukouchi, H.; Nishiyama, A.; Mitsuda, M., Safe and Efficient Phosgenation Reactions in a Continuous Flow Reactor. *Organic Process Research & Development* **2018,** *22* (2), 247-251.

18. Movsisyan, M.; Delbeke, E.; Berton, J.; Battilocchio, C.; Ley, S.; Stevens, C., Taming Hazardous Chemistry by Continuous Flow Technology. *Chem. Soc. Rev.* **2016,** *45*.

19. Murray, P. R. D.; Browne, D. L.; Pastre, J. C.; Butters, C.; Guthrie, D.; Ley, S. V., Continuous Flow-Processing of Organometallic Reagents Using an Advanced Peristaltic Pumping System and the Telescoped Flow Synthesis of (E/Z)-Tamoxifen. *Organic Process Research & Development* **2013,** *17* (9), 1192-1208.

20. Palmieri, A.; Ley, S.; Polyzos, A.; Ladlow, M.; Baxendale, I., Continuous flow based catch and release protocol for the synthesis of α-ketoesters. *Beilstein journal of organic chemistry* **2009,** *5*, 23.

21. Newman, S. G.; Jensen, K. F., The role of flow in green chemistry and engineering. *Green Chemistry* **2013,** *15* (6), 1456-1472.

22. Ley, S. V., On Being Green: Can Flow Chemistry Help? *The Chemical Record* **2012,** *12* (4), 378-390.

23. Ye, X.; Johnson, M. D.; Diao, T.; Yates, M. H.; Stahl, S. S., Development of safe and scalable continuous-flow methods for palladium-catalyzed aerobic oxidation reactions. *Green Chemistry* **2010,** *12* (7), 1180-1186.

24. Löwe, H.; Hessel, V.; Löb, P.; Hubbard, S., Addition of Secondary Amines to α,β-Unsaturated Carbonyl Compounds and Nitriles by Using Microstructured Reactors. *Organic Process Research & Development* **2006,** *10* (6), 1144-1152.

25. Ürge, L.; Alcazar, J.; Huck, L.; Dormán, G., Chapter Four - Recent Advances of Microfluidics Technologies in the Field of Medicinal Chemistry. In *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, Goodnow, R. A., Ed. Academic Press: **2017**; Vol. 50, pp 87-147.

26. Snead, D. R.; Jamison, T. F., A Three-Minute Synthesis and Purification of Ibuprofen: Pushing the Limits of Continuous-Flow Processing. *Angewandte Chemie International Edition* **2015,** *54* (3), 983-987.

27. 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., On-demand continuous-flow production of pharmaceuticals in a compact, reconfigurable system. *Science* **2016,** *352* (6281), 61-67.

28. https://novartis-mit.mit.edu [staženo 29.1.2020]

29. Hartman, R. L.; McMullen, J. P.; Jensen, K. F., Deciding whether to go with the flow: evaluating the merits of flow reactors for synthesis. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2011,** *50* (33), 7502-19.

30. Baxendale, I., The integration of flow reactors into synthetic organic chemistry. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **2013,** *88*.

31. Bleie, O.; Roberto, M.; Dearing, T.; Branham, C.; Kvalheim, O.; Marquardt, B., Moffat—Swern Oxidation of Alcohols: Translating a Batch Reaction to a Continuous-Flow Reaction. *Journal of Flow Chemistry* **2015,** *5*, 1-7.

32. Rossetti, I., Flow Chemistry: New Concepts from Batch to Continuous Organic Chemistry. *Industrial Chemistry* **2016,** *2*.

33. McMurry, J., *Organická chemie*, str.222-224;254;255;568-569;558-559;903-904. 6th Czech Ed., Brooks/Cole a Thomson Learning Company, **2004**, ISBN 978-80-214-3291-8 (VUT v Brně), ISBN 978-80-7080-637-1 (VŠCHT Praha)

34. Hudlicky, M., *Reductions in Organic Chemistry*, str.1-10;39-46;71-76. Ellis Horwood Limited, Chichester, West Sussex, England 1984. ISBN 0-85312-345-4

35. Svoboda, J., *Organická chemie I.,* str.109-110;154;308-310. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2005. ISBN 80-7080-561-7

36. Machalický, O., *Organická technologie - nepublikovaná skripta*. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická. Pardubice

37. Kasparian, A. J.; Savarin, C.; Allgeier, A. M.; Walker, S. D., Selective Catalytic Hydrogenation of Nitro Groups in the Presence of Activated Heteroaryl Halides. *The Journal of Organic Chemistry* **2011,** *76* (23), 9841-9844.

38. Orlandi, M.; Brenna, D.; Harms, R.; Jost, S.; Benaglia, M., Recent Developments in the Reduction of Aromatic and Aliphatic Nitro Compounds to Amines. *Organic Process Research & Development* **2018,** *22* (4), 430-445.

39. Loos, P.; Alex, H.; Hassfeld, J.; Lovis, K.; Platzek, J.; Steinfeldt, N.; Hübner, S., Selective Hydrogenation of Halogenated Nitroaromatics to Haloanilines in Batch and Flow. *Organic Process Research & Development* **2016,** *20* (2), 452-464.

40. Ono, N., *The Nitro Group in Organic Synthesis*, str. 170-172. John Wiley & Sons, Inc., New York 2001. ISBN 0-471-22448-0

41. Bakker, J. J. W.; Zieverink, M. M. P.; Reintjens, R. W. E. G.; Kapteijn, F.; Moulijn, J. A.; Kreutzer, M. T., Heterogeneously Catalyzed Continuous-Flow Hydrogenation Using Segmented Flow in Capillary Columns. *ChemCatChem* **2011,** *3* (7), 1155-1157.

42. Irfan, M.; Glasnov, T. N.; Kappe, C. O., Heterogeneous Catalytic Hydrogenation Reactions in Continuous-Flow Reactors. *ChemSusChem* **2011,** *4* (3), 300-316.

43. Cantillo, D.; Baghbanzadeh, M.; Kappe, C. O., In Situ Generated Iron Oxide Nanocrystals as Efficient and Selective Catalysts for the Reduction of Nitroarenes using a Continuous Flow Method. *Angewandte Chemie International Edition* **2012,** *51* (40), 10190-10193.

44. Cantillo, D.; Moghaddam, M. M.; Kappe, C. O., Hydrazine-mediated Reduction of Nitro and Azide Faunctionalities Catalyzed by Highly Active and Reusable Magnetic Iron Oxide Nanocrystals. *The Journal of Organic Chemistry* **2013,** *78* (9), 4530-4542.

45. Desai, B.; Kappe, C. O., Heterogeneous Hydrogenation Reactions Using a Continuous Flow High Pressure Device. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2005,** *7* (5), 641-643.

46. Yeong, K. K.; Gavriilidis, A.; Zapf, R.; Hessel, V., Catalyst preparation and deactivation issues for nitrobenzene hydrogenation in a microstructured falling film reactor. *Catalysis Today* **2003,** *81* (4), 641-651.

47. McGovern, S.; Harish, G.; Pai, C. S.; Mansfield, W.; Taylor, J. A.; Pau, S.; Besser, R. S., Investigation of multiphase hydrogenation in a catalyst-trap microreactor. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **2009,** *84*, 382-390.

48. Jones, R.; Godorhazy, L.; Varga, N.; Szalay, D.; Urge, L.; Darvas, F., Continuous-Flow High Pressure Hydrogenation Reactor for Optimization and High-Throughput Synthesis. *Journal of combinatorial chemistry* **2006,** *8*, 110-6.

49. http://ccc.chem.pitt.edu/wipf/Web/H-Cube%20presentation.pdf [staženo 10.1.2020]

50. http://galachem.ru/upload/pdf/H_Cube_brochure.pdf [staženo 8.11.2019]

51. Interní výsledky firmy Teva Czech Industries s.r.o, Opava 2018.