

Optimizacija sinteze omeprazola potpomognuta termodinamičkim istraživanjima

Vojčić, Nina

Doctoral thesis / Disertacija

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:603034>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Nina Vojčić

**OPTIMIZACIJA SINTEZE OMEPRAZOLA
POTPOMOĞNUTA TERMODINAMIČKIM
ISTRAŽIVANJIMA**

DOKTORSKI RAD

Mentori: prof. dr. sc. Ernest Meštrović
prof. dr. sc. Vladislav Tomišić

Zagreb, 2020.



University of Zagreb

FACULTY OF SCIENCE

Nina Vojčić

**OPTIMIZATION OF OMEPRAZOLE
SYNTHESIS ASSISTED BY
THERMODYNAMIC STUDIES**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisors: Professor Ernest Meštrović
Professor Vladislav Tomišić

Zagreb, 2020

Ova disertacija izrađena je u Zavodu za fizikalnu kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Pliva Hrvatska d.o.o. pod mentorstvom prof. dr. sc. Vladislava Tomišića i prof. dr. sc. Ernesta Meštrovića.

Disertacija je izrađena u okviru projekta koji je financiran sredstvima Europske unije iz Europskog fonda za regionalni razvoj pod nazivom Razvoj nove metodologije za kontrolu procesa pripreme lijekova, pod šifrom projekta RC.2.2.08-0024.

ZAHVALE

Zahvaljujem mentorima prof. dr. sc. Ernestu Meštroviću i prof. dr. sc. Vladislavu Tomišiću na stručnom vodstvu, nesebičnoj potpori, razumijevanju i otovorenosti u svakom trenutku prilikom stvaranja ovoga rada i spremnosti na rješavanje svih izazova koji bi se pojavili.

Zahvaljujem doc. dr. sc. Nikoli Bregoviću, doc. dr. sc. Josipu Požaru i doc. dr. sc. Nikoli Cindri na nebrojenim korisnim savjetima, dobroj volji i uvijek ispruženoj ruci za pomoć pri rješavanju svake prepreke.

Zahvaljujem svojim roditeljima Višnji i Kostu koji su uvijek puni razumijevanja, strpljenja i ljubavi, a najviše od svega što su uzor koji je teško dostići.

Zahvaljujem svom suprugu Denisu i djeci Leonu i Tari koji su mi izvor snage u svim „skliskim“ trenucima.

SADRŽAJ

SAŽETAK.....	i
ABSTRACT.....	ii
1. UVOD.....	1
2. LITERATURNI PREGLED.....	5
2.1. Otkriće omeprazola.....	8
2.2. Sinteza 5-metoksi-2-[(4-metoksi-3,5-dimetil-2-piridinil)metansulfinil]-1H-benzimidazola.....	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	18
3.1. Materijali.....	18
3.2. Sinteza omeprazola.....	19
3.2.1. Sinteza na laboratorijskoj skali.....	19
3.2.2. Sinteza omeprazola uvećanih volumena.....	19
3.3. Kromatografska metoda visoke razlučivosti.....	21
3.4. Mjerne metode korištene za fizikalno-kemijska istraživanja.....	23
3.3.1. Spektrofotometrija.....	23
3.3.2. Potencimetrija.....	23
3.3.3. Koncentracijska kalibracija elektrode.....	24
3.3.4. Spektrofotometrijsko-potencimetrijske titracije.....	24
3.3.5. Mikrokolorimetrija.....	24
3.3.6. Otopinska kalorimetrija.....	25
3.3.7. Spektrofotometrijsko određivanje topljivosti.....	26
3.3.8. Turbidimetrija.....	26
3.3.9. Spektroskopija NMR.....	27
3.5. Obrada podataka.....	28
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	29
4.1. Omeprazol dobiven standardnim sintetskim postupkom.....	30
4.1.1. Sinteza na laboratorijskoj skali.....	31
4.1.2. Modifikacija procesa.....	36
4.2. Fizikalno-kemijska svojstva reaktanata.....	49
4.2.1. Spektrofotometrijsko-potencimetrijske titracije.....	49

4.2.2.	Određivanje entalpija reakcija (de)protonacije	66
4.2.3.	Spektrofotometrijsko određivanje topljivosti.....	75
4.2.4.	Kinetička istraživanja	80
5.	ZAKLJUČAK	83
6.	LITERATURA	85
7.	ŽIVOTOPIS	90

SAŽETAK

OPTIMIZACIJA SINTEZE OMEPRAZOLA POTPOMOGNUTA TERMODINAMIČKIM ISTRAŽIVANJIMA

Nina Vojčić

Zavod za fizikalnu kemiju, Kemijski odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet,
Sveučilište u Zagrebu
Pliva Hrvatska d.o.o., Istraživanje i razvoj, Zagreb

Opisana je optimizacija proizvodnog postupka sinteze djelatne tvari omeprazola. Svojstva tog spoja, kao i njegovih sintetskih prekursora, temeljito su proučena fizikalno-kemijskim istraživanjima procesa protonacije i otapanja. Određene su konstante ravnoteže protonacijskih reakcija i termodinamičke veličine vezane uz solvataciju, tj. topljivost polaznih spojeva i međuprodukta te entalpije i entropije njihova otapanja. S obzirom da je opisana optimizacija temeljena na modifikaciji reakcijskog medija, sva mjerenja su provedena u čistom metanolu i u različitim smjesama metanol/voda, omogućivši time odabir optimalnog otapala za sintezu omeprazola. Dodatno je utvrđena neučinkovitost, odnosno nepotrebnost energetski vrlo zahtjevnog povratnog hlađenja koji se redovito koristi u prvom koraku uobičajene proizvodne sinteze. Slično vrijedi i za vremenski zahtjevnu trituraciju u postupku izolacije završnog proizvoda. Naime, pokazano je da se vrijeme trajanja trituracije može značajno smanjiti.

Svi dobiveni rezultati detaljno su raspravljani te je na temelju njih predložena modificirana procedura pripreme omeprazola. Nova, poboljšana procedura temeljena je na načelima “zelene kemije”, pri čemu zahtijeva uporabu manje organskih otapala te pokazuje poboljšanu energetsku i vremensku učinkovitost. Potvrđeno je i da se može primijeniti u proizvodnji većih količina omeprazola.

Pristup predložen u ovom radu mogao bi se primijeniti na druge slične sustave, čime bi se potencijalno poboljšao postupak pripreme lijekova, istovremeno rezultirajući smanjenjem ekološkog rizika i smanjenjem troškova proizvodnje.

(92 stranica, 76 slika, 18 tablica, 82 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici, Horvatovac 102A, Zagreb i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb.

Ključne riječi: omeprazol/ optimizacija/ protonacija/ utjecaj otapala/ plan sinteze/

Mentori: prof. dr. sc. Ernest Meštrović
prof. dr. sc. Vladislav Tomišić

Rad prihvaćen: rujan 2020.

Ocjenitelji: doc. dr. sc. Nikola Bregović
prof. dr. sc. Ernest Meštrović
dr. sc. Leo Frkanec, zn. savj.

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF OMEPRAZOLE SYNTHESIS ASSISTED BY THERMODYNAMIC STUDIES

Nina Vojčić

Division of Physical Chemistry, Department of Chemistry,
Faculty of Science, University of Zagreb
Pliva Croatia Ltd., Research and Development, Zagreb

Optimization of the synthetic procedure for production of active pharmaceutical ingredient Omeprazole is presented. The properties of Omeprazole and its precursors were thoroughly explored by physicochemical investigations of the corresponding protonation and solution processes. The protonation equilibrium constants (K^H) and solvation thermodynamic properties, such as solution enthalpies and entropies, as well as solubility of the starting materials and the intermediate were determined. Since the presented synthetic strategy was based on the modification of the reaction media, all measurements were performed in pure methanol and different methanol/water mixtures, which led to the selection of the solvent optimal for the Omeprazole preparation. In addition, it was proven that the conventionally used energetically demanding refluxing procedure in the first step of the Omeprazole synthesis could be avoided. It was also shown that the period of trituration employed in the step involving precipitation of the final product can be significantly reduced.

All the obtained results were thoroughly discussed, and aided the conception of the new procedure for Omeprazole preparation. The improved (greener) procedure was based on the processes demanding less organic solvents, at the same time being energy- and time-more efficient. It was also proven that it could be implemented in the large scale production.

This work presents a concept which could be extended to other similar systems, improving the synthetic procedures of highly used pharmaceuticals, while lowering ecological risks and production expenses.

(92 pages, 76 figures, 18 tables, 82 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Horvatovac 102A, Zagreb, Croatia and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb, Croatia.

Keywords: Omeprazole/ optimization/ protonation/ solvent effects/ synthesis design/

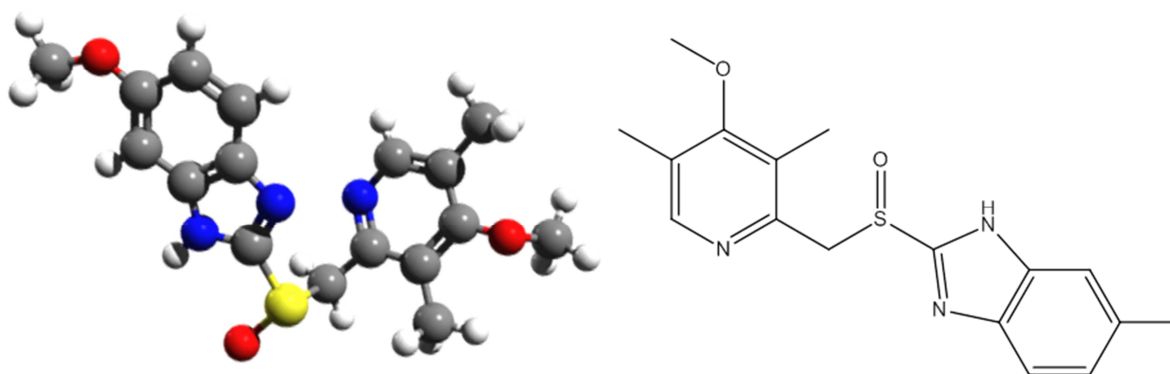
Supervisors: Professor Ernest Meštrović
Professor Vladislav Tomišić

Thesis accepted: September 2020.

Reviewers: Assistant Professor Nikola Bregović
Professor Ernest Meštrović
Dr. Leo Frkanec

1. UVOD

Djelatna tvar lijeka (engl. *active pharmaceutical ingredient*, API) omeprazol, slika 1, spada u grupu lijekova inhibitora protonske pumpe, koji ireverzibilno inhibira sekreciju želučane kiseline blokirajući enzimski sustav H^+/K^+ adenozin trifosfataze.¹ Zbog povoljnog terapijskog učinka koristi se u liječenju čira na želucu ili dvanaesniku, gestroezofagealne refluksne bolesti i Zollinger–Ellisonovog sindroma, s obzirom na povezanost tih bolesti s poremećajem lučenja kiseline. Uvršten je na Listu osnovnih lijekova (engl. *List of Essential Medicines*) Svjetske zdravstvene organizacije², što opravdava interes za optimizaciju sinteze omeprazola.



Slika 1. Struktura omeprazola.³

Opisano je niz postupaka putem kojih je moguće prirediti omeprazol. Mnogi od njih opisani su patentima ili objavljeni u znanstvenim radovima, uzimajući u obzir iskorištenje i dostupnost polaznih materijala većina industrijskih postupaka temelji se na reakcijama opisanim u ovom radu. Sintaza omeprazola zbiva se u dva uzastopna koraka bez izolacije (engl. *one-pot* metoda) ili s izolacijom međuprodukta nakon prvog koraka, ovisno o zahtjevima regulatornih agencija zemalja u kojima se proizvod registrira. Prvi korak u sintezi 5-metoksi-2-[(4-metoksi-3,5-dimetil-2-piridinil)metansulfinil]-1H-benzimidazola (omeprazol, OMP) je kondenzacija 2-klorometil-4-metoksi-3,5-dimetilpiridin hidroklorida (omeprazol klorid, OM-Cl) i 5-metoksi-1H-benzimidazol-2-tiola (metoksition, OM-M), uz natrijev

hidroksid kao deprotonacijsko sredstvo, u miješanom otapalu metanola i vode uz povratno hlađenje. Nakon stvaranja tioeterske veze i dobivanja 5-metoksi-2-(((4-metoksi-3,5-dimetilpiridin-2-il)metil)sulfanil)-1H-benzimidazola (omeprazol sulfid, OM-S), slijedi molibdenom katalizirana oksidacija vodikovim peroksidom, sa dodatkom amonij-heptamolibdata tetrahidrata u konačni sulfoksidni produkt. U smjesu dobivenu tijekom prvog stupnja sinteze se nakon dodatka katalizatora pri sobnoj temperaturi dokapava vodena otopina vodikovog peroksida, a zatim se uz dodatnu korekciju pH vrijednosti s pripremljenom otopinom octene kiseline kristalizira (*R,S*)-5-metoksi-2-(((4-metoksi-3,5-dimetil-2-piridinil)metil)sulfinil)-1H-benzimidazol (OMP, omeprazol-sirovi). Tijekom reakcije se provodi korekcija pH-vrijednosti sa pripremljenom otopinom natrij hidroksida NaOH. U reakcijsku smjesu se zatim dodaje natrij-tiosulfat pentahidrat koji reagira s viškom vodikovog peroksida i time zaustavlja reakciju. Slijedi pročišćavanje (prekristalizacija) sirova produkta u smjesi acetona i vode.

Sintetski put se od pronalaska 1979. godine tada nove djelatne tvari nije u osnovi mijenjao, te se i danas proizvodi po istoj proceduri.³

Poznato je da medij u kojem se provodi kondenzacija značajno utječe na brzinu i prinos reakcije iz više razloga. Naime, očekivano je da povećanje udjela deprotoniranih vrsta pospješuje reakciju kondenzacije, a budući da se ovisno o polarnosti i protičnosti otapala neupitno mijenjaju protonacijska svojstva reaktanata može se očekivati da otapalo ima značajan utjecaj na prinos i vrijeme potrebno za sintezu omeprazola. Cilj istraživanja opisanog u ovom radu bio je detaljno proučiti protonacijska svojstva reaktanata u mediju različitih udjela metanola i vode, te u čistom metanolu, tj. utjecaj otapala na njihove *pK*-vrijednosti, kako bi se definirali optimalni uvjeti za sintezu u smislu ubrzanja reakcije i smanjenja potrošnje energenata.

Istraživanja protonacijskih svojstava brojnih farmakološki važnih spojeva opširno su opisana u literaturi, te se može zaključiti da su te studije neobično važne iz nekoliko razloga. Ovisno o mehanizmima djelovanja određenih lijekova, primijećeno je da njihova učinkovitost često ovisi o protonacijskim svojstvima, bilo da promjene u specijaciji aktivnog spoja u organizmu utječu na njihovu apsorpciju u probavnom sustavu, transportu u stanice, ili pak određena protonacijska forma pokazuje značajniju farmakološku aktivnost od ostalih.⁴ Prema tome, nužno je poznavati konstante protonacije aktivnih spojeva kako bi se djelovanje lijekova i navedenih utjecaja na njihovu aktivnost moglo pobliže razjasniti, između ostalog i

sa svrhom poboljšanja postojećih supstanci, odnosno dizajna novih, efikasnijih lijekova. Nadalje, veoma je važna kontrola i reproducibilnost prilikom izolacije djelatne tvari tijekom sintetskog postupka, čemu također pridonosi poznavanje protonacijskih svojstava u sprezi sa strogom kontrolom pH pri procesu izolacije.⁵ U slučaju slabo topljivih spojeva, čija se pK vrijednost ne može odrediti direktno mjerenjem u vodenim otopinama, često je korištena metoda ekstrapolacije na temelju mjerenja pK u miješanim otapalima s različitim udjelom vode. Pri tome se koristi nekoliko metoda kojima se procjenjuje pK u čistoj vodi, a pristup kalibraciji staklene elektrode pri potenciometrijskim mjerenjima značajno se razlikuje unutar dostupne literature te je nerijetko interpretacija eksperimentalnih potenciometrijskih rezultata upitna.^{4,6} Iz navedenih razloga može se zaključiti da rezultati dobiveni u okviru ove disertacije neće doprinijeti isključivo poboljšanju sinteze omeprazola, već potencijalno pomoći i u razvoju metoda određivanja protonacijskih svojstava farmakoloških spojeva općenito. Poznavanje termodinamičkih funkcija reakcija protonacije također je neobično važno pri dizajniranju sintetskih procesa koji te reakcije uključuju, naročito u slučaju industrijske proizvodnje, zbog čega se i tom aspektu posvetila značajna pozornost tijekom izrade ovog rada.

Istraživanje predloženo u okviru ove doktorske disertacije doprinijet će razumijevanju utjecaja sastava otapala na termodinamičke parametre ravnoteža protonacije i otapanja za nekoliko spojeva korištenih pri sintezi farmakološki važnog spoja omeprazola. Očekuje se da će ti rezultati omogućiti poboljšanje sintetskog postupka pri proizvodnji omeprazola te smanjiti utrošak energije i organskih otapala, ali i pružiti detaljniji uvid u utjecaj solvatacije na termodinamiku protonacije i otapanja derivata piridina i imidazola.

Prilikom istraživanja cilj je bio optimizirati reakcijske uvjete u smislu smanjenja potrošnje energenata i štetnog otapala metanola unutar sintetskog postupka omeprazola koji se trenutno koristi u industriji. Ubrzanje prvog koraka u sintezi omeprazola povećanjem udjela vode u reakcijskom mediju očekivano je na temelju povećanja udjela deprotoniranih oblika reaktanata u otapalu s većim udjelom vode. Isto tako je bilo očekivano i da povećanje udjela vode neće nepovoljno utjecati na topljivost reaktanata, što je također detaljno ispitano. Kalorimetrijska istraživanja, odnosno određivanje entalpije otapanja reaktanata OM-M i OM-Cl provedena su u svrhu potpune termodinamičke karakterizacije prvog sintetskog koraka utjecaja temperature na proučavane ravnoteže te mogućnosti procjene toplinskih efekata u industrijskoj proizvodnji omeprazola. Modificiranje sintetskih putova korištenih pri sintezi omeprazola može dovesti do neželjenih kemijskih reakcija čije je produkte bilo potrebno

kvalitativno i kvantitativno identificirati. Usporedbom HPLC analiza, MS i NMR analiza omeprazola dobivenog prvotnim i modificiranim sintetskim putem dokazano je da se nisu pojavila nova onečišćenje niti se povećao udio poznatih, te je očuvana kvaliteta produkta i nakon primjene unaprjeđenog postupka.

2. LITERATURNI PREGLED

Svaki se lijek sastoji od djelatne tvari i od farmakološki neaktivnih supstanci. Djelatna tvar (engl. *active pharmaceutical ingredient*, API) je biološki aktivna komponenta lijeka, koja je odgovorna za njegove učinke. Odnosno, supstanca koja se koristi u lijeku (engl. *finished pharmaceutical product*, FPP) sa svrhom snabdijevanja farmakološkom aktivnosti.

Farmakološka aktivnost može biti usmjerena na liječenje, ublažavanje ili sprječavanje bolesti, može imati direktan utjecaj na obnavljanje, ispravljanje ili modificiranje fizioloških funkcija, te može imati ulogu prilikom dijagnostike. Neki lijekovi, poput kombinirane terapije, mogu imati više aktivnih sastojaka za liječenje različitih simptoma ili djelovanje na različite načine.

Za razliku od aktivnih sastojaka, neaktivni sastojci se u farmaceutskom kontekstu nazivaju pomoćnim tvarima ili ekscipijentima (engl. *pharmacologically inactive substances*). Pomoćne tvari mogu biti prirodne ili sintetske, te mogu imati ulogu nosača, mazivog sredstva (magnezijev stearat, natrijev stearil fumarat, talk), punila (saharoza, mikrokristalna celuloza, manitol, laktoza monohidrat), stabilizatora (natrijev karbonat), veziva (gelatinirani škrob, poli(etilen-glikol)), sredstva za raspadanje (natrijev glikolat, gelatinirani škrob) ili sredstva za poboljšanje tecivosti (koloidalni silicijev dioksid). Kako bi lijek bio učinkovit za svaku djelatnu tvar treba pomno odabrati ekscipijent, a za što je potrebno dobro poznavanje fizikalnih svojstava djelatne tvari.

Stjenka želuca se sastoji od tri sloja glatkih mišića, te brojnih žlijezda koje izlučuju probavne sokove i sluz. Želučani sokovi su enzim pepsin, klorovodična kiselina i sluz. Enzim pepsin služi za degradaciju bjelančevina u peptide, klorovodična kiselina razgrađuje masti, a želučana sluz ju razrjeđuje kako ne bi oštetila stjenku želuca. Poremećaj u lučenju želučane kiseline je identificiran kao jedan od agresivnih čimbenika koji pridonose nastanku peptičnog ulkusa i drugih poremećaja povezanih s hipersekrecijom klorovodične kiseline u želučanom soku, kao što su gastroezofagealna refluksna bolest (GERB), erozivni ezofagitis, eozinofilni ezofagitis i Zollinger–Ellisonov sindrom. Smanjenje želučane kiseline, bilo kirurškim putem ili farmakološkim liječenjem, najčešće su korištene metode pri liječenju ulkusa. Medikamentnim liječenjem smanjenje želučane kiseline postiže se sredstvima koja neutraliziraju želučanu kiselinu, na primjer antacidi, ili onima koji inhibiraju izlučivanje kiseline. Antacidi su bazični anorganski spojevi koji neutraliziraju klorovodičnu kiselinu u

želučanom soku, koriste se natrijeve, magnezijeve, kalcijeve i aluminijske soli karbonata ili silikata te hidroksidi. Mogu se koristiti i kombinacije dvije soli za bolji učinak, a najčešće su to natrijev hidrogenkarbonat i kalcijev karbonat.

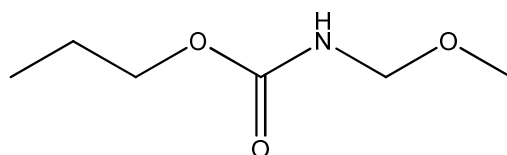
Spoj histamin potiče lučenje želučanog soka i blokadom njegovog djelovanja dolazi do značajnog pada intenziteta lučenja HCl u želucu. Karakteristično je da se histamin veže za dvije vrste receptora, H1 i H2 receptore, međutim samo se u parijetalnim stanicama želuca nalaze H2 receptori i vezanje histamina na te receptore potiče parijetalne stanice na lučenje želučanog soka. Lijekovi H2 blokatori koji se specifično vežu samo za H2 receptore, blokiraju ih i tako sprječavaju vezanje histamina za njih, pri čemu posljedično dolazi do smanjenja lučenja želučanog soka, su ranitidin, cimetidin i famotidin. Iako su H2 blokatori umnogome poboljšali liječenje ulkusnih bolesti bilo je jasno da oni ne mogu najučinkovitije riješiti problem hipersekrecije HCl u želučanom soku. Naime, histamin nije jedini podražaj na lučenje HCl. Postoji više načina poticanja želučane sekrecije, acetilkolinom, koji je oslobođen od kolinergičkih živčanih terminala, ili gastrinom, koji se sintetizira i otpušta u krv iz antralnih G stanica. Međutim, samo je jedan način izlučivanja HCl u lumen želuca i to preko protonske pumpe. U pitanju je transmembranski kotransporter na unutrašnjoj površini parijetalne stanice i okrenut je prema lumenu želuca. U enzimskom smislu to je ATP-aza, troši ATP, a glavna mu je svrha aktivni transport H^+ iona iz parijetalnih stanica u lumen želuca i to nasuprot gradijentu koncentracije. Umjesto njegovog pozitivnog naboja ulazi kalijev ion koji kompenzira naboj. Zato se taj transporter naziva još i H^+/K^+ -ATP-aza. Kalij se poslije prebacuje zajedno sa kloridnim ionom natrag u lumen želuca tj. on samo cirkulira. Konačni neto promet je izlazak H^+ i Cl^- u lumen želuca, odnosno izlučivanje HCl. Ako se blokira taj ključni protein nikakav podražaj ne može rezultirati izlučivanjem HCl. Inhibitori protonske pumpe, omeprazol, pantoprazol, rabeprazol, lansoprazol i esomeprazol, blokiraju taj sustav ireverzibilno. Da bi ponovo mogla lučiti HCl parijetalna stanica mora sintetizirati novu protonsku pumpu. A za to treba vremena. Stoga je jasno da će takvi lijekovi biti vrlo uspješni za liječenje svih bolesti gdje je hipersekrecija želučane sluznice problem. Trenutačno su inhibitori protonske pumpe najbolje rješenje za peptičke bolesti poput gastritisa i čira na želucu ili dvanaesniku. Omeprazol je prvi inhibitor protonske pumpe korišten u kliničke svrhe, prolijek je, što znači da u organizmu metabolizira i prelazi u aktivnu formu. Naime, u kiselom mediju pretvara se u ciklički sulfonamid koji reagira s protonskom pumpom, enzimom H^+-K^+ -ATP-azom koji je završni čimbenik u procesu izlučivanja želučane kiseline i

ireverzibilno se veže preko disulfidnog mosta te je trajno inhibira. Na taj način dugotrajno i gotovo potpuno sprečava izlučivanje kiseline.

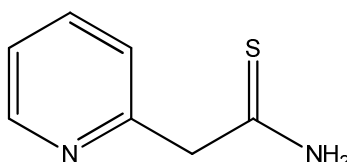
Svjetska zdravstvena organizacija je uvrstila omeprazol na listu osnovnih lijekova,⁶ na kojoj se nalaze osnovni, najefikasniji i sigurni lijekovi, potrebni za funkcioniranje zdravstvenog sustava na svjetskoj razini. U skupini gastrointestinalnih antiulcer lijekova nalaze se samo ranitidin i omeprazol.

2.1. Otkriće omeprazola

Potruga za blokatorom želučane kiseline započinje 1966. godine, nakon što je primijećeno da su neki oralno primjenjivani anestetici prouzročili redukciju izlučivanja želučane kiseline.¹⁶ Istraživanja nove klase lijekova počela su od nekoliko spojeva koji su strukturno slični lidokainu, lokalnom anestetiku i antiaritmiku. Nakon testiranja niza spojeva, projekt završava 1970. godine pronalaskom antisekrecijskog spoja oznake H 81/75, prikazan na slici 2, koji je bio vrlo učinkovit kod štakora, međutim bez djelovanja na ljudima. U drugom istraživanju iz 1972. godine kandidat za antivirusni lijek, spoj piridiltioacetamid, oznake CMN 131, slika 3, je tijekom farmakološke studije pokazao da inhibira sekreciju želučane kiseline, te je istraživanje za blokatorom želučane kiseline nastavljeno.

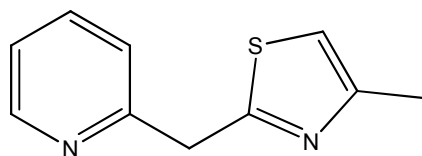


Slika 2. Struktura spoja H 81/75

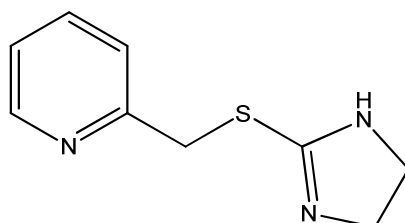


Slika 3. Struktura spoja CMN 131

Pokazalo se da je CMN 131 toksičan za jetru, te je funkcionalna skupina CSNH_2 za koju se sumnjalo da je odgovorna za toksičnost, zamijenjena s aromatskim prstenom koji sadržava sumpor, dobiveni spoj H 116/18 prikazan je na slici 4, i sa alifatskim lanacem sa sulfidnom skupinom, spoj H 77/67, slika 5. Antisekrecijski učinak pronađen s H 77/67 bio je polazna točka za ispitivanje spojeva opće strukture XYZ, gdje su X i Z heterociklički prstenasti sustavi, a Y povezujući lanac.

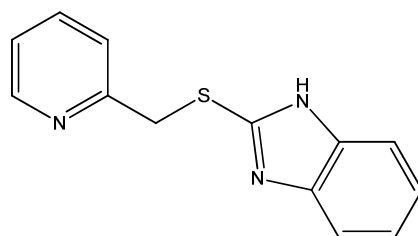


Slika 4. Struktura spoja H 116/18

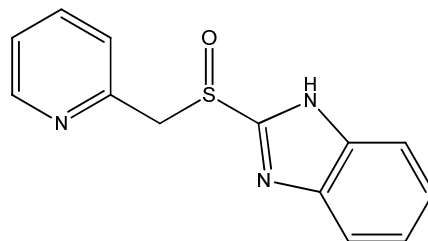


Slika 5. Struktura spoja H 77/67

Vrlo dobar antisekrecijski efekt pronađen je samo s jednom kombinacijom X, Y i Z, spoj H 124/26, slika 6. Oksidiran u sulfoksid, spoj H 83/69 na slici 7, pokazao je jače antisekrecijsko djelovanje. Kasnije je nazvan timoprazol, te je matični spoj sada poznate skupine piridinilmetilsulfinilbenzimidazola.

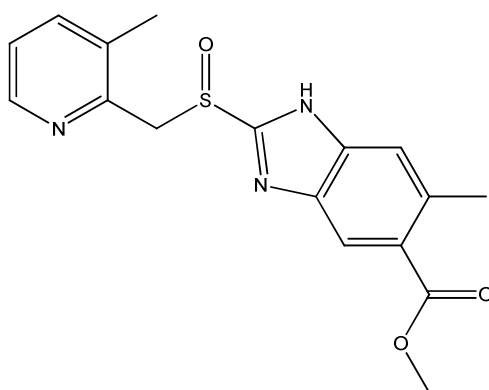


Slika 6. Struktura spoja H 124/26

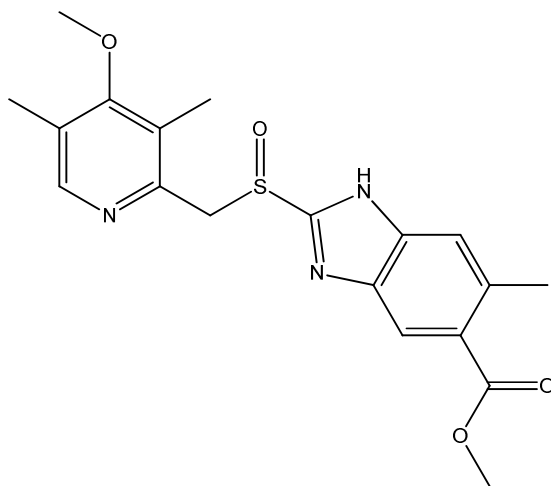


Slika 7. Struktura spoja H 83/69 (timoprazol)

Tijekom toksikoloških studija timoprazola pronađeno je da osim antisekrecijskog učinka, blokira i unos joda u štitnjaču, te stoga nije mogao biti korišten u kliničkoj studiji na ljudima. U cilju razdvajanja spomenuta dva učinaka, pripremljeni su i testirani brojni analozi timoprazola prilikom čega je utvrđeno da su za te učinke odgovorni različiti supstituenti na dva prstena. 1977. godine je sintetiziran spoj H 149/94, slika 8, nazvan pikoprazol, koji uz antisekrecijsko djelovanje nije imao toksično djelovanje te je mogao biti testiran u kliničkoj studiji na ljudima. Iste godine na simpoziju u Uppsali, koji je za temu imao transport vodikovog iona, autori George Sachs i suradnici izložili su rezultate imunološkog istraživanja dobivenih s poliklonskim protutijelom i enzimom H^+K^+ -ATP-azom, koji su netom otkrili autori Ganser i Forte. Uskoro je otkriveno da je pikoprazol inhibirao ovaj enzim. U međuvremenu, razvoj sinteze je nastavljen s ciljem pronalaska spoja s još jačim djelovanjem od pikoprazola. Utvrđeno je da su supstituenti u piridinskom prstenu odgovorni za jačinu učinka. Supstituenti koji su elektron donori povećavaju pK_a -vrijednost i ujedno povećavaju potentnost spoja u ulozi blokatora H^+K^+ -ATP-aze. Metoksi grupa na četvrtoj poziciji i metilna grupa na trećoj ili petoj poziciji povećava bazičnost piridinskog prstena, pa je stoga sintetizirano više analoga spoja sa 3,5-dimetil-4-metoksi-supstituiranim piridinskim prstenom. Spoj H 159/69, na slici 9, koji ima isti benzimidazolni dio kao pikoprazol, pokazao je jako djelovanje, ali isto tako se pokazalo da je nestabilan. 1979. godine izabran je spoj H 168/68, slika 1, nazvan omeprazol, te se pokazao optimalnim kao dobar blokator enzima H^+K^+ -ATP-aze, te kemijski stabilan.



Slika 8. Struktura spoja H 149/94 (pikoprazol).

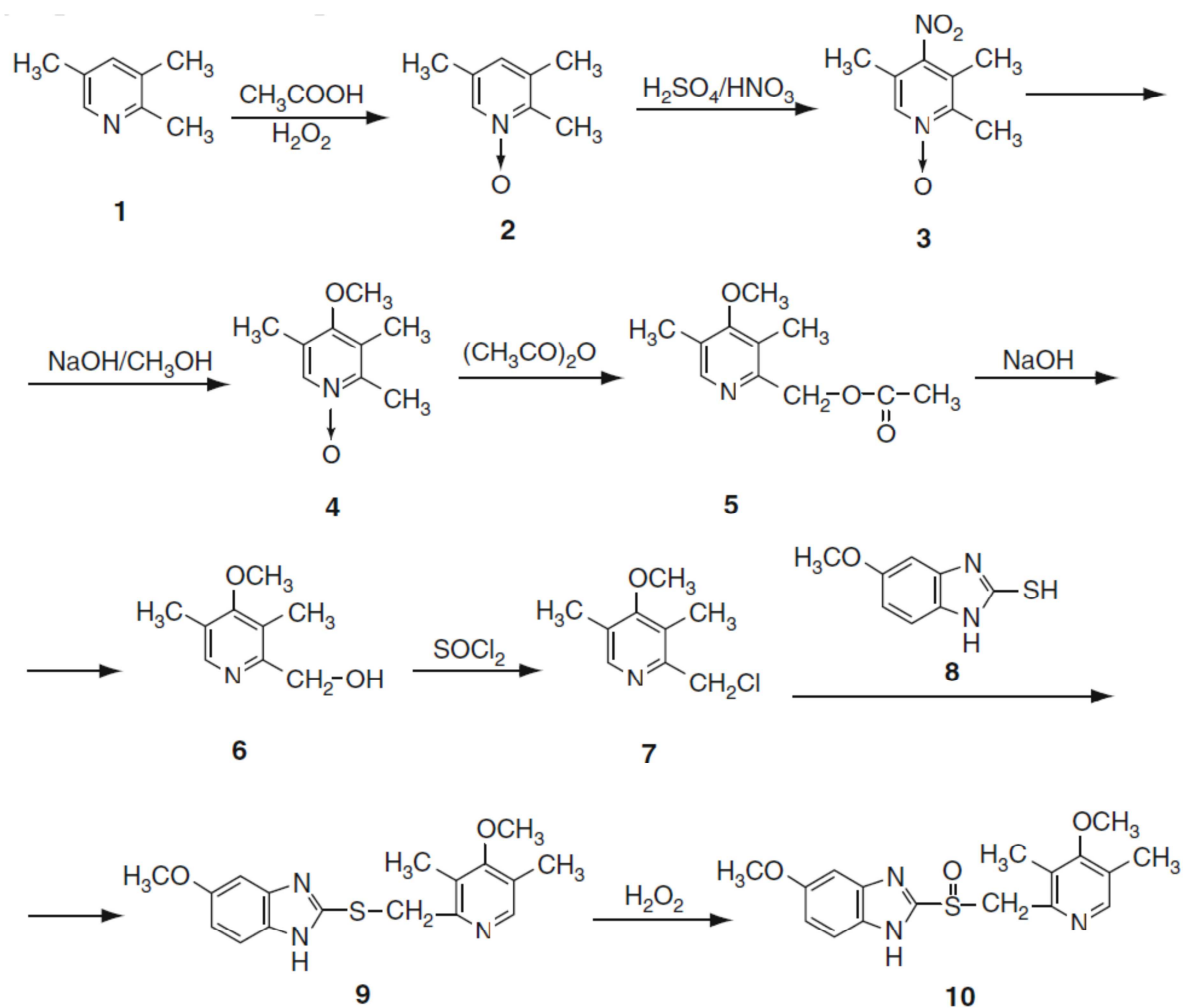


Slika 9. Struktura spoja H 159/69

2.2. Sinteza 5-metoksi-2-[(4-metoksi-3,5-dimetil-2-piridinil)metansulfinil]-1H-benzimidazola

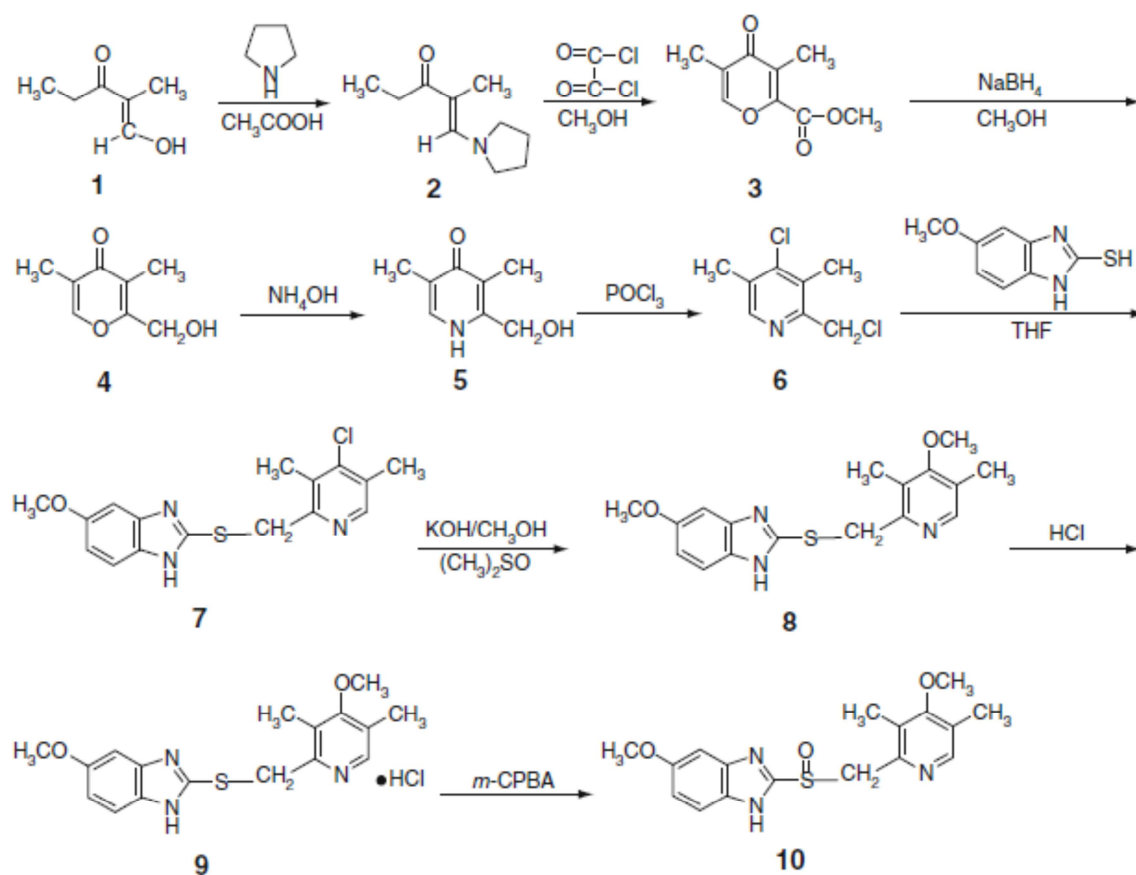
Istraživanja su nastavljena u smjeru pronalaženja adekvatnog sintetskog puta, koji bi kasnije bio upotrijebljen u proizvodnji lijeka. Mnogi autori su predložili sintetski put od kojih su izdvojeni i prikazani reprezentativni primjeri.

A. E. Brändström i B. R. Lamm¹⁷ predložili su početak sinteze reakcijom oksidacije 2,3,5-trimetil piridina (1) vodikovim peroksidom u octenoj kiselini. Shema je prikazana na slici 11. Nastali *N*-oksid (2) djelovanjem mješavine sulfatne kiseline i nitratne kiseline daje 4-nitro derivat (3). Nitro skupina se supstituira u metoksi skupinu (4) uz natrijev metoksid. Reakcijom anhidrida octene kiseline i spoja (4) aktivira se metilna skupina uz *N*-oksid i nastaje derivat estera (5) koji nakon djelovanja bazom prelazi u alkoholni prekursor (6). Djelovanjem tionil klorida hidroksilna grupa je supstituirana kloridom (7). Ovo je ujedno zadnji korak u sintezi piridinskog prekursora omeprazola. Nakon toga slijedi ranije opisana reakcija benzimidazola (8) u kojoj nastaje 5-metoksi-2-[(4-metoksi-3,5-dimetil-2-piridinil)metiltiol]-1H-benzimidazol (9) te se u zadnjem koraku oksidira vodikovim peroksidom u odgovarajući sulfoksid (10).



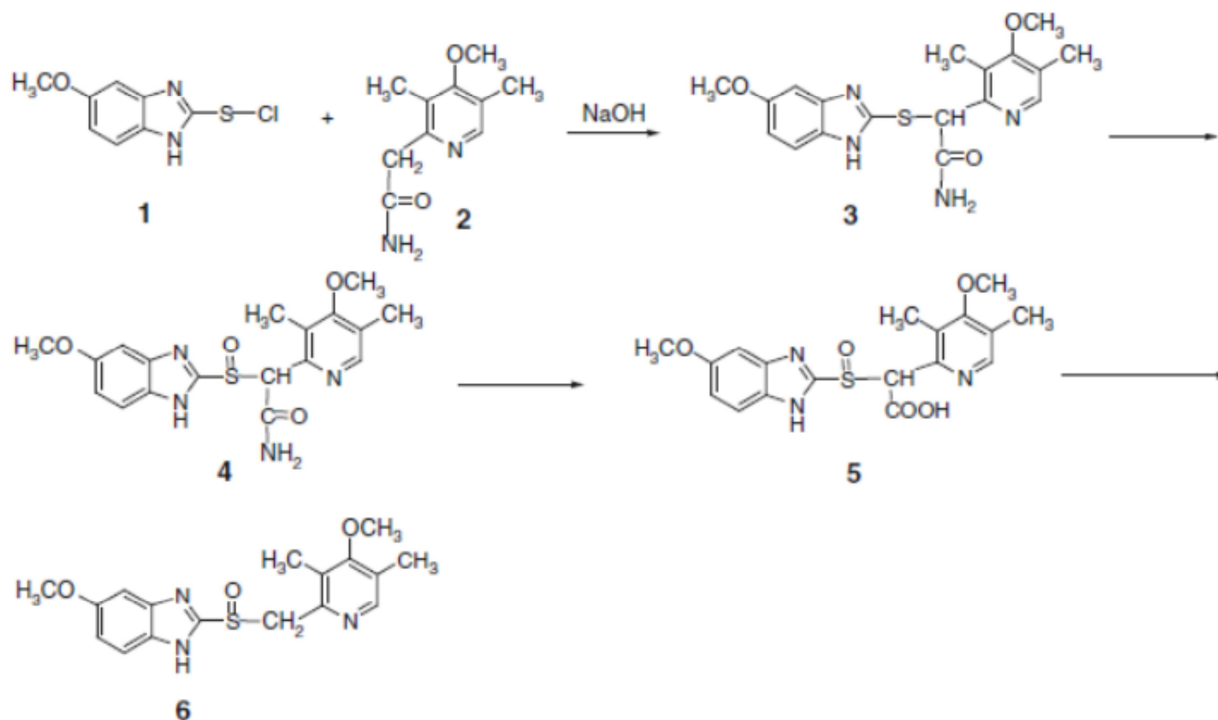
Slika 11. Sintetski put iz patenta A. E. Brändström, B. R. Lamm, U.S. Patent 4,620,008. (Aktiebolaget Hassle), 1986.

Drugi sintetski put,¹⁸ prikazan na slici 12, kreće iz aciklilčkog 2-metil-3-oksopentenola koji reagira s pirolidinom, potom u reakciji s oksalil-kloridom prelazi u piron, kojemu se prvo reducira esterski ogranak u alkohol s NaBH_4 , a potom prevodi u piridon u reakciji heteroatomne izmjene s amonijakom. Slijedi reakcija aromatizacije piridona u piridin s fosforovim oksikloridom. Na kraju slijedi formiranje tioeterske veze s benzimidazolom u omeprazol-sulfid. U ovom slučaju oksidacija u sulfoksid provodi se u reakciji s kloroperbenzojevom kiselinom.



Slika 12. Sintetski put iz patenta J. E. Baldwin, R. M. Adlington, N. P. Crouch, U.S. Patent 6043371,2000.

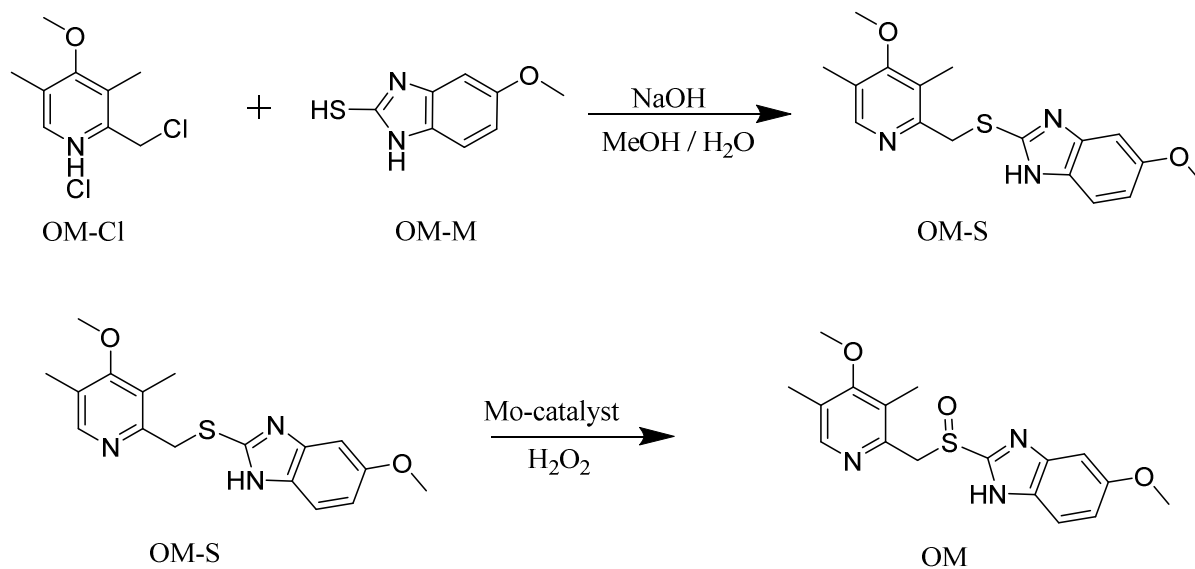
Treći sintetski put¹⁹, slika 13, započinje reakcijom kondenzacije 5-metoksi-2-kloromerktobenzimidazola i 3,5-dimetil-4-metoksi-2-metilamidopiridina dajući acetamidni tioeter koji se oksidira u acetamid sulfoksid. Acetamidna skupina se hidrolizira u karboksilat, a zatim dekarboksilira u omeprazol.



Slika 13. Sintetski put iz patenta C. Slemon, B. Macel 1995, US Patent 5,470,983. (Torcan Chemical Ltd., Canada), 1995.

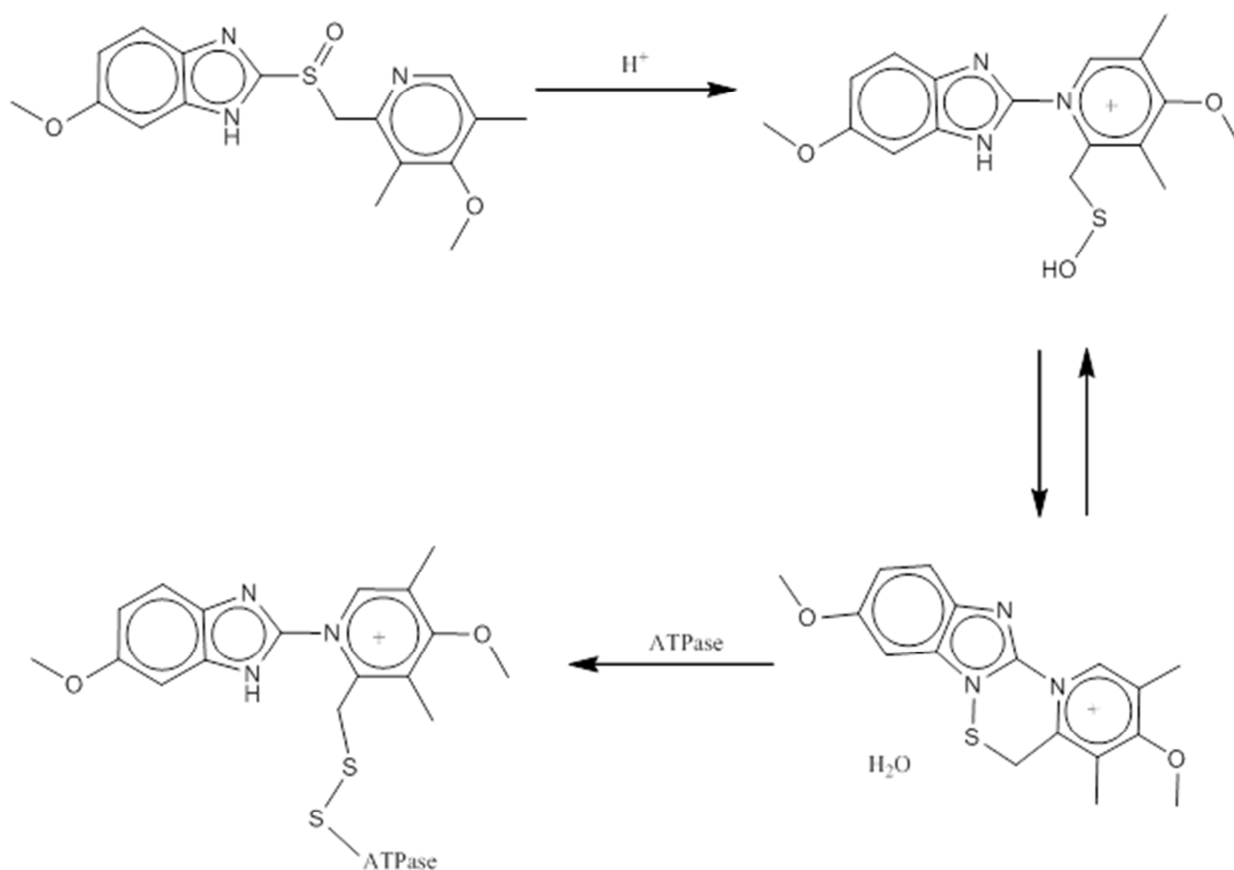
Usljedila su mnogobrojna istraživanja sintetskog puta. Za potrebe industrijske proizvodnje počela se koristiti sinteza omeprazola koja se provodi u dva uzastopna koraka bez izolacije (one-pot metoda) ili s izolacijom međuprodukta nakon prvog koraka. Prvi korak u sintezi 5-metoksi-2-[(4-metoksi-3,5-dimetil-2-piridinil)metansulfinil]-1H-benzimidazola (omeprazol) je kondenzacija prethodno pripravljenog 2-klorometil-4-metoksi-3,5-dimetilpiridin hidroklorida (omeprazol klorid, OM-Cl) i 5-metoksi-1H-benzimidazol-2-tiola (metoksition, OM-M), uz natrijev hidroksid kao deprotonacijsko sredstvo, u smjesi metanola i vode uz refluks. Nakon stvaranja tioeterske veze i dobivanja 5-metoksi-2-((4-metoksi-3,5-dimetil-2-piridinil)metilsulfanil)-1H-benzimidazola (omeprazol sulfid, OM-S), slijedi oksidacija vodikovim peroksidom katalizirana dodatkom amonijeva heptamolibdata tetrahidrata u konačni sulfoksidni produkt, te slijedi pročišćavanje (prekristalizacija) sirova

produkta. Sintetski put se od pronalaska tada nove djelatne tvari 1979. godine nije u osnovi mijenjao, te se i danas proizvodi po istoj proceduri,²⁰ slika 14.



Slika 14. Shema sinteze Omeprazola.

Omeprazol sadrži trokoordinirani sulfinil sumpor u piramidalnoj strukturi i stoga može postojati kao (*S*)- ili (*R*)-enantiomeri. Produkt gore opisanih sinteza je racemična forma omeprazola odnosno ekvimolarna smjesa (*R*) i (*S*) enantiomera. U kiselim uvjetima u kanalićima parietalnih stanica, reagiraju s cisteinskom skupinom u H^+/K^+ ATP-azi i tako inhibiraju sposobnost parietalnih stanica da stvaraju želučanu kiselinu.



Slika 15. Sintetski put esomeprazola.

AstraZeneca je razvila postupak pripreme enantiomerno čistog esomeprazol (pod nazivom Nexium) koji je eutomer, čisti (*S*)-enantiomer, za razliku od omeprazola. Omeprazol se u organizmu prevodi iz slabo aktivnog (*R*)-enantiomera u aktivni (*S*)-enantiomer. Time se udvostruči koncentracija aktivnog oblika.⁴⁸ Ovaj kiralni pomak postiže se CYP2C19 izoenzimom citokroma P450, a efikasnost ovog postupka dosta ovisi o fenotipu korisnika, stoga je poželjniji enantiomerno čisti oblik.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Sve tvari korištene za istraživanje, čiji su rezultati prikazani u ovom radu, za sintezu spojeva bile su *p.a.* čistoće. Nabavljene su od proizvođača Sigma, Merck, Ajelis, Kemika, Acros i Alfa Aesar te su korištene bez dodatnih pročišćavanja. Otapala su također bila *p.a.* čistoće i korištena su bez pročišćavanja. Korišteni su spojevi OM-M (Sigma-Aldrich, 99%) i OM-Cl (Sigma-Aldrich, 98%).

Pri fizikalno-kemijskim mjerenjima korištena su slijedeća otapala i otopine: mQ voda, metanol (J.T. Baker, HPLC grade i Sigma-Aldrich, spectroscopic grade), tetrabutilamonijev perklorat (Bu_4NClO_4 , Fluka, $\geq 99,0\%$), HClO_4 (Aldrich, 70 %, $> 99,99\%$), kloridna kiselina ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$, Merck, titripure), OM-M (Sigma-Aldrich, 99 %), OM-Cl (Sigma-Aldrich, 98 %), OM-S (TCI Europe, $\geq 98\%$) i NaOH (Riedel-de Haën, $> 99\%$). Otopine NaOH su standardizirane potencimetrijski ili volumetrijski sa standardiziranom otopinom HCl ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$, Merck, titripure). Fenolftalein je korišten kao indikator pri volumetrijskim titracijama. Otopine HClO_4 standardizirane su otopinom standardizirane NaOH. Smjese miješanih otapala metanola i vode pripremljene su miješajući određene volumene metanola (J.T. Baker, HPLC grade) i friško pripremljene deionizirane vode (MiliQ).

Pri analitičkom mjerenjima korištene su tvari prikazane u tablici 1.

Tablica 1. Popis standarada i kemikalija korištenih prilikom analitičkih mjerenja.

Standard / kemikalija	Čistoća	Proizvođač
Omeprazol sulfon	n/a	Eur.Ph
Dezmetoksi omeprazol	98,70 %	LGC Standards
Omeprazol sulfid	99,90 %	LGC Standards
OM-M	99,80 %	Pliva
Omeprazol N-oksid	99,40 %	LGC Standards
Omeprazol 4-kloro analog	99,00 %	LGC Standards
Omeprazol sulfon N-oksid	99,20 %	LGC Standards
Natrijev hidrogen fosfat dodekahidrat	<i>p.a.</i>	J. T. Baker
Natrijev hidrogen fosfat dihidrat	<i>p.a.</i>	J. T. Baker
1,2-dinitrobenzen	99,80 %	Sigma-Aldrich
Natrijev borat	<i>p.a.</i>	J. T. Baker
Acetonitril	HPLC grade	J. T. Baker
Fosforna kiselina	<i>p.a.</i>	Kemika
Etanol	99,90 %	Merck

3.2. Sinteza omeprazola

3.2.1. Sinteza na laboratorijskoj skali

Priređivanje omeprazola originalnim i korigiranim sintetskim postupkom na laboratorijskoj skali u dva uzastopna koraka bez izolacije provedeno je tako da je odabrana početna masa OM-M koja je iznosila 5,00 g, dok su svi ostali reaktanti bili prisutni u množinskom omjeru korištenom u postojećem industrijskom sintetskom postupku.

U tikvicu okrugla dna s tri grla od 250 mL opremljenu termometrom i pumpom za dokapavanje otopljen je natrijev hidroksid (2,48 g) u smjesi 31,0 mL metanola i 2,50 mL vode. Nakon 10 minuta miješanja dodan je OM-M (5,00 g) u jednom obroku. Suspenzija je miješana narednih 10 minuta nakon čega je u jednom obroku dodan OM-Cl (6,13 g). Nakon dodatka OM-Cl reakcijska smjesa je miješana sljedećih 10 minuta, nakon čega je uzet uzorak za HPLC analizu reakcijske smjese. Nakon stvaranja tioeterske veze i dobivanja 5-metoksi-2-((4-metoksi-3,5-dimetil-2-piridinil)metilsulfanil)-1H-benzimidazola (omeprazol sulfid, OM-S), slijedi oksidacija katalizirana dodatkom amonijeva heptamolibdata tetrahidrata u konačni sulfoksidni produkt vodikovim peroksidom. U smjesu dobivenu tijekom prvog stupnja sinteze se nakon dodatka katalizatora dokapavala vodena otopina vodikovog peroksida ($w(\text{H}_2\text{O}_2) = 6\%$) pri sobnoj temperaturi što je rezultiralo nastankom sirova produkta te je slijedilo njegovo pročišćavanje (prekristalizacija).

Nakon provedenih sinteza na maloj skali (5 g početnog OM-M) u kojima je ispitan utjecaj variranja udjela otapala, provedbe reakcije samo na sobnoj temperaturi (ukidanje povratnog hlađenja) kao i nekih drugih parametara poput vremena miješanja sirove smjese, reakcije su provedene na većoj skali koristeći optimizirane parametre. Pokazano je kako prelazak na 50 puta veću skalu (250 g početnog OM-M) nema utjecaj na ishod reakcije po pitanju iskorištenja kao i čistoće konačnog produkta.

3.2.2. Sinteza omeprazola uvećanih volumena

Za sintezu omeprazola u uvećanom volumenu provedenih u postrojenju za uvećanje postupka (Pilotno postrojenje), po modificiranom postupku pripremljene su otopine:

- 4,4 % $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ – otopljeno je 8,60 g amonijeva heptamolibdata tetrahidrata u 187 ml vode;
- 6 % H_2O_2 – 200 ml vodikova peroksida ($w = 30\%$) dodano je u 800 ml vode;
- 20 % CH_3COOH – 60 ml ledene octene kiseline dodano je u 240 ml vode;
- 40 % NaOH – otopljeno je 40 g natrijeva hidroksida u 60 ml vode.

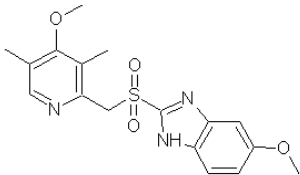
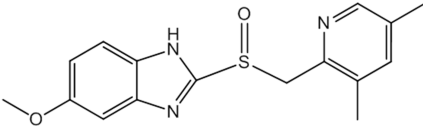
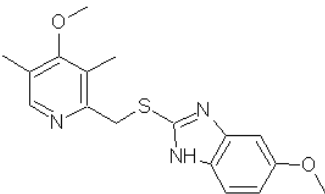
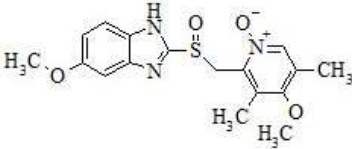
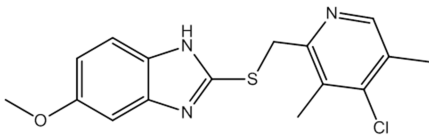
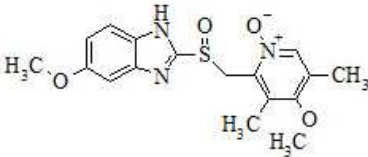
Sinteza se provodila u reaktoru od 3 L opremljeno mehaničkom miješalicom, termometrom, PTFE sondom i pH-metrom. U reaktor je uliveno 1430 ml metanola i 250 ml vode i pokrenuto je miješanje, koje je postavljeno na 240 okretaja u minuti, a temperatura smjese se održavala do 20 °C. Dodano je 124 g natrijeva hidroksida, koji se nakon 10 min gotovo u potpunosti otopio, te je popraćeno povećanjem temperature na oko 40 °C. Nakon što se potpuno otopio dodano je u jednom obroku 250 g OM-M, a nakon 5 min gotovo sve je bilo otopljeno. Zatim je dodano 308 g OM-Cl i miješano je 20 min uz porast temperature na 48 °C. Nakon što je temperatura pala ispod 25 °C, dodana je otopina amonijeva heptamolibdata i započeto je dokapavanje otopine vodikova peroksida preko peristaltičke pumpe tako da se 840 ml dodavalo tijekom 90 min. Tijekom te faze vrijednost pH je padala i povremeno se prilagođavala dodavanjem 40 % natrijevog hidroksida. Temperatura je održavana između 20 - 25 °C. Reakcija je egzotermna pa je temperatura plašta postavljena ispod 5 °C. Nakon dodavanja peroksida, reakcijska smjesa se miješala 5 min i dodno je 6,9 g natrijevog tiosulfata. Kada je temperatura u reaktoru dosegla temperaturu plašta od 15 °C, ta se temperatura održavala do kraja procesa. Nadalje, pH se namjestio na vrijednost 9,1 uz sporo dodavanje octene kiseline. U toj fazi proizvod je počeo taložiti. Smjesa se miješala još dva sata s periodičnom korekcijom pH tako da se vrijednost održavala na 9,1. Proizvod se profiltrirao, zatim se isprao tri puta s 500 ml vode i sušio uz pomoć vakuuma na 30 °C, što je dalo 398 g sirovog omeprazola.

3.3. Kromatografska metoda visoke razlučivosti

Razvijena je analitička metoda tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (engl. HPLC – *High Performance Liquid Chromatograph*) s C8 nepokretnom fazom i izokratnim eluiranjem za određivanje onečišćenja u djelatnoj tvari omeprazolu. Metoda je validirana i provedeni su eksperimenti prisilne razgradnje, prilikom čega je provjerena selektivnost metode klasičnim pristupom provjere čistoće uporabom detektora s nizom dioda, kao i uporabom dvodimenzijske kromatografije visoke djelotvornosti vezane sa spektrometrijom masa. Analitička metoda za određivanje sadržaja i onečišćenja, strukture onečišćenja u tablici 2, u omeprazolu validirana je prema preporučenim farmakopejskim parametrima za validaciju analitičke metode, kako propisuje Međunarodna konferencija za harmonizaciju, a koji su slijedeći: selektivnost i specifičnost, linearnost, preciznosti u smislu ponovljivosti, međupreciznosti i obnovljivosti, granica kvantifikacije, granica detekcije i postojanost. Metoda zadovoljava sve postavljene kriterije i smatra se prikladnom za predviđenu namjenu.

Sve analize su provedene na HPLC sustavu Agilent 1200, korištena je analitička kolona Waters XBridge C8, 150 cm x 4,6 mm, 3,5 μ m. Korištene su tehnička vaga Mettler Toledo XS205 i analitička vaga Mettler Toledo UMX2, pročištač za vode Milli-Q Advantage A10 i pH-metar Methrom 780. Sve analize su praćene sustavom Empower 2.0.

Tablica 2. Strukture onečišćenja

onečišćenje	struktura
omeprazol sulfon	
desmetoksi omeprazol	
omeprazol sulfid	
omeprazole <i>N</i> -oksid	
omeprazol 4-kloro analog	
omeprazol sulfon <i>N</i> -oksid	

3.4. Mjerne metode korištene za fizikalno-kemijska istraživanja

3.3.1. Spektrofotometrija

Svi UV-Vis spektri snimljeni su pomoću spektrofotometara Cary 5 i Cary 50 tvrtke Varian. Temperatura otopina od $(25,0 \pm 0,1)$ °C održavana je stalnom prilikom snimanja pomoću termostata kojima su opremljeni spektrometri. Spektri su snimljeni s korakom 1 nm uz integracijsko vrijeme 0,2 – 0,4 s, a pokriveno spektralno područje je bilo od 200 nm do 350 nm. Korištene kivete bile su debljine 1 cm.

Kod simultanih potenciometrijsko-spektrofotometrijskih titracija korištena je sonda s optičkim vlaknima (Hellma) koja je uronjena u otopinu koja se nalazila u termostatiranoj titracijskoj posudi. Temperatura otopina od $(25,0 \pm 0,1)$ °C održavana je stalnom prilikom snimanja pomoću termostata kojima su opremljeni spektrometri. Spektri su snimljeni s korakom od 1 nm uz integracijsko vrijeme 0,2-0,4 s, a pokriveno spektralno područje je bilo od 240 nm do 350 nm. Pri tome je duljina optičkog puta iznosila 1 cm.

3.3.2. Potenciometrija

Za mjerenje pH korišten je pH-metar Metrohm 827 uz kombiniranu staklenu elektrodu Metrohm 6.0234.1000. Sva potenciometrijska mjerenja provedena su uz propuhivanje otopina titranda argonom u termostatiranoj ćeliji pri temperaturi od $(25,0 \pm 0,1)$ °C, koja je održavana pomoću termostata xx, te je otopina miješana magnetskom miješalicom. Prije svake potenciometrijske titracije staklena elektroda je kalibrirana koncentracijskom kalibracijom. Prilikom kalibracije mjerena je elektromotivnost kombinirane staklene elektrode uronjene u otopinu perklorne kiseline ($c = 0,005 \text{ mol dm}^{-3}$), u termostatiranoj ćeliji ($\theta = (25,0 \pm 0,1)$ °C) uz propuhivanje argonom, te je titrirana otopinom natrijevog hidroksida ($c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$). Otopine perklorne kiseline i natrijevog hidroksida pripremljene su u otapalima $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$ 1, 5,73 i 12,6 te u čistom metanolu. Otopina natrijevog hidroksida standardizirana je potenciometrijskom ili volumetrijskom titracijom pomoću kloridne kiseline ($c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$). U svim slučajevima utvrđena je linearna ovisnost E vs. pH uz nagib pravca blizak Nernstovom.

3.3.3. Koncentracijska kalibracija elektrode

Staklena elektroda je kalibrirana koncentracijski, mjerenjem elektromotivnosti kombinirane elektrode uronjene u standardiziranu otopinu HClO_4 ($c \approx 4,5 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$), titracijom standardiziranim otopinom NaOH ($c \approx 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$) u svakom pojedinom otapalu. Ionska jakost je održavana konstantnom $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO_4). Postignuta je dobra linearnost E vs. pH, uzimajući u izračun jako kiselo područje $\text{pH} < 3,2$ i jako bazično područje $\text{pH} > 10,5$, te je u svim slučajevima ostvareno ponašanje elektrode blisko Nernstovom.

Autoprotoliza otapala pri zadanim eksperimentalnim uvjetima je određena iz rezultata potenciometrijskih mjerenja i u dobrom je slaganju sa literaturnim podacima.

3.3.4. Spektrofotometrijsko-potenciometrijske titracije

Vrijednosti konstanti ravnoteže protonacije spojeva OM-Cl, OM-M i OM-S pri $\theta = (25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$ i ionskoj jakosti $5 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$, koja je postignuta dodatkom tetrabutilamonijevog perklorata, u miješanim otapalima metanol/voda ($V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$ 1, 5,73 i 12,6) te u čistom metanolu određene su spektrofotometrijsko-potenciometrijskim titracijama. Otopine spojeva su pripravljene s početnom koncentracijom od $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$

3.3.5. Mikrokalorimetrija

Mikrokalorimetrijska mjerenja provedena su pomoću izoternog titracijskog kalorimetra VP-ITC tvrtke Microcal pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$. Otopine titransa dodavane su automatski pomoću birete ukupnog volumena $300 \text{ } \mu\text{l}$, dok je početni volumen titranda iznosio $1,4182 \text{ ml}$. Topline su dobivene integracijom ovisnosti toplinske snage o vremenu pomoću programa Origin 7.5. i korigirane su za toplinu razrjeđenja. Točnost i preciznost kalorimetra provjerena je električnim baždarenjem.

3.3.6. Otopinska kalorimetrija

Kalorimetrijska mjerenja entalpije otapanja krutih uzoraka u otapalima $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$ 1, 5,73 i 12,6 te u čistom metanolu provedena su pomoću instrumenta TAM III u modulu Otopinski kalorimetar. Temperatura otopina održavana je stalnom na $(25,0 \pm 0,1)$ °C.

Korištene kemikalije i instrumenti:

- metanol, HPLC grade (J. T. Baker, SAD);
- ultra čista voda;
- 2-klorometil-4-metoksi-3,5-dimetilpiridin hidroklorid, $w = 98$ % (Sigma Aldrich, SAD);
- 5-metoksi-1H-benzimidazol-2-tiol, $w = 99$ % (Sigma Aldrich, SAD);
- 5-metoksi-2-((4-metoksi-3,5-dimetil-2-piridinil)metilsulfanil)-1H-benzimidazol, $w = 98$ % (Sigma Aldrich, SAD);
- kalorimetar za određivanje topljivosti TAM III i *SolCal* program, TA Instruments;
- analitička vaga XPE205, Mettler Toledo;
- aparat za ultra čistu vodu Milli-Q Advantage A10, Merck Millipore.

Uzorci su se pomoću mikroljievka izvagali u ampule za krute uzorke u količinama po 100 mg 2-klorometil-4-metoksi-3,5-dimetilpiridin hidroklorida i 5-metoksi-1H-benzimidazol-2-tiola, te po 20 mg 5-metoksi-2-((4-metoksi-3,5-dimetil-2-piridinil)metilsulfanil)-1H-benzimidazola. Ampulu se zatvorilo sa silikonskim čepom, te se dodatno nanošenjem pčelinjeg voska osigurala izolacija spoja u ampuli. Čelija se napunila s 25 ml otapala, redom miješanim otapalima metanola i vode pripremljenim u omjerima 1, 5,73 i 12,6, te čistim metanolom. Ampula s uzorkom se pričvrstila na nosač i uronila u otapalo. Cijelo vrijeme se nosač s ampulom vrtio oko svoje osi. Čelija se uronila u termostatirani kalorimetrijski cilindar uz održavanje temperatura od $(25,0 \pm 0,1)$ °C. Nakon 90 min nosač s ampulom pritisnuo se kako bi igla u čeliji probušila dno ampule, a uzorak se pomiješao s otapalom, te se prilikom otapanja uzorka u otapalu mjerila izmjena topline u sustavu. Sva mjerenja ponovljena su tri puta.

Parametri metode:

- temperatura ćelije: 25 °C
- brzina okretanja ampule s uzorkom: 400 rpm
- snaga grijača: 500 mW
- broj kalibracija: 1
- parametri kalibracije: toplina 5 J, napon 500 mV, vrijeme 10 s
- vrijeme bazne linije prije i nakon razbijanja ampule s uzorkom: 5 min
- vrijeme stabilizacije: 90 min

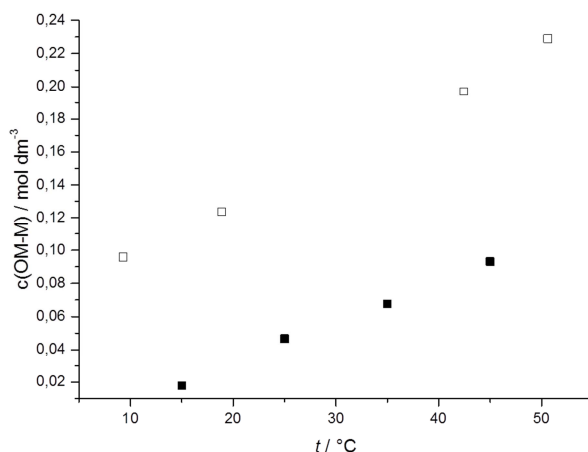
3.3.7. Spektrofotometrijsko određivanje topljivosti

Priredene su zasićene otopine spojeva OM-M, OM-Cl i OM-S u svakom od proučavanih otapala. Zasićene otopine pripremljene su u semimikro-epruветama dodavanjem suviška krutine u otapalo. Dobivene smjese ostavljene su nekoliko dana u termostatiranoj ćeliji radi uravnoteženja sustava. Sve otopine bile su termostatirane na temperature 15 °C, 25 °C, 35 °C i 45 °C. Topljivost je određena spektrofotometrijski pomoću dvoznačnog UV-Vis-NIR spektrofotometra Cary 5, tvrtke Varian. Alikvoti otopina su otpipetirani i razrijeđeni otapalom u kvarcnoj kiveti duljine optičkog puta 1 cm (Suprasil QX). Snimljeni su spektri razrijeđenih otopina na $(25,0 \pm 0,1)$ °C iz kojih je izračunana topljivost liganda. Molarni apsorpcijski koeficijenti liganda u navedenim otapalima dobiveni su mjerenjem apsorbancija otopina poznatih koncentracija.

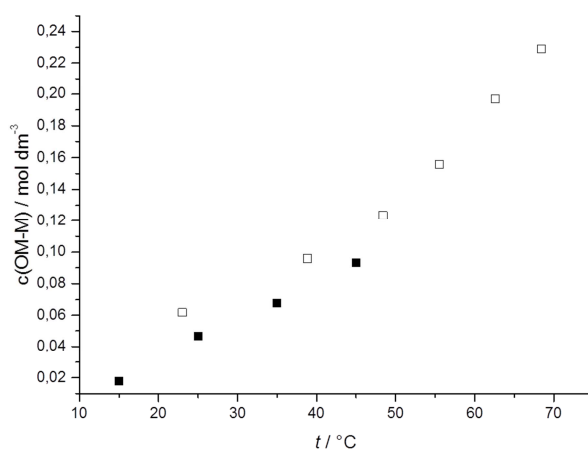
3.3.8. Turbidimetrija

Određivanje topljivosti mjerenjem turbiditeta provedeno je automatiziranim instrumentom Crystal 16 s proširenim istraženim temperaturnim rasponom. Određivanje topljivosti temelji se na pojavi turbiditeta uslijed precipitacije spoja iz prezasićene otopine, na što značajan utjecaj može imati kinetika kristalizacije.

Turbidimetrijski se odredila topljivost na automatiziranom instrumentu Crystal 16, mjerenjem smanjenja ili povećanja intenziteta svjetlosti kroz otopinu spoja u različitim otapalima, po temperaturnom programu od 10 °C do 70 °C. Reprezentativni primjeri prikazani su na slikama 16 i 17.



Slika 16. Topljivost spoja OM-M u miješanom otapalu $V(\text{metanol})/V(\text{voda}) = 5,7:1$ određivana spektrofotometrijski \blacksquare i turbidimetrijski \square prilikom zamućenja otopine.



Slika 17. Topljivost spoja OM-M u miješanom otapalu $V(\text{metanol})/V(\text{voda}) = 5,7:1$ određivana spektrofotometrijski \blacksquare i turbidimetrijski \square prilikom razbistrenja otopine.

3.3.9. Spektroskopija NMR

NMR spektri snimljeni su pomoću spektrometra Bruker Avance 400 MHz pri $(25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$. Kao standard korišten je signal otapala. Broj pulseva prilikom snimanja ^1H NMR spektara varirao je ovisno o koncentraciji spoja.

3.5. Obrada podataka

Prilikom obrade podataka spektrofotometrijsko-potenciometrijskih titracija korišten je program pHab.¹¹ Spektri ¹H NMR obrađivani su xx programom. Mikrokalorimetrijski podaci obrađivani su programom Origin 7.5, koji je korišten i za grafičko prikazivanje podataka te za druge računске obrade podataka. Kromatografska mjerenja obrađena su programom Empower 2.0. Prilikom određivanja topljivosti korišten je program SolCal za kalorimetrijska mjerenja te xx za turbidimetrijska mjerenja.

Sva mjerenja kod kojih su podaci kvantitativno obrađivani ponovljena su barem tri puta te su tablicama u nastavku dane srednje vrijednosti izračunanih termodinamičkih veličina, a nepouzdanosti određenih vrijednosti izražene su kao standardne pogreške aritmetičke sredine.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Industrijski procesi proizvodnje djelatnih tvari (API) se neprestano revidiraju s tendencijom da se poboljšaju. Unapređenje procesa proizvodnje je ciljano usmjereno s očekivanjem poboljšanja kvalitete proizvoda te u smislu optimiranja troškovne učinkovitosti. Tijekom životnog ciklusa proizvoda, a posebice u prvim godinama proizvodnje čak i u slučajevima kada se radi o lijekovima znatnog volumena proizvodnje, proizvodni procesi nisu optimirani. Ako se ne provodi kontinuirano unapređivanje postupka pripreme API-ja, posljedice su veće zagađenje, veća potrošnja materijala i komunalnih usluga potrebnih za proizvodnju, koje na posljetku čini proizvod skupljim, a u određenim slučajevima ako se koriste opasne tvari u sintezi može se dogoditi da obrada neizreagiranih tvari postane iznimno skupa. Svaki proces uključuje određeni utjecaj na okoliš koji je također direktna posljedica izbora procesa proizvodnje. Mnogi su strateški pristupi razvijeni pri analizi procesa kako bi se procijenila količina proizvedenog otpada. U svrhu boje procjene otpada proces je analiziran varijacijom raznih parametara kao što su iskorištenje procesa, konverzija reaktanata, faktor utjecaja na okoliš ili ekološki faktor (E).^{1,3} Međutim, postoji samo nekoliko koncepata koji se koriste kako bi se smanjio otpad.^{12,13} Klasična optimizacija sinteze obično se izvodi po principu pokušaja i pogreške. Takva se optimizacija sinteze u farmaceutskoj industriji najčešće izvodi po dobro uhodanom planu određenog niza pokusa, koji nužno ne dovode do optimalnog rješenja i ne daju odgovore na specifične zahtjeve pojedinog slučaja. Nije neuobičajeno da se neke izmjene ili varijacije u planu pokusa odbacuju ili potpuno ignoriraju samo zato da bi se slijedila unaprijed zadana matrica. S druge strane, prikupljanje fizikalno-kemijskih podataka o spojevima i reakcijama u procesu proizvodnje API-ja, može pridonijeti optimizaciji na sustavniji način. Trebalo bi istaknuti da je pozitivna strana takvog pristupa u činjenici da se može koristiti za precizno podešavanje postojećih procesa, ali bez promjena u tolikoj mjeri u kojoj bi bila potrebna nova administrativna odobrenja za uvođenje nanovo razvijenih postupaka proizvodnje. Takav je pristup predstavljen u ovome radu koji se koristi za optimiziranje sinteze omeprazola.

4.1. Omeprazol dobiven standardnim sintetskim postupkom

Prethodno razvijeni sintetski putovi za API-je inhibitore protonskih pumpi razlikuju se s obzirom na stereokemijsku strukturu produkta. Metode korištene za proizvodnjuesomeprazola i drugih enantiomerno čistih formi lijekova baziranih na omeprazolu temelje se na različitom procesu oksidacije u usporedbi s metodama korištenim prilikom proizvodnje racemičnih lijekova. Iako bi korak u kojemu se formira tioeterska veza u principu mogao biti isti, koriste se različite procedure s obzirom na zahtjeve daljnjih koraka sinteze, na primjer izbor otapala u oksidacijskom koraku ili potreba izolacije intermedijera. Sintetski put koji je proučavan u ovome radu rezultira racemičnom smjesom omeprazola.

Sinteza omeprazola zbiva se u dva uzastopna koraka bez izolacije (engl. *one-pot* metoda), nakon kojih slijedi pročišćavanje odnosno prekrystalizacija sirova produkta. Procedura je opisana u Literaturnom pregledu i prikazana na slici 14.

Prvi korak sintetskoga puta je kondenzacija 5-metoksi-1H-benzimidazol-2-tiola (metoksiona, OM-M) s 2-klorometil-4-metoksi-3,5-dimetilpiridin hidroklorida (omeprazol kloridom, OM-Cl) uz natrijev hidroksid kao deprotonacijsko sredstvo. Reakcija se provodi u sustavu metanola i vode uz povratno hlađenje. Nakon stvaranja tioeterske veze slijedi molibdenom katalizirana oksidacija dobivenog omeprazol sulfida (OM-S) u konačni sulfoksidni produkt vodikovim peroksidom. U smjesu dobivenu tijekom prvog stupnja sinteze se nakon dodatka katalizatora dokapava vodena otopina vodikovog peroksida ($w(\text{H}_2\text{O}_2) = 6\%$) pri sobnoj temperaturi što rezultira nastankom sirova produkta omeprazola.

Oksidacija je provedena u drugom dijelu prvog koraka koja je uslijedila nakon stvaranja tioeterske veze, te bez izolacije intermedijera. Vodikov peroksid je korišten kao oksidacijsko sredstvo i reakcija je tekla pod kontroliranim pH kako bi se postiglo maksimalno iskorištenje katalitičkog djelovanja heptamolibdatnog katalizatora. Nakon prve faze, koja je provedena u miješanom otapalu metanola i vode, dodana je vodena otopina katalizatora, te je uslijedilo dodavanje peroksida s povremenom korekcijom pH-vrijednosti.

Sinteza omeprazol sulfida, kondenzacijom OM-M i OM-Cl, najprije je provedena prema proceduri korištenoj za industrijsku proizvodnju omeprazola, pri čemu su količine reaktanata znatno smanjene, odnosno prilagođene laboratorijskoj skali. Odabrana masa OM-M iznosila je 5,00 g, dok su svi ostali reaktanti bili prisutni u množinskom omjeru korištenom

u postojećem industrijskom sintetskom postupku. Pripremljeni su uzorci za HPLC analizu reakcijskog sustava.

4.1.1. Sinteza na laboratorijskoj skali

U industrijski korištenoj proceduri za prvi reakcijski korak u sintezi omeprazola stoji da se nakon dodatka OM-Cl preostalim reaktantima, reakcijska smjesa zagrijava uz povratno hlađenje sat vremena. Međutim, HPLC analize reakcijskih smjesa dobivenih u laboratorijskim istraživanjima, ukazale su kako zagrijavanje nije neophodno budući da su se reakcije provedene prema gore opisanom postupku zbivale uz visoko iskorištenje i pri sobnoj temperaturi. U tablici 3 navedeni su rezultati stupnja konverzije reaktanata u produkte (η) bez zagrijavanja i uz zagrijavanje reakcijske smjese. Prvi uzorak uzet je 10 min nakon miješanja reaktanata pri sobnoj temperaturi (vrijeme refluksa 0), nakon čega je reakcijska smjesa zagrijana do vrenja (refluks) i njezin sastav analiziran svakih deset min slijedećih 50 min.

Kao što je vidljivo iz prikazanih rezultata, iskorištenje je i pri sobnoj temperaturi vrlo visoko (97 %) i ne mijenja se znatno zagrijavanjem reakcijske smjese u cijelom vremenskom periodu. Stoga se može zaključiti da i u industrijskoj proizvodnji reakcijsku smjesu nije potrebno zagrijavati.

Tablica 3. Ovisnost konverzije OM-M u OM-S tijekom vremena.

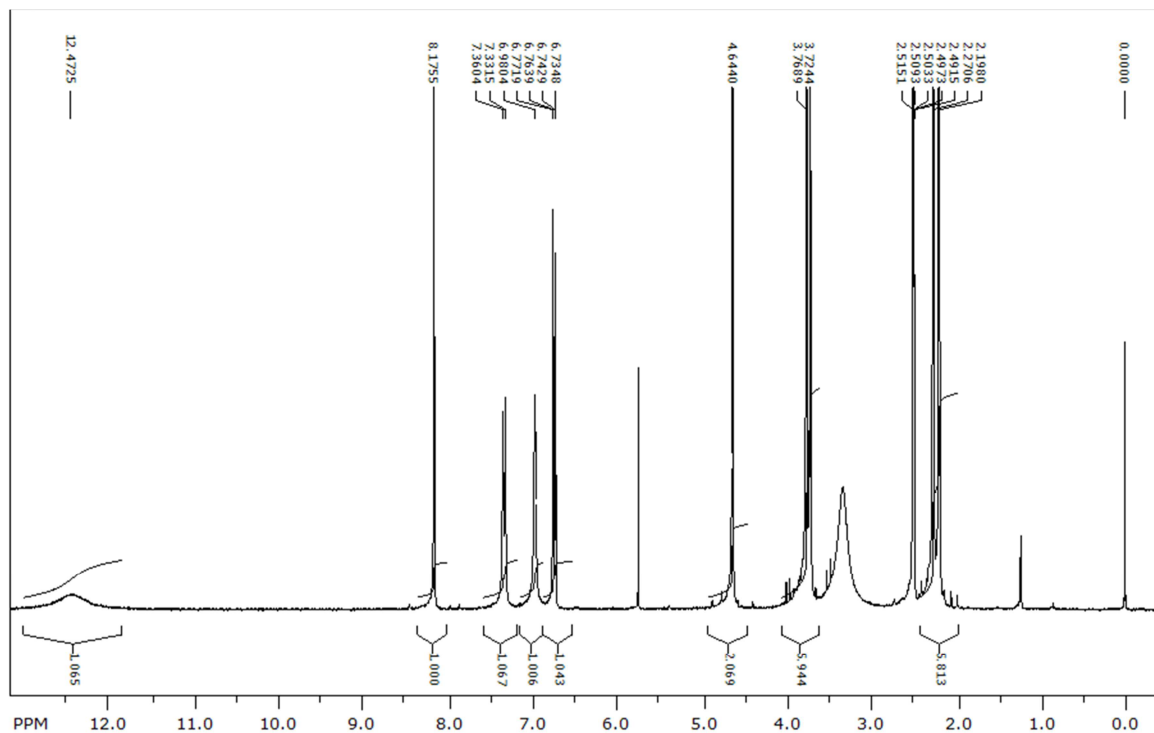
Vrijeme refluksa / min	0	10	20	30	40	50
η / %	96,3	96,3	97,5	98,0	98,2	98,2

Kako bi se ispitala reproducibilnost dobivenih rezultata prvi je korak sinteze omeprazola pri sobnoj temperaturi ponovljen više puta. U svim eksperimentima odnosno korištenim uzorcima, sastav dobivene reakcijske smjese analiziran je pomoću HPLC kromatografije otprilike 10 min nakon što su dodani svi reaktanti. Stupanj konverzije reaktanata u produkte (η) u pojedinim uzorcima prikazan je u tablici 4.

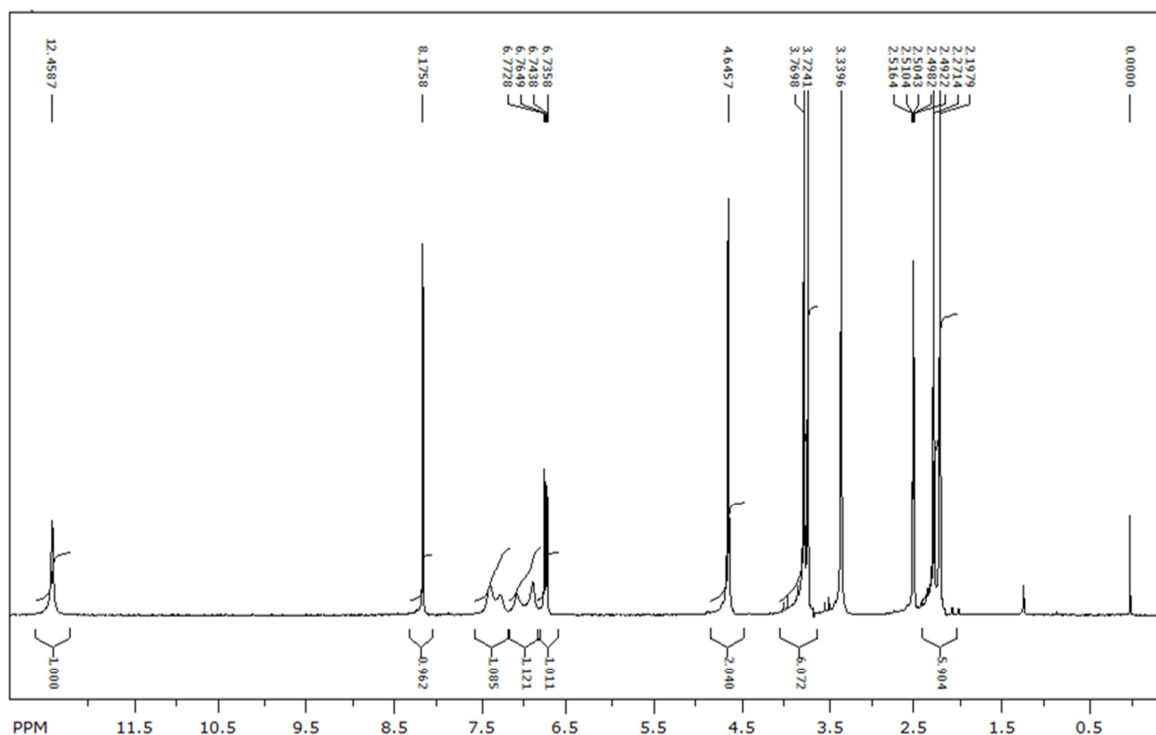
Tablica 4. Stupanj konverzije reaktanata u produkt u pojedinim uzorcima.

Broj uzorka	1	2	3	4	5	6	7
η / %	96,30	98,58	98,16	97,50	97,05	97,65	96,13

Rezultati HPLC analize dodatno su potvrđeni izolacijom produkta reakcije jednog od uzoraka. U tu svrhu u sirovu reakcijsku smjesu dodana je voda, nakon čega je uslijedila ekstrakcija produkta diklormetanom, ispiranje organskog sloja s vodom te sušenje ekstrakta i uparavanje. Dobiveni produkt izvagan je te mu je snimljen NMR spektar, prikazan na slikama 18 i 19. Masa izoliranog spoja odgovarala je stupnju konverzije određenom HPLC analizom reakcijske smjese, a snimljeni NMR spektar, slika 18, bio je sličan spektru čistoga produkta, slika 19.



Slika 18. ^1H NMR spektar sirove tioeterske smjese dobivene u modificiranom pokusu kondenzacijom pri sobnoj temperaturi.



Slika 19. ^1H NMR spektar referentnog uzorka omeprazola.

Analiza uzoraka provedena je tekućinskom kromatografijom visoke razlučivosti. Sadržaj produkta omeprazola se paralelno pratio potenciometrijskom titracijom s otopinom NaOH ($c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$). Ostatna otapala u uzorcima su određivana plinskom kromatografijom. Svi uzorci su praćeni termogravimetrijskom analizom, dok je anorganski ostatak kvantificiran u obliku teških sulfata žarenjem. Voda u uzorcima metanola korištenog za sintezu određivana je titracijskom metodom po Karl Ficheru, voda u uzorcima produkta se nakon sušenja određivala metodom gubitka sušenjem do $105 \text{ }^\circ\text{C}$. Rezultati svih analiza uzoraka dobivenih na laboratorijskoj skali bili su u slaganju s uzorcima dobivenim u proizvodnji. Analitička HPLC metoda za određivanje sadržaja i onečišćenja u omeprazolu validirana je prema preporučenim farmakopejskim parametrima za validaciju analitičke metode, čiji rezultati su prikazani u tablici 5.

Tablica 5. Prikaz granica prihvatljivosti i rezultata pojedinih testova nakon validacije analitičke metode.

Test		Granica prihvatljivosti	Rezultati testova
Specifičnost / selektivnost Interferencijski signali		nema	nema
RSD površine signala Omeprazola		$\leq 2,0 \%$	1,0 %
Linearnost, R^2		$\geq 0,990$	0,999
Preciznost	koncentracije od QL – 0,50 %	$\leq 15,0 \%$	5,9 %
QL	RSD	$\leq 15,0 \%$	8,1 %
Granica detekcije signal/šum	koncentracija 0,01 % u odnosu na testnu otopinu	$S/N \geq 3$	min. 11,9
Postojanost	RSD replika nakon pet dana	$\leq 15,0 \%$	6,2 %

Spomenuta analitička metoda omogućuje brzu kvalitativnu i kvantitativnu kemijsku analizu uzorka bez izolacija produkta pod uvjetom da su eluens, punilo te dimenzije kolone korištene za separaciju pogodno odabrani. Za istraživani reakcijski korak u sintezi omeprazola zadovoljavajuća separacija produkta i reaktanata postignuta je pri sljedećim uvjetima:

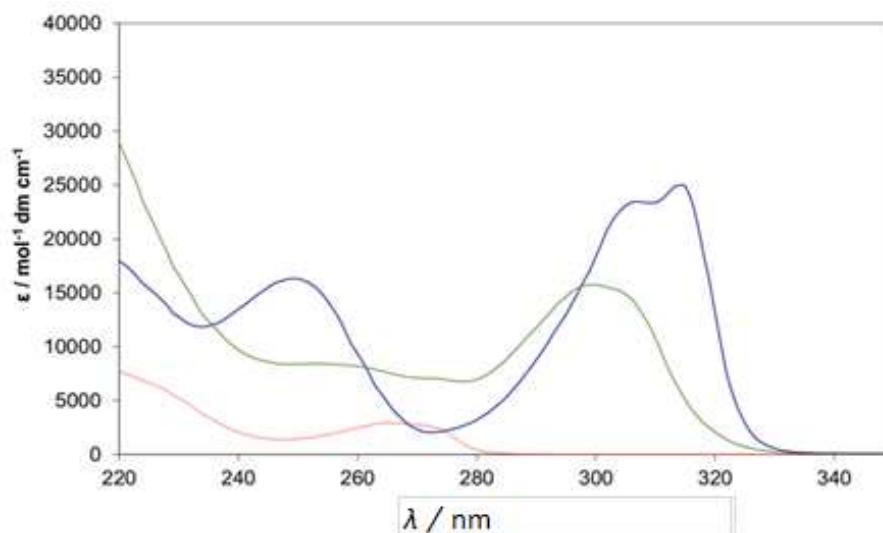
Kolona: X Bridge C8 dimenzija 150 mm x 4,6 mm, 3,5 μm

Eluens: V/V 27 acetonitril 73 fosfatni pufer, pH = 8 (1,4 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ otopljeno je u 1 L vode i pH je podešen s konc. fosfornom kiselinom)

Protok eluensa: 1 ml / min

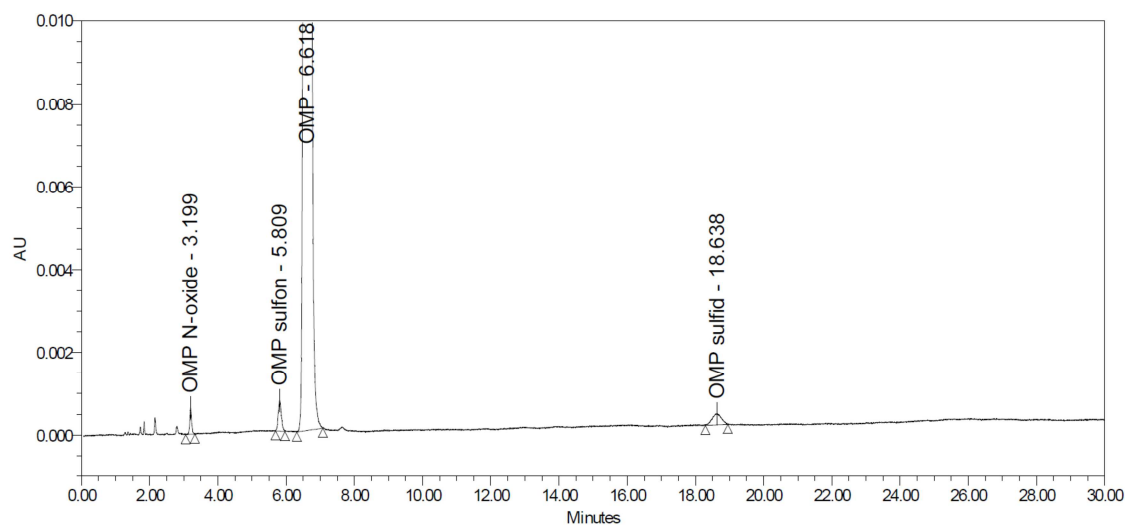
Temperatura kolone: 25 °C

Kako bi odziv UV detektora odgovarao koncentraciji sudionika reakcije određena je ovisnost molarnog apsorpcijskog koeficijenta o valnoj duljini elektromagnetskog zračenja za OM-Cl, OM-M i OM-S, što je prikazano na slici 20. Tijek reakcije praćen je pri 297 nm.

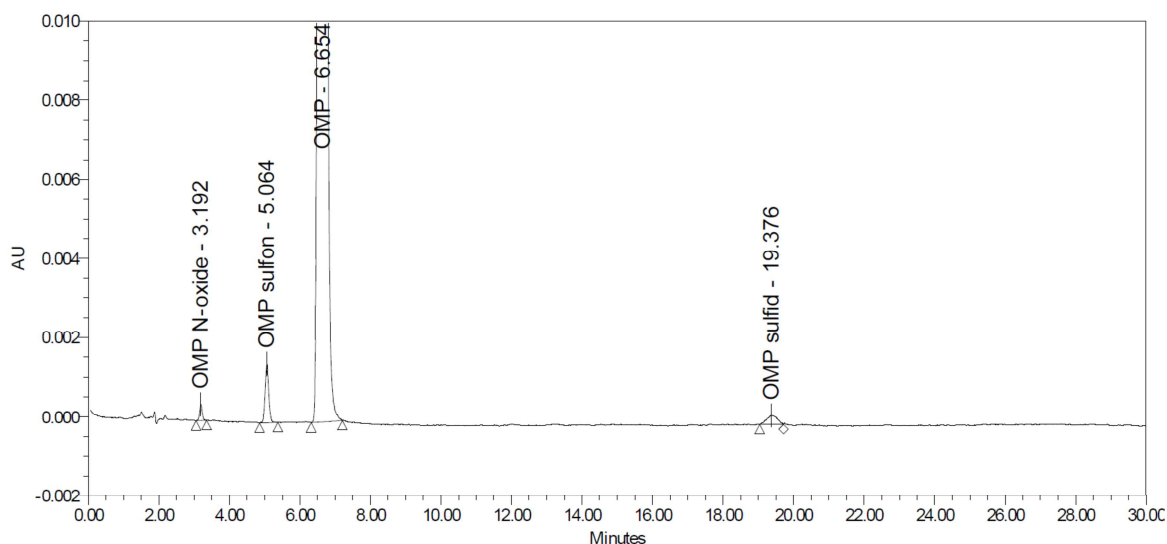


Slika 20. Svojevrsni spektri molekula OM-Cl, OM-M i OM-S u fosfatnom puferu, pH = 8, pri $(25,0 \pm 0,1)$ °C. — OM-M, — OM-Cl, — OM-S.

Nakon HPLC analize smjese dobivene 10 min nakon početka reakcije, slika 21, pri sobnoj temperaturi reakcijska je smjesa zagrijana do vrenja i njen sastav analiziran u različitim vremenskim intervalima na istovjetan način, prikazan je primjer na slici 22.



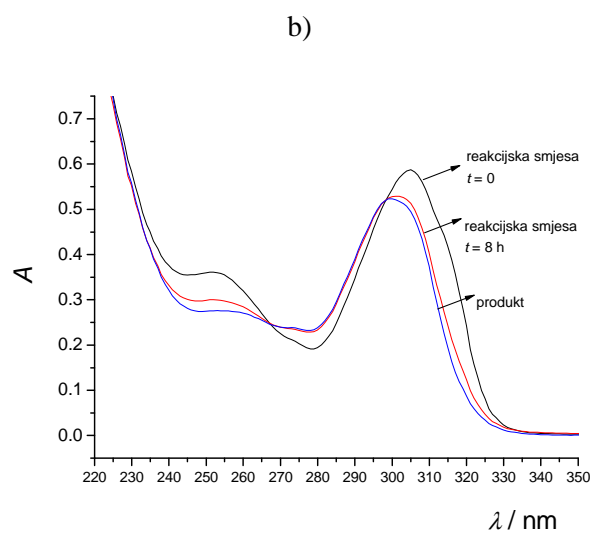
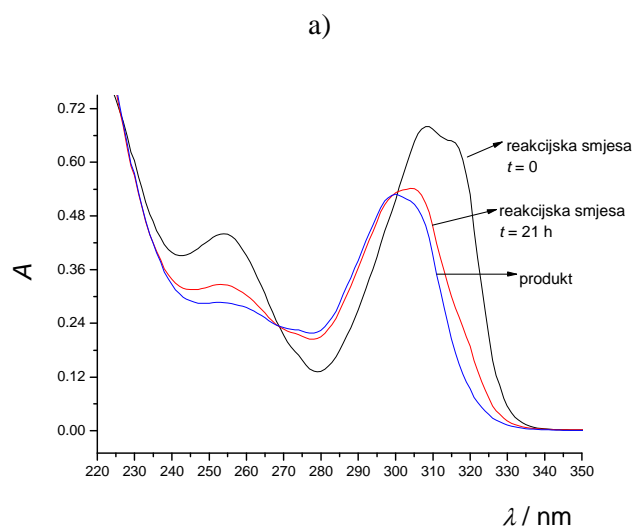
Slika 21. HPLC analiza omeprazola pripremljenog modificiranom procedurom (izvorni ispis).



Slika 22. HPLC analiza omeprazola pripremljenog standardnom procedurom (izvorni ispis).

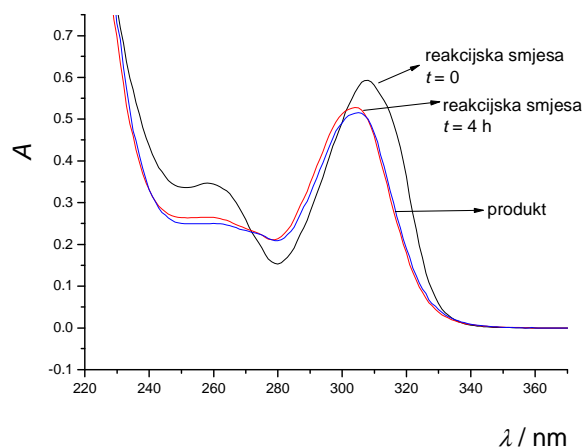
4.1.2. Modifikacija procesa

Nakon dobivanja rezultata analize laboratorijskih uzoraka omeprazola, nastavak istraživanja bio je usmjeren prema povećanju volumnog udjela vode u binarnom sustavu otapala metanola i vode u kojem se odvija kondenzacija. Na ta istraživanja upućivali su rezultati fizikalno-kemijskih mjerenja u kojima je dobiveno drastično ubrzanje reakcije povećanjem udjela vode. Naime, preliminarna istraživanja kinetike reakcije kondenzacije OM-Cl i OM-M ukazala su na znatno ubrzanje reakcije ukoliko se provodila u smjesi otapala metanol/voda s većim udjelom vode ($\varphi(\text{H}_2\text{O}) = 0,5$) u odnosu na otapalo korišteno u postojećem industrijskom sintetskom postupku, što je prikazano na slikama 23 a i 23 b.



Slika 23. Spektri reakcije smjese i produkta reakcije u otapalu ($V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$) (a) i ($V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$) (b) u kiveri optičkog puta $l = 0,1$ mm; $c(\text{OM-Cl}) = c(\text{OM-M}) = 3,33 \times 10^{-3}$ mol dm⁻³, $c(\text{NaOH}) = 6,66 \times 10^{-3}$ mol dm⁻³ pri $(60,0 \pm 0,1)$ °C.

Jednak je utjecaj na brzinu reakcije postignut i dodatkom NaOH u suvišku u odnosu na količinu navedenu u propisima za sintezu omeprazola, što je prikazano na slici 24.



Slika 24. Spektri reakcije smjese i produkta reakcije u otapalu ($V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$) u kiveti optičkog puta $l = 0,1$ mm; $c(\text{OM-Cl}) = c(\text{OM-M}) = 3,33 \times 10^{-3}$ mol dm^{-3} , $c(\text{NaOH}) = 1,67 \times 10^{-2}$ mol dm^{-3} pri $(60,0 \pm 0,1)$ °C.

Do znatnog ubrzanja reakcije dodatkom NaOH, odnosno H_2O , najvjerojatnije dolazi zbog povećanog udjela deprotoniranih oblika reaktanata budući da se specijacija dodatkom lužine pomiče prema deprotoniranim oblicima. To je posljedica činjenice da su pK -vrijednosti većine sulfida i piridinskih spojeva niže u vodi u odnosu na metanol. Da bi se ispitala navedena pretpostavka određene su pK -vrijednosti oba spoja u industrijski korištenom miješanom otapalu, ($V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$), te u otapalima s većim i manjim udjelom vode.

Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da se reakcija dodatkom NaOH u suvišku u miješanom otapalu ($V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$) najvjerojatnije ubrzava zbog većeg udjela deprotoniranog OM-M. Naime, zbog vrlo velikih razlika u pK -vrijednostima spojeva, OM-Cl je pri reakcijskim uvjetima u kojima je NaOH dodan u stehiometrijskom množinskom omjeru gotovo u potpunosti deprotoniran, dok je OM-M dobrim dijelom nedisociran. Za detaljnija pojašnjenja utjecaja pH, ali i sastava otapala, na brzinu reakcija prvoga koraka sinteze omeprazol-sulfida bilo je potrebno provesti odgovarajuća kinetička istraživanja.

Budući da su sintetska istraživanja ukazala da je reakcija kondenzacije OM-Cl i OM-M pri koncentracijama pri kojima se provodi sinteza u industrijski korištenom otapalu dovoljno brza, u sustavu nije nužan suvišak NaOH. S druge strane, proizvodnja omeprazola mogla bi se provesti uz smanjenu upotrebu štetnog metanola, ukoliko se prvi korak sinteze može provesti u otapalu s povećanim udjelom vode. S ciljem ispitivanja navedene mogućnosti

modifikacije postojećih sintetskih postupaka, prvi korak sinteze omperazola proveden je i u miješanom otapalu metanol/voda ($\varphi = 0,5$). Nakon što je ustanovljeno da veći udio vode u miješanom otapalu voda/metanol ubrzava prvi korak sinteze odnosno kondenzaciju OM-M i OM-Cl u sulfidni intermedijer zbog povećanja koncentracije deprotonirane forme OM-M, zaključeno je da će početak modifikacije biti provođenje reakcije u takvom sustavu. Sama voda nije pogodno otapalo zbog slabe topljivosti reaktanata, kao i međuprodukta, u tom otapalu. Cilj je bio pronaći optimalan omjer ta dva otapala kako bi se reakcija maksimalno ubrzala, a da pritom ne dođe do izdvajanja produkta kao zasebne uljaste faze. Prvi pokušaj proveden je koristeći sustav metanol/voda (volumni omjer: 3,2:1). Međutim, zbog prevelikog udjela vode sulfidni intermedijer se izdvojio. Nakon nekoliko pokušaja odlučeno je da se daljnja istraživanja provode u sustavu metanol/voda (volumni omjer: 5,7:1), dok je uobičajeno koristiti sustav volumnog omjera: 12,6:1. Važno je naglasiti da ukupni volumen otapala ostaje isti, samo se mijenja njihov omjer. Na taj način ne samo da se ubrzava reakcija, već se skuplje i štetnije otapalo zamjenjuje vodom. Kao i u prethodno opisanim sintezama, količine reaktanata skalirane su na 5,00 g OM-M. Već nakon jedne minute miješanja stupanj konverzije iznosio je 91,1 %, no došlo je do izdvajanja produkta iz otapala u obliku ulja.

Probne reakcije u ovom sustavu provedene su prema gore opisanoj proceduri uz izmjenu omjera vode i metanola odnosno korišteno je 25,5 mL metanola i 8 mL vode na 5 g OM-M. Iskorištenje je ostalo održano, a reakcija je znatno skraćena, ne samo zbog ukidanja faze u kojoj se provodi povratno hlađenje, već i skraćivanja vremena miješanja sirove smjese nakon oksidacije. Nakon optimizacije uvjeta na skali od 5 g OM-M, reakcija je provedena dva puta u reaktoru na skali od 250 g OM-M kako bi se dobio uvid u efekt povećanja količine vode na većoj skali kada se koristi mehaničko miješanje reaktanata, kao i uvid u eventualne probleme s kontroliranjem temperature koji se mogu pojaviti kod *scale-up* procesa.

Usporedba rezultata industrijske i novorazvijene procedure prikazana je u tablicama 6 i 7.

Tablica 6. Trajanje prve faze od početka šaržiranja do izolacije sirova produkta.

Procedura	Ukupno vrijeme / h
Industrijska	8
Novorazvijena	5

Tablica 7. Utrošak metanola i vode, obračunano za uzorak od 203 kg OM-M.

Procedura	volumen otapala / L	
	metanol	voda
Industrijska	1267	100
Novorazvijena	1164	203

Provedena su detaljna ispitivanja utjecaja vode na topljivost omeprazola pri niskim temperaturama ispod ledišta vode. Naime, u korištenom industrijskom postupku za pročišćavanje konačnog produkta reakcije od zaostalih reaktanata (omeprazol-sulfida) i nusprodukata reakcije (disulfoksida), sirovi je produkt otopljen uz zagrijavanje u acetonu uz malu količinu monoetanolamina. Ukoliko se produkt ne bi u potpunosti otopio, u dobivenu je smjesu dodana i mala količina vode (potrebna za potpuno otapanje produkta). Dobivena je otopina potom profiltrirana, a iz ohlađenog filtrata nakon redukcije volumena otapala na približno 50 % početne vrijednosti izoliran je pročišćeni omeprazol.

Provedena istraživanja opisanog načina pročišćavanja produkta ukazala su na znatan udio vode od 10 – 20 % u matičnici nakon evaporacije otapala. Zanimljivo, topljivost omeprazola je rasla s povećanjem udjela vode u acetonu do volumnog udjela od 10 %, nakon čega je poprimila približno konstantnu vrijednosti. Očekivano, sirovi produkt nije se mogao otopiti u čistom acetonu. Iz navedenoga razloga reakcijski je prinos bio iznimno malen kada je produkt prekrizaliziran iz čistog acetona (približno 50 %). Suprotno, reakcijski su prinosi bili znatno viši kada je acetonu dodana voda (75 – 85 %), a najviši je prinos ostvaren pri najmanjem udjelu vode. Iako je utjecaj količine dodane vode na iskorištenje bio znatan, čistoća omeprazola (određena tekućinskom kromatografijom) bila je iznimno visoka, neovisno o udjelu vode u korištenim otapalima.

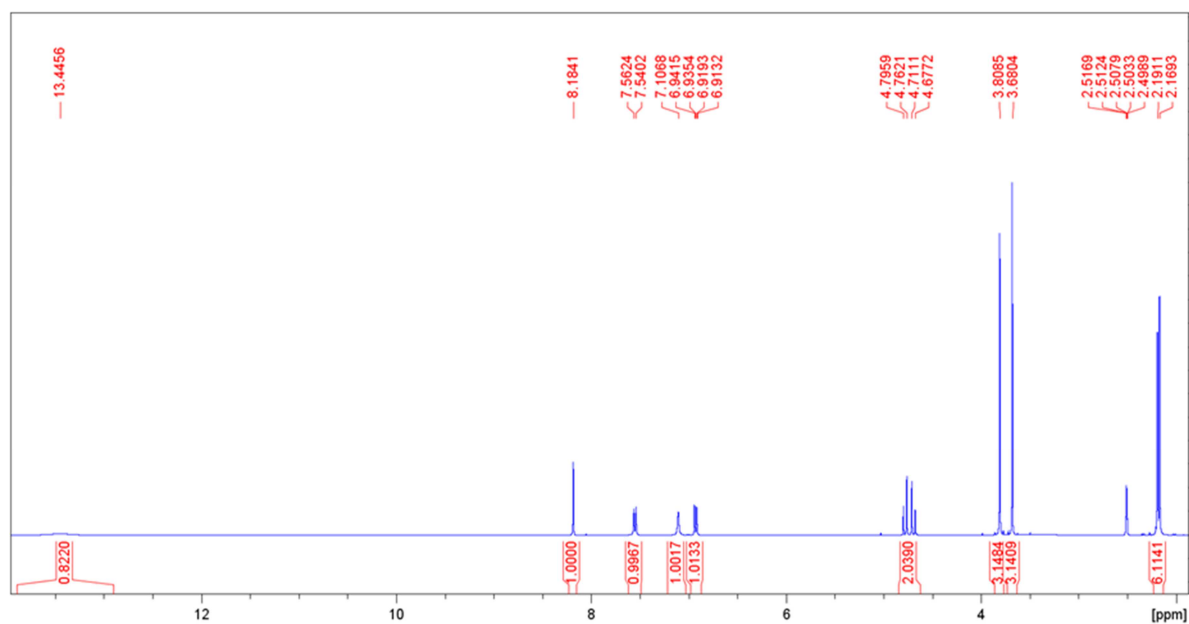
Pored ispitivanja topljivosti u acetonu i miješanom otapalu aceton-voda, spektrofotometrijski su određene topljivosti spojeva OM-Cl i OM-M u miješanim otapalima metanol/voda različitih volumnih omjera (5,7:1 i 12,6:1) pri 25 °C, što je prokazano u tablici 8. Utvrđeno je da promjena udjela vode u otapalu ne utječe znatno na topljivost polaznih spojeva u sintezi omeprazola te da je u slučaju OM-Cl topljivost neznatno veća pri nižem volumnom udjelu metanola, dok je kod OM-M primijećeno suprotno.

Tablica 8. Topljivosti OM-Cl i OM-M u miješanim otapalima metanol : voda pri $(25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

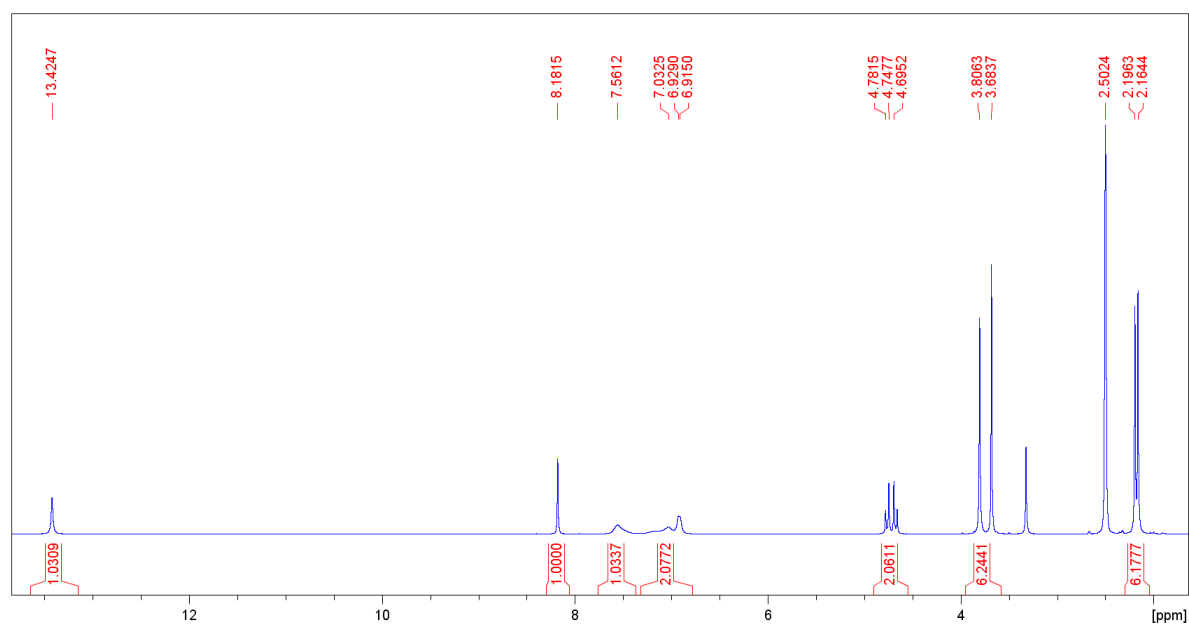
	OM-Cl		OM-M	
$V(\text{MeOH}) / V(\text{H}_2\text{O})$	12,6	5,73	12,6	5,73
$s / \text{mol dm}^{-3}$	$2,44 \pm 0,04$	$2,50 \pm 0,03$	$0,0574 \pm 0,001$	$0,0467 \pm 0,001$

Produkti dobiveni standardnom i modificiranom procedurom analizirani su tako da su snimljeni spektri ^1H NMR (slika 25), ^{13}C NMR (slika 26), COSY NMR (slika 27), HSQC NMR (slika 28), HMBC NMR (slika 29), IR (slika 30) i HRMS (slika 31). Svi ti spektri upućuju na dobro slaganje produkata dobivenih uobičajenim i modificiranim postupkom.

a)

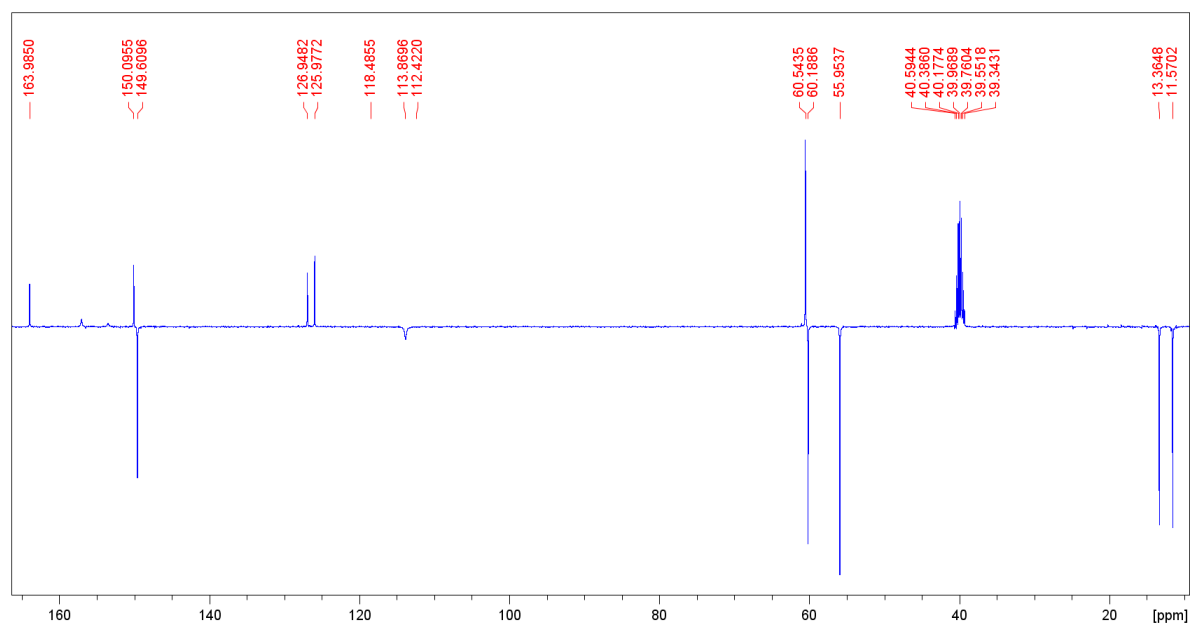


b)

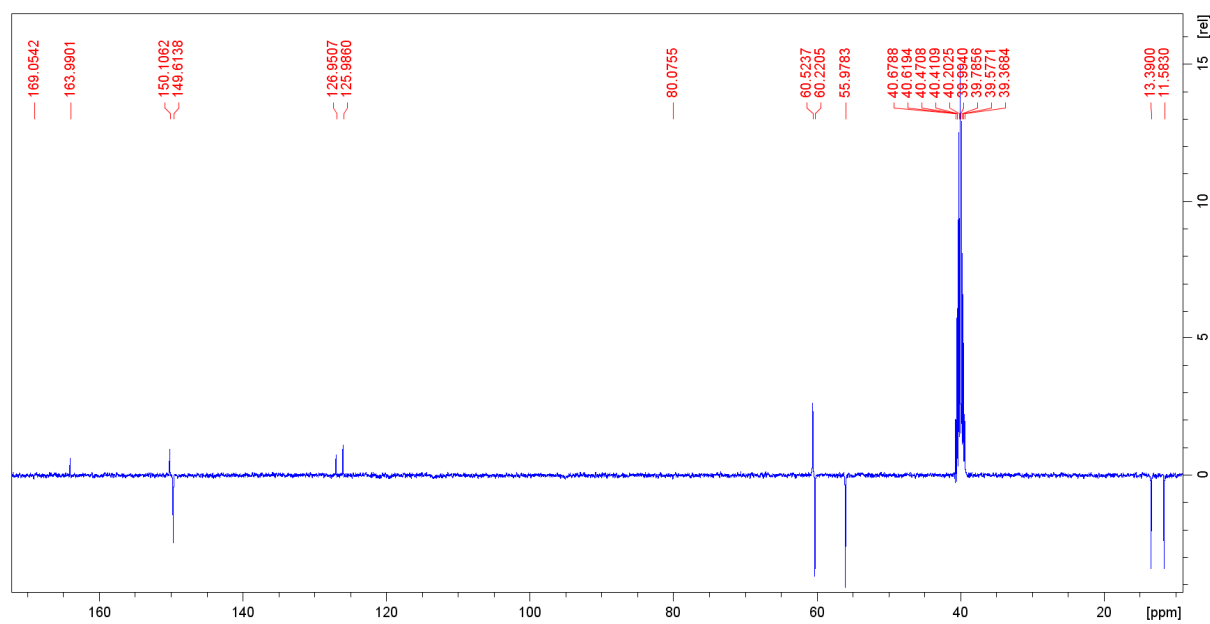


Slika 25. ¹H NMR spektri (izvorni ispis) a) omeprazola pripremljenog modificiranim postupkom, b) omeprazola pripremljenog uobičajenim postupkom.

a)

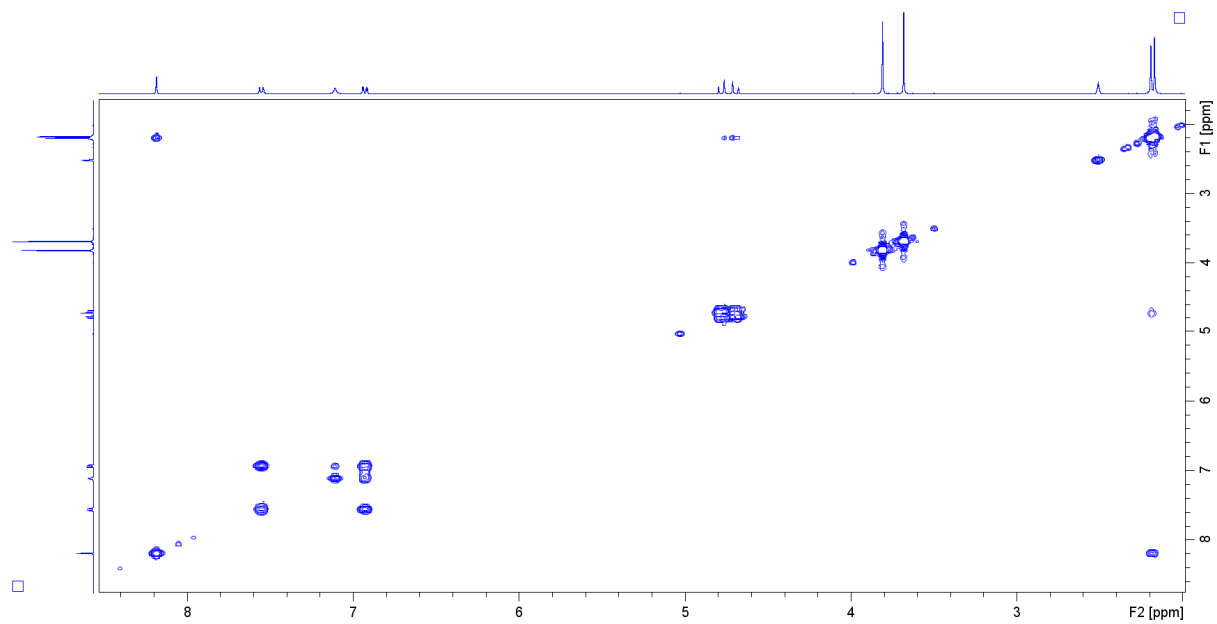


b)

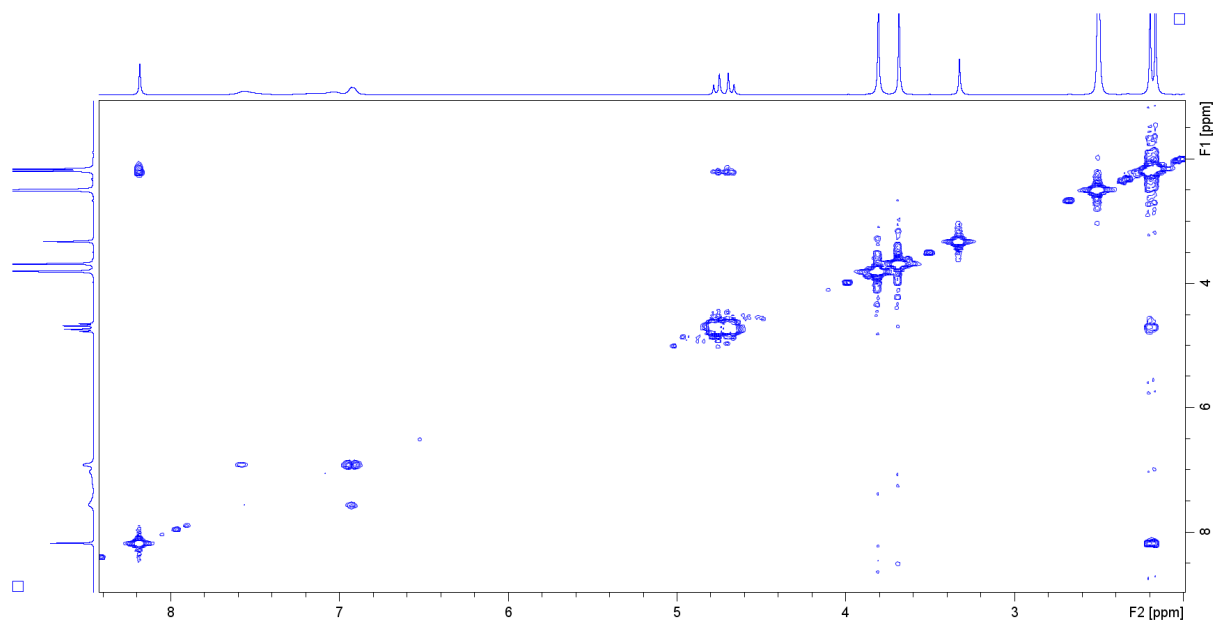


Slika 26. ^{13}C NMR spektri (izvorni ispis) a) omeprazola pripremljenog modificiranim postupkom, b) omeprazola pripremljenog uobičajenim postupkom.

a)

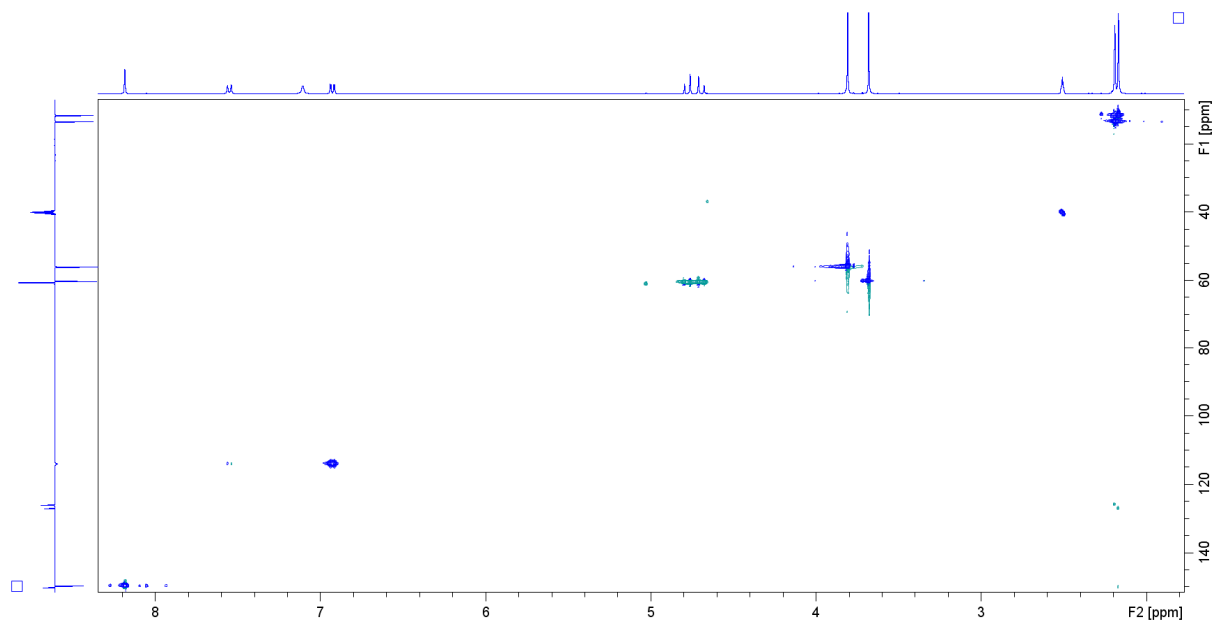


b)

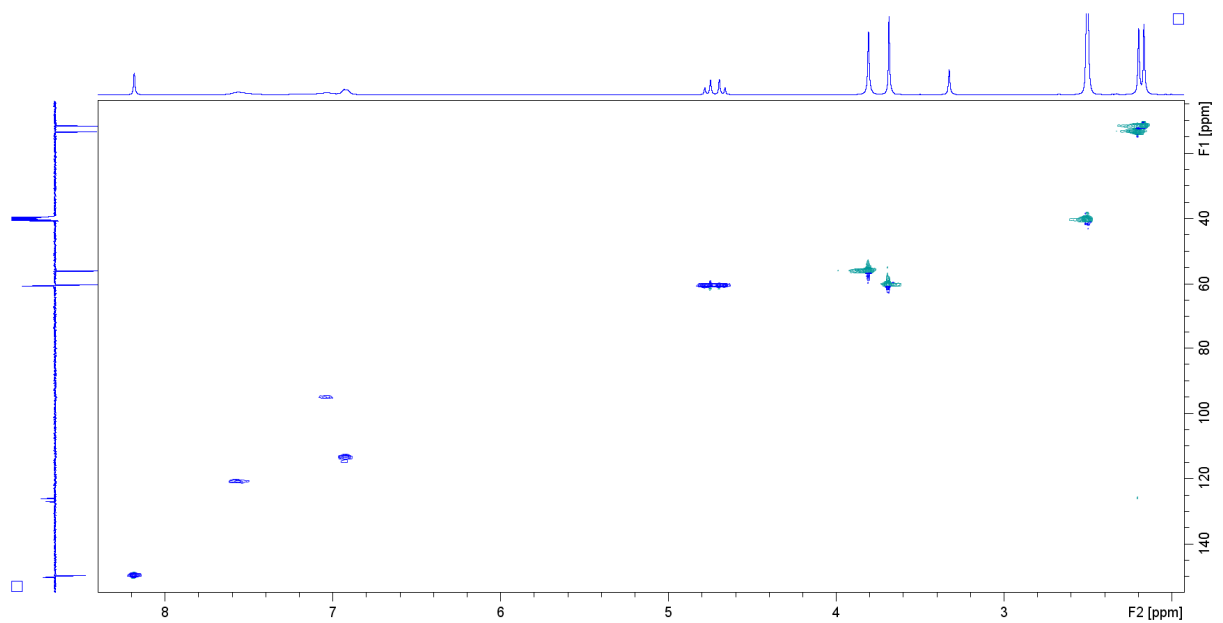


Slika 27. COSY NMR spektri (izvorni ispis) a) omeprazola pripremljenog modificiranim postupkom, b) omeprazola pripremljenog uobičajenim postupkom.

a)

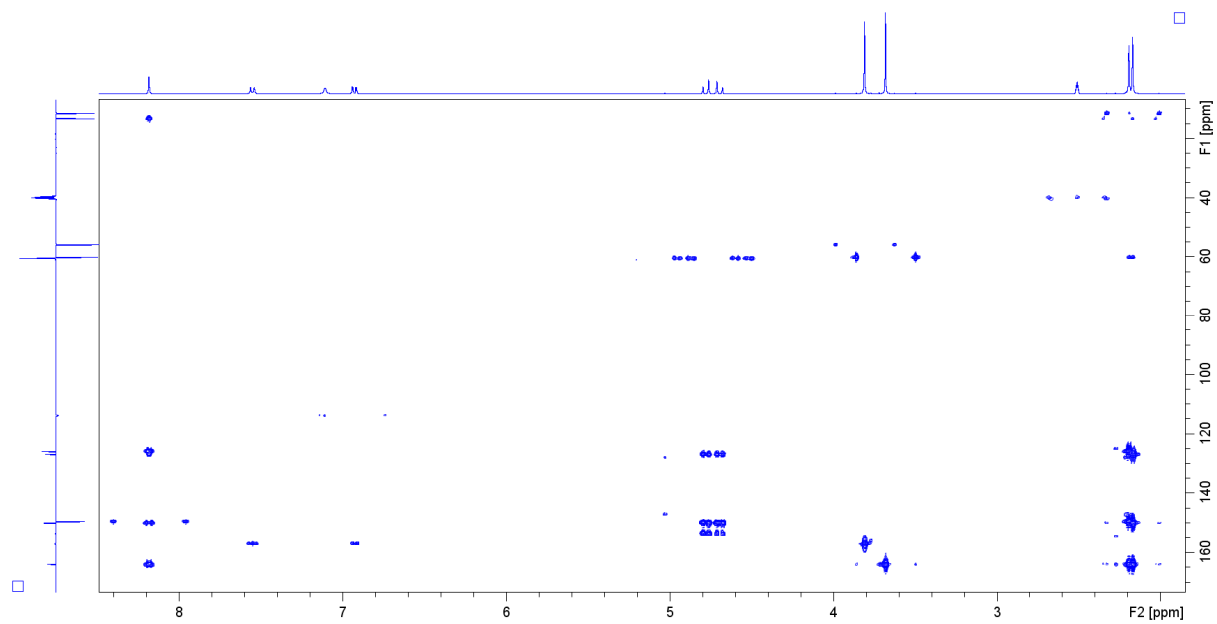


b)

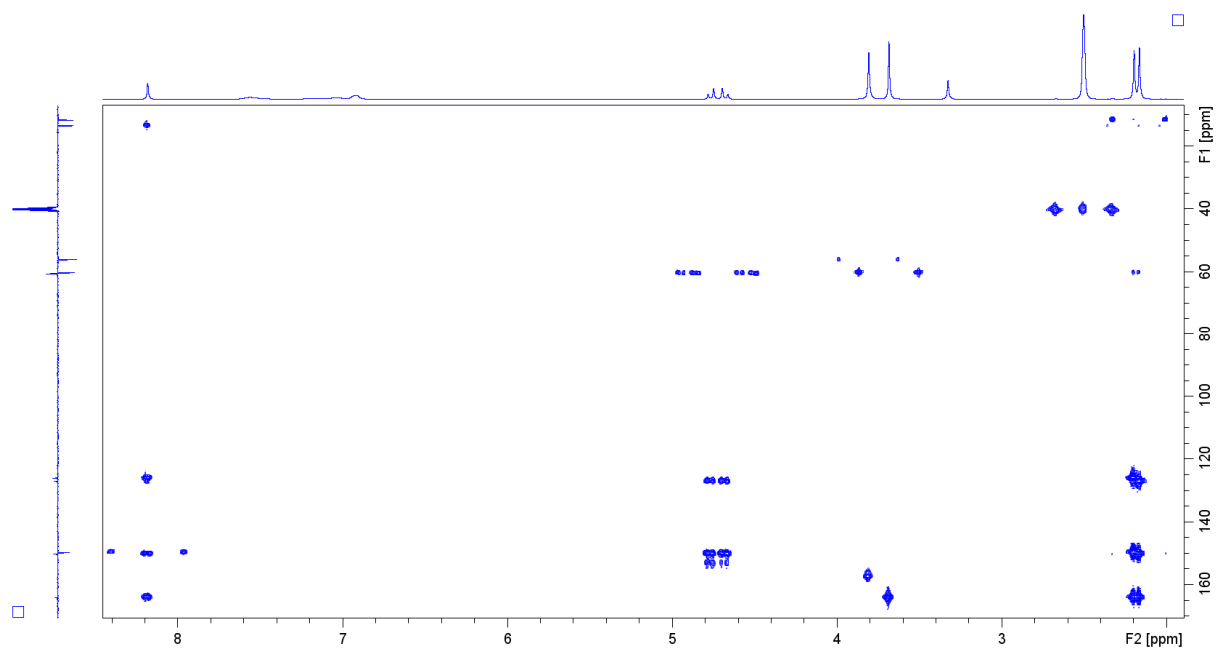


Slika 28. HSQC NMR spektri (izvorni ispis) a) omeprazola pripremljenog modificiranim postupkom, b) omeprazola pripremljenog uobičajenim postupkom.

a)

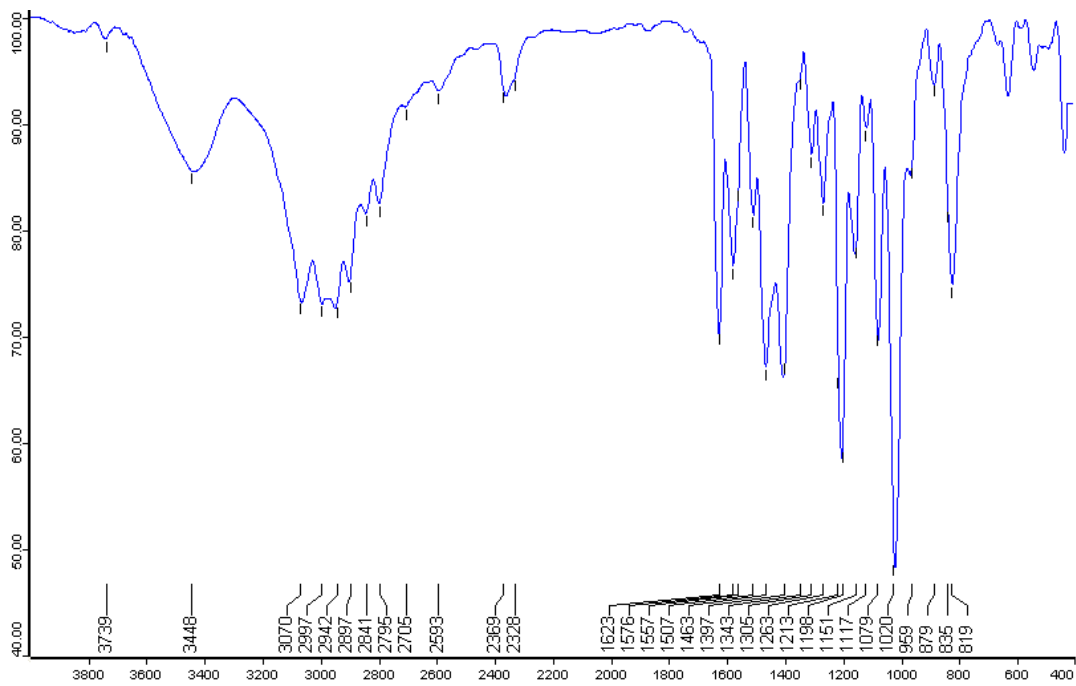


b)

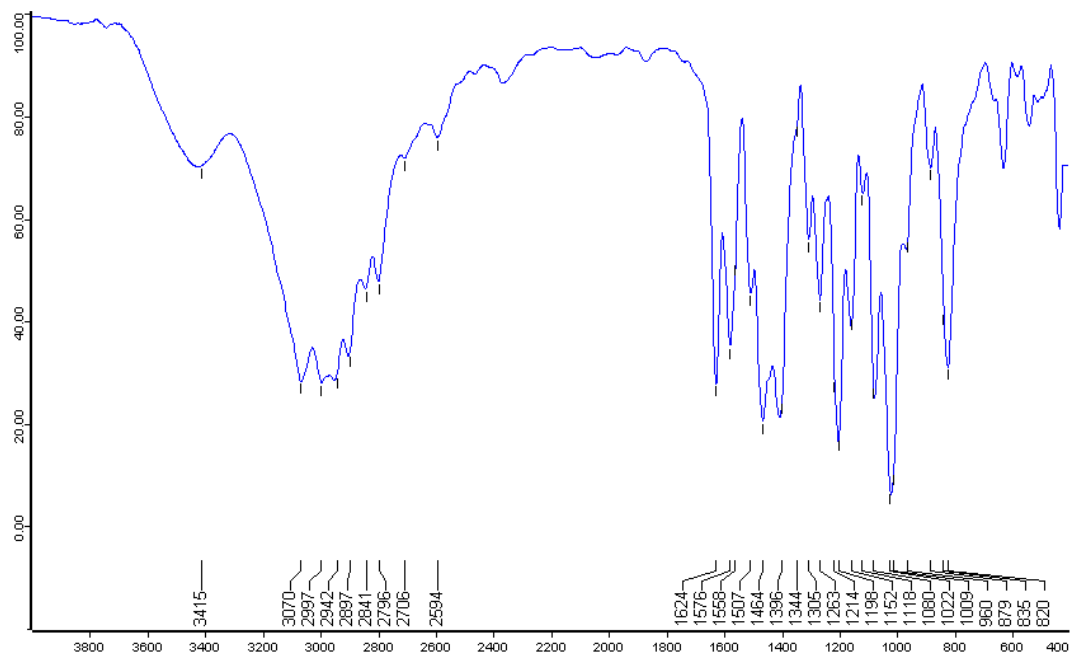


Slika 29. HMBC NMR spektri (izvorni ispis) a) omeprazola pripremljenog modificiranim postupkom, b) omeprazola pripremljenog uobičajenim postupkom.

a)

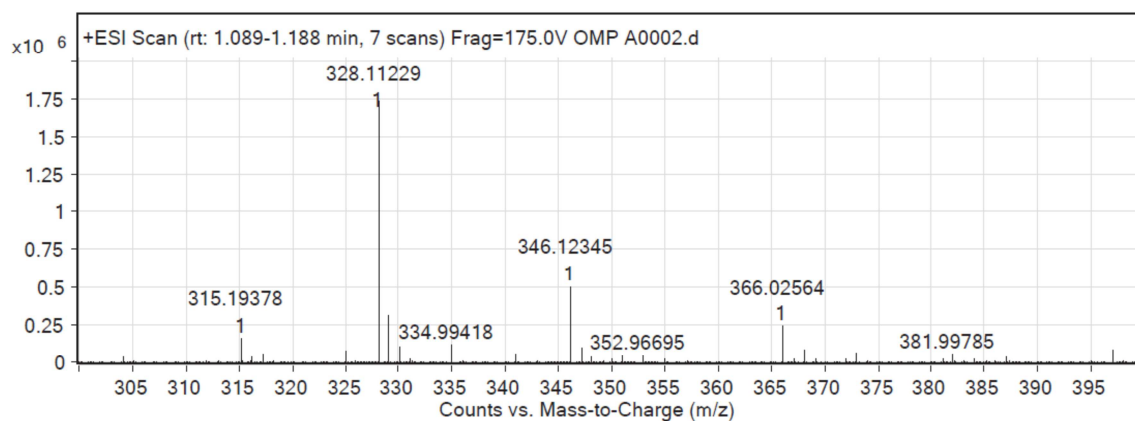


b)

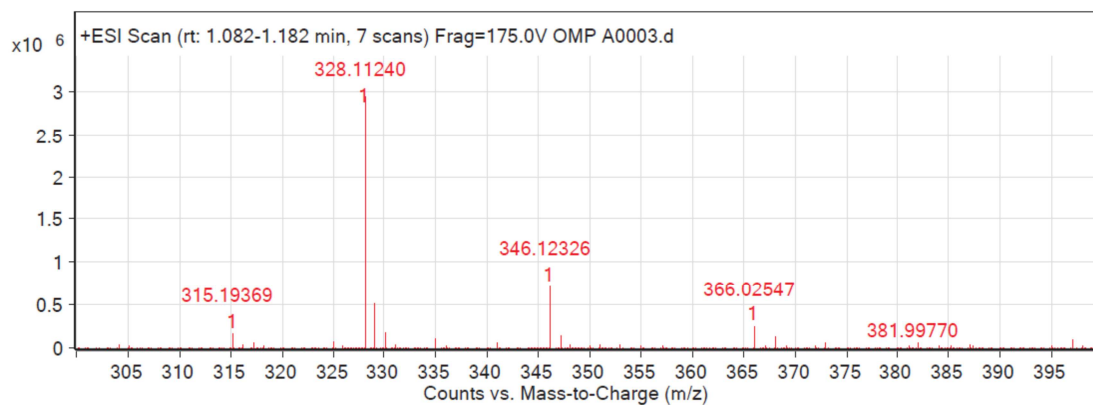


Slika 30. IR spektri (izvorni ispis) a) omeprazola pripremljenog modificiranim postupkom, b) omeprazola pripremljenog uobičajenim postupkom.

a)



b)



Slika 31. HRMS spektri (izvorni ispis) a) omeprazola pripremljenog modificiranim postupkom (m/z 346,1234 Da) b) omeprazola pripremljenog uobičajenim postupkom (m/z 346,1232 Da). Teorijska vrijednost za molekularni ion $((M+H^+)C_{17}H_{20}N_3O_3S)^+$ iznosi m/z 346,1220 Da.

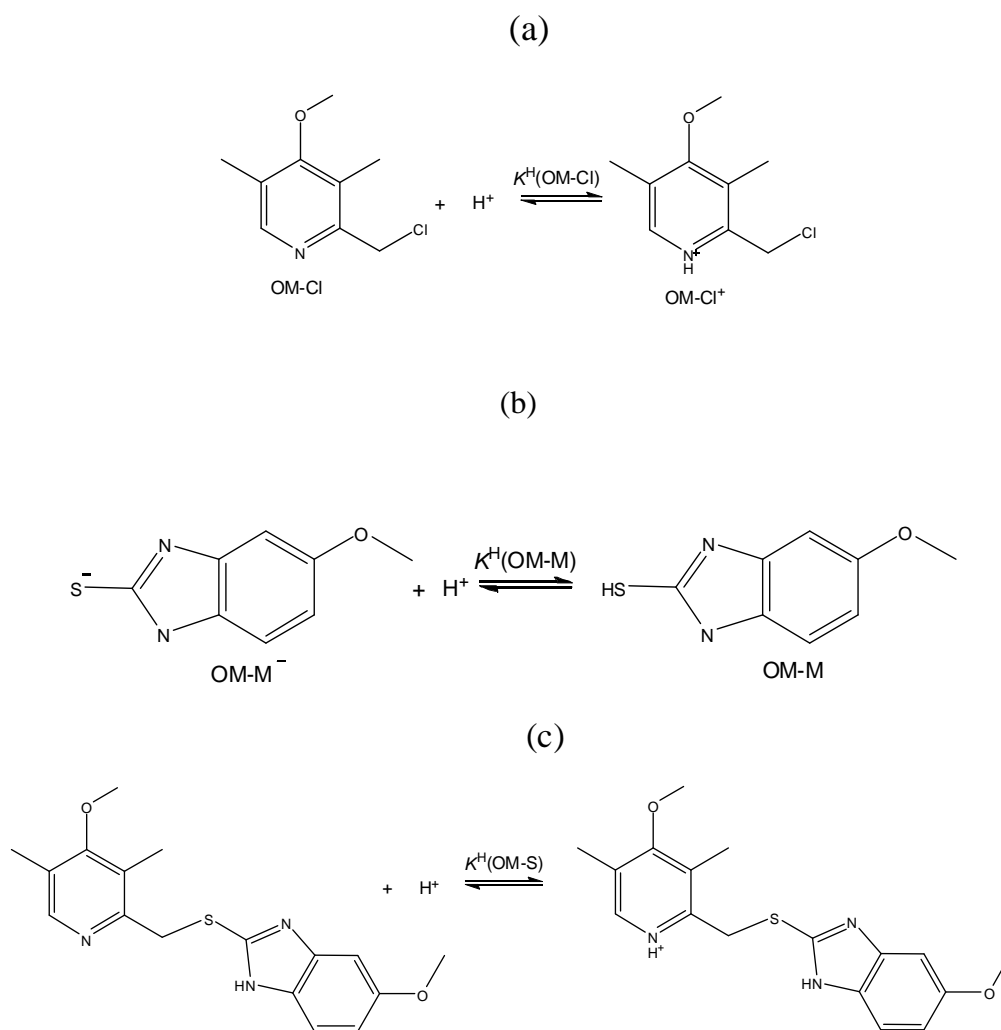
4.2. Fizikalno-kemijska svojstva reaktanata

Opće je poznato da konstanta ravnoteže reakcije protonacije ovisi o svojstvima otapala u kojemu se ta reakcija odvija, kao što su na primjer permitivnost otapala, proton-donorski odnosno -akceptorski afinitet, dipolni moment molekula otapala, i drugi. Imajući u vidu te činjenice, u ovom je radu pretpostavljeno da bi korištenjem otapala u kojemu bi reaktanti bili lakše deprotonirani rezultiralo uspješnijom reakcijom kondenzacije. To bi dovelo do većeg iskorištenja te reakcije, kao i smanjenja vremena potrebnog za njezin završetak.

Drugi aspekt istraživanja bio je vezan uz određivanje topljivosti reaktanata OM-Cl i OM-M, te intermedijera OM-S, prvenstveno da bi se stekao uvid da im je topljivost dovoljno visoka za korištenje u *one-pot* industrijskoj proizvodnji. Kako bi se opravdao predloženi koncept i posljedično odredili optimalni uvjeti i procedura prvog koraka sinteze omeprazola, provedeno je sustavno istraživanje reakcija protonacije, kao i solvatacije reaktanata i produkta, te ovisnost odgovarajućih termodinamičkih parametara o sastavu otapala.

4.2.1. Spektrofotometrijsko-potenciometrijske titracije

Sintetska istraživanja ukazala su na znatno ubrzanje prvog koraka u sintezi omeprazola dodatkom vode. Utjecaj dodatka vode pripisan je povećanom udjelu deprotoniranih oblika reaktanata u otapalu s većim udjelom tog otapala, što je posljedica činjenice da su pK -vrijednosti sulfida i piridinskih spojeva niže u vodi u odnosu na metanol. Sukladno tim rezultatima istražena su kiselinsko-bazna svojstva u miješanim otapalima s povećanim udjelima vode. Protonacijska svojstva molekula prekursora u prvom koraku sinteze omeprazola, OM-Cl i OM-M, čije su reakcije protonacije prikazane na slikama 32 a i 32 b, te produkta te reakcije OM-S (slika 32 c), istražena su spektrofotometrijsko-potenciometrijskim titracijama pri temperaturi od $(25,0 \pm 0,1)$ °C i ionskoj jakosti $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ u miješanom otapalu metanol/voda, različitih udjela $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$ te u čistom metanolu. Raspon pH-vrijednosti u kojemu su promjene praćene prikazan je u tablici 9, kao i koncentracije spojeva u ispitivanim otapalima.



Slika 32. Reakcije protonacije OM-Cl (a), OM-M (b) i OM-S (c).

Tablica 9. Eksperimentalni podaci vezani uz određivanje vrijednosti K^H spojeva OM-Cl, OM-M i OM-S pri $(25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ i ionskoj jakosti $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$.

$V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$	spoj	$c_0(\text{spoj}) \times 10^4 / \text{mol dm}^{-3}$	raspon pH
1	OM-Cl	1,872	2,87-6,88
	OM-M	0,4035	5,71-11,95
	OM-S	0,848	3,68-8,78
5,73	OM-Cl	1,923	2,37-11,60
	OM-M	0,4199	7,20-12,26
	OM-S	0,4978	2,96-6,74
12,6	OM-Cl	1,969	2,78-11,83
	OM-M	0,3988	7,22-12,45
	OM-S	0,4997	3,38-9,75
čisti MeOH	OM-Cl	2,232	2,65-11,90
	OM-M	0,400	8,97-14,00
	OM-S	0,5018	2,98-8,16

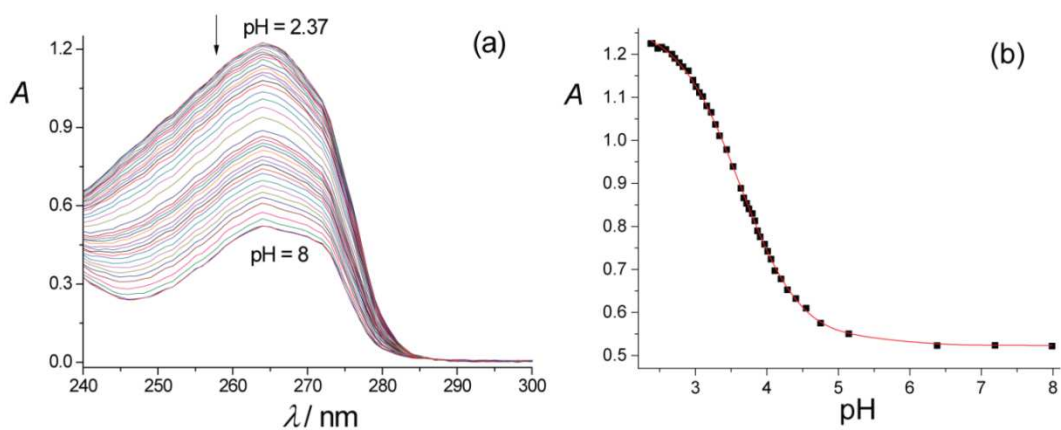
Tijekom spektrofotometrijsko-potenciometrijskih titracija spojeva OM-Cl, OM-M i OM-S s NaOH primijećene su značajne spektralne promjene u ovisnosti o pH-vrijednosti otopine, prikazane na slikama 33, 36, 39, 42, 45, 48, 51, 54, 57, 60, 63 i 66. Spektralne promjene su pripisane promjeni distribucije protoniranih i deprotoniranih vrsta u otopini, a distribucijski dijagrami spoja OM-Cl prikazani su na slikama 35, 38, 41 i 44, spoja OM-M na slikama 47, 53, 59 i 65, te spoja OM-S na slikama 50, 56, 62 i 68.

Nelinearnom regresijskom analizom ovisnosti spektralnih promjena o pH-vrijednosti otopine određene su konstante ravnoteže reakcija protonacije spojeva OM-Cl, OM-M i OM-S u miješanim otapalima $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$ od 1:1, 5,73:1 i 12,6:1 te u čistom metanolu, kao i svojstveni spektri protoniranih i deprotoniranih oblika istraživanih spojeva pri 25 °C. Sva mjerenja ponovljena su barem tri puta te su u tablici 10 dane srednje vrijednosti dobivenih ravnotežnih konstanti reakcija protonacije. Kao što je na temelju prijašnjih eksperimenata bilo očekivano, dolazi do protonacije jedne funkcionalne skupine, odnosno do uspostavljanja ravnoteža reakcija protonacije prikazanih na slici 32. Utvrđeno je da povećanjem udjela vode dolazi do signifikantnog smanjenja konstanti ravnoteže reakcije protonacije spojeva OM-Cl i OM-M, odnosno da reakcije disocijacije OM-Cl^+ i OM-M postaju povoljnije. U svim slučajevima dobiveno je dobro slaganje eksperimentalnih spektara s onima izračunanim uz pretpostavku da dolazi do protonacije jedne funkcionalne skupine, odnosno do uspostavljanja ravnoteža reakcija protonacije. Svojstveni elektronski spektri protoniranih i deprotoniranih oblika molekula u istim otapalima prikazani su na slikama 34, 37, 40, 43, 46, 49, 52, 55, 58, 61, 64 i 67.

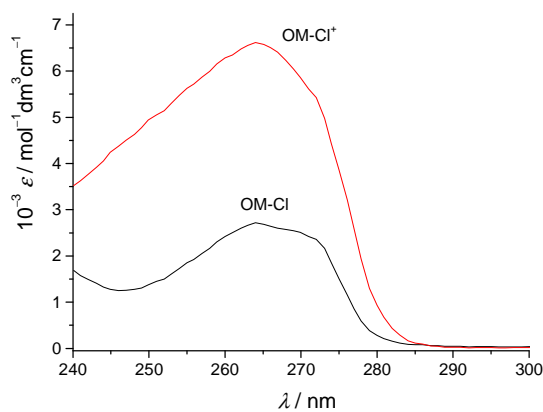
Tablica 10. Konstante ravnoteže reakcija protonacija istraživanih molekula pri $(25,0 \pm 0,1)$ °C i $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (Bu_4NClO_4) u miješanim otapalima različitih $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$ i u čistom metanolu određene spektrofotometrijsko-potenciometrijskim titracijama.^a

$V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$ ($x(\text{MeOH})$)	1 (0,31)	5,73 (0,72)	12,6 (0,85)	čisti MeOH (1)
$\log K^{\text{H}}(\text{OM-Cl})$	3,89(2)	3,66(2)	3,75(6)	5,01(2)
$\log K^{\text{H}}(\text{OM-M})$	10,67(4)	11,46(1)	11,72(4)	13,52(5)
$\log K^{\text{H}}(\text{OM-S})$	4,70(4)	4,15(4)	4,65(4)	5,22(1)

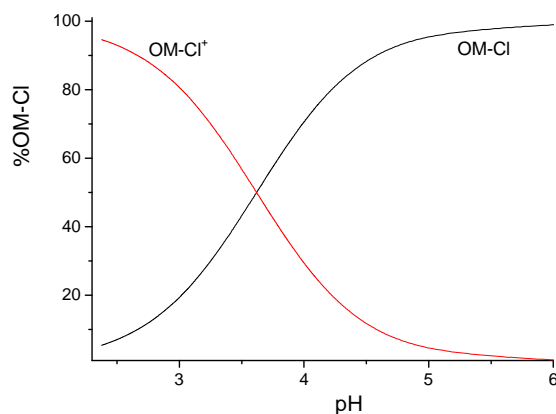
^a nepouzdanost zadnje znamenke izražena je u zagradama kao standardna pogreška srednje vrijednosti ($N = 3$)



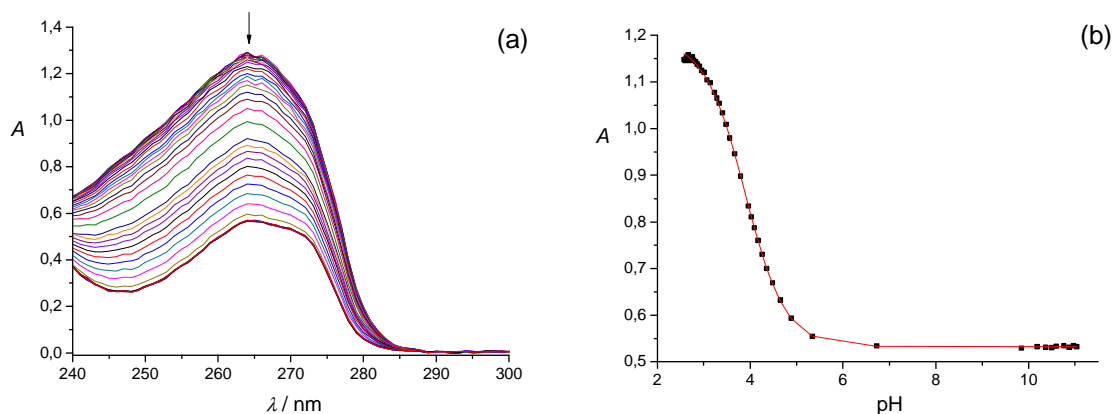
Slika 33. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-Cl ($c = 1,92 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 4,48 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 7,07 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 264 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



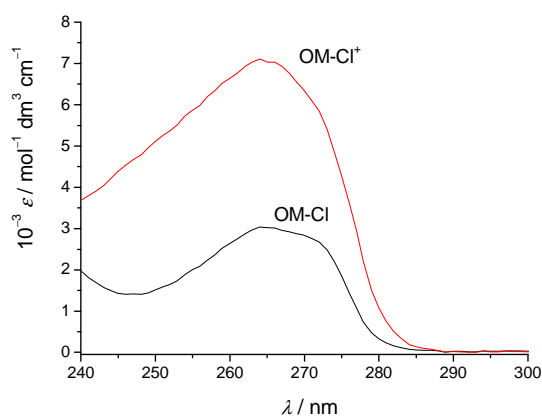
Slika 34. Svojeviti elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-Cl u miješanom otapalu MeOH/H₂O; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$.



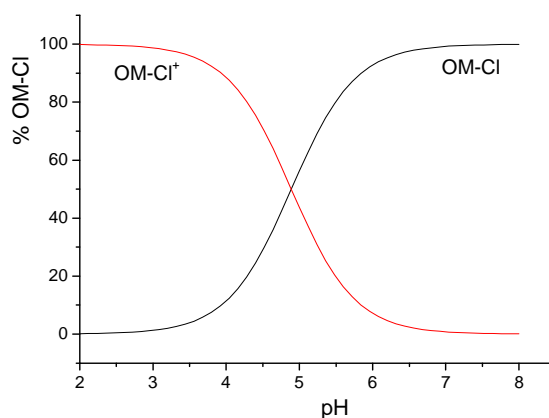
Slika 35. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-Cl u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).



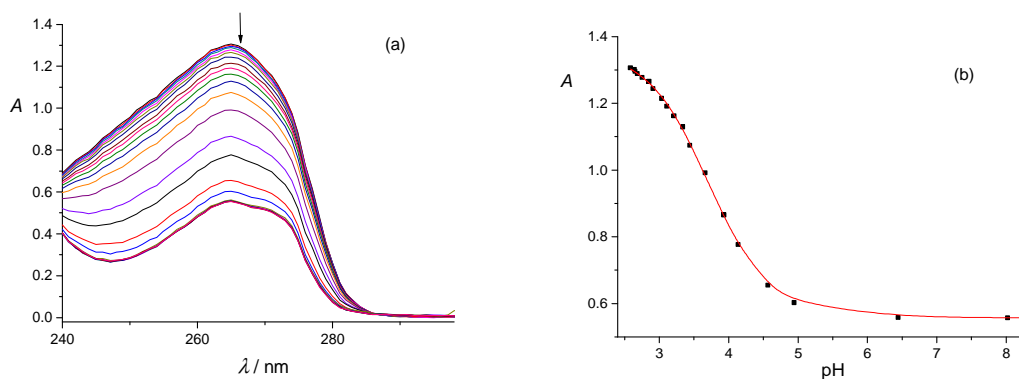
Slika 36. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-Cl ($c = 1,87 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 3,00 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 4,41 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 264 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



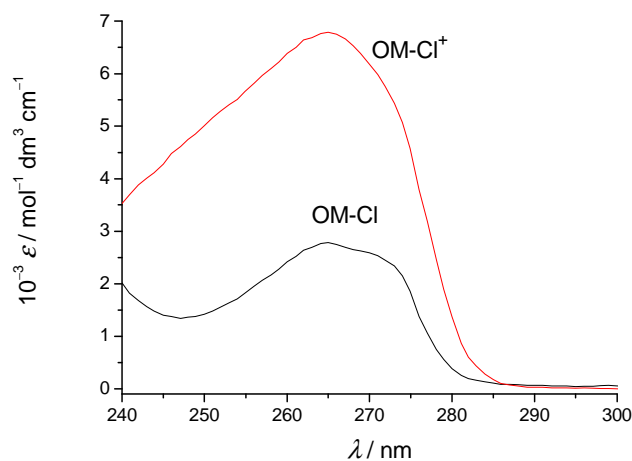
Slika 37. Svojtveni elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-Cl u miješanom otapalu MeOH/H₂O; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$.



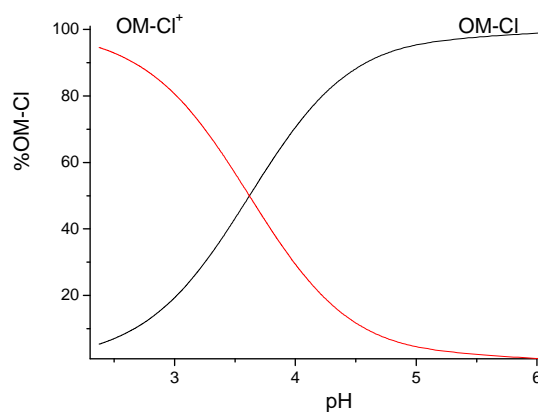
Slika 38. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-Cl u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).



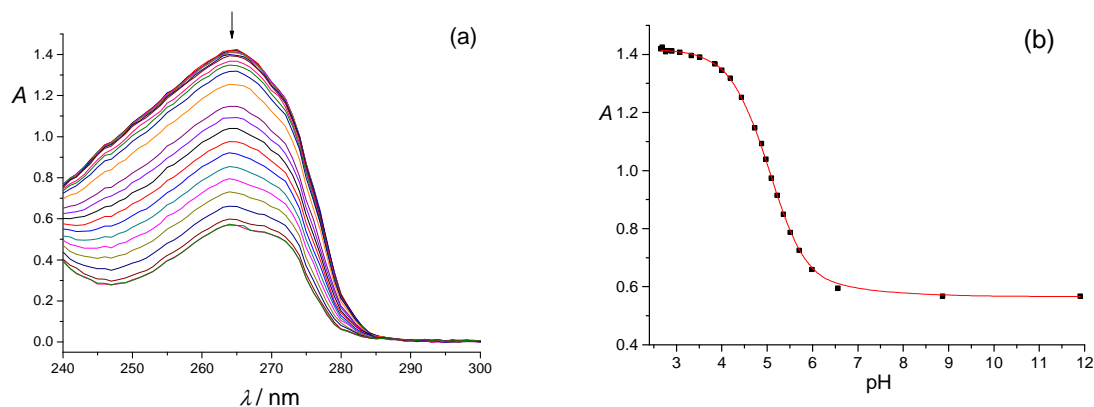
Slika 39. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-Cl ($c = 1,93 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 3,11 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 4,71 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 264 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



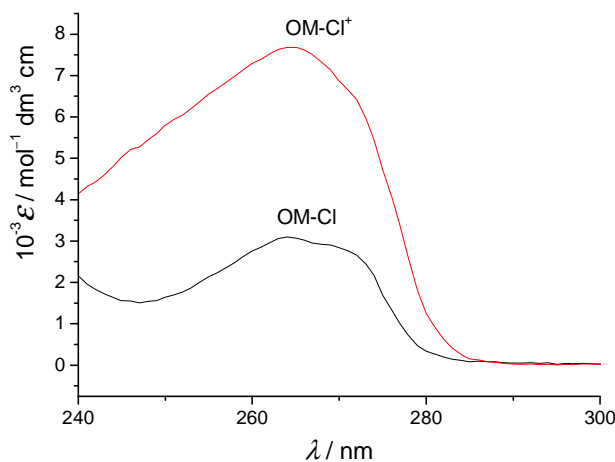
Slika 40. Svojtveni elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-Cl u miješanom otapalu MeOH/H₂O; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$.



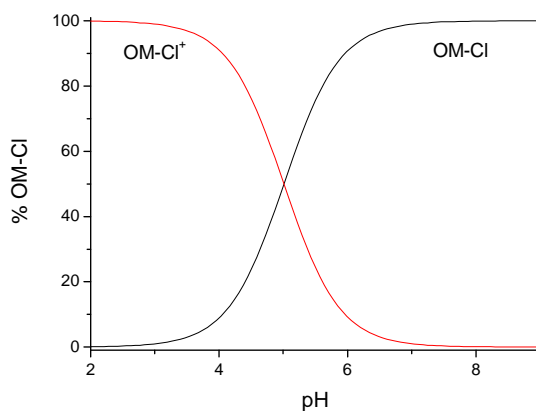
Slika 41. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-Cl u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).



Slika 42. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-Cl ($c = 2,23 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 3,12 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 3,61 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u čistom metanolu pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 264 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.

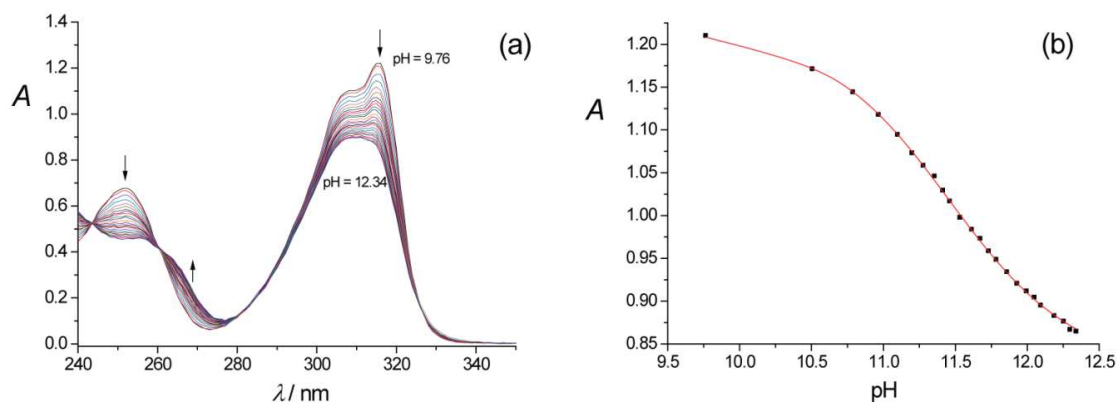


Slika 43. Svojeviti elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-Cl u čistom metanolu.

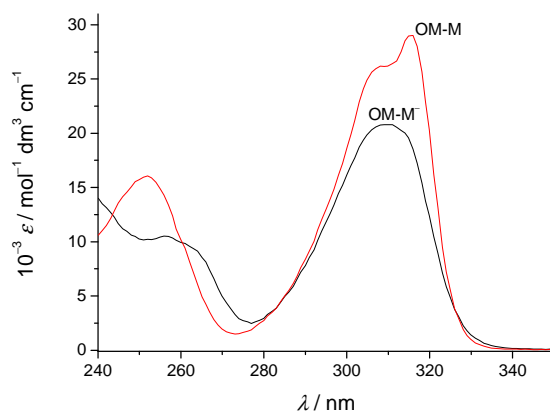


Slika 44. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-Cl u čistom metanolu pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).

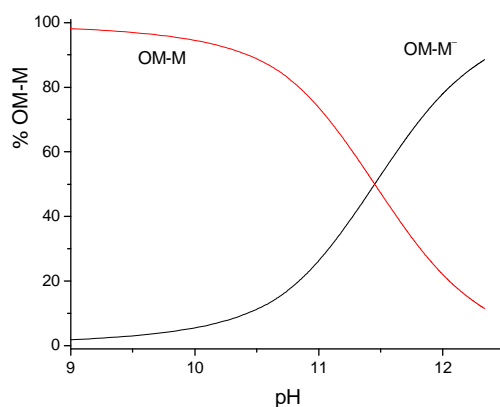
U skupini spektara snimljenih prilikom titracija spojeva OM-M i OM-S s NaOH, uočene su izosbestičke točke, što je prikazano na slikama 45 a, 48 a, 51 a, 54 a, 57 a, 60 a, 63 a i 66 a. Time je potvrđeno da su u ravnoteži dvije vrste, kako je i pretpostavljeno reakcijskim modelom, nastale disocijacijom protonirane tiolne skupine u spoju OM-M i piridinske skupine u spoju OM-S. Reakcija protoniranja imidazola u spoju OM-S nije obuhvaćena u proučavanom području pH-vrijednosti > 3 . Utvrđeno je dobro slaganje s rezultatima dobivenim u slučaju 2-merkaptobenzimidazola u vodi, gdje je $\log K^H$ vrijednost imidazolne skupine iznosila 2,6.³¹ U slučaju spoja OM-Cl nisu primijećene izosbestičke točke, zbog činjenice da se prilikom protonacije opaža samo hiperkromni pomak, dok se molarni apsorpcijski koeficijenti protonacijskih oblika nisu preklapili niti na jednoj od zabilježenih valnih duljina.



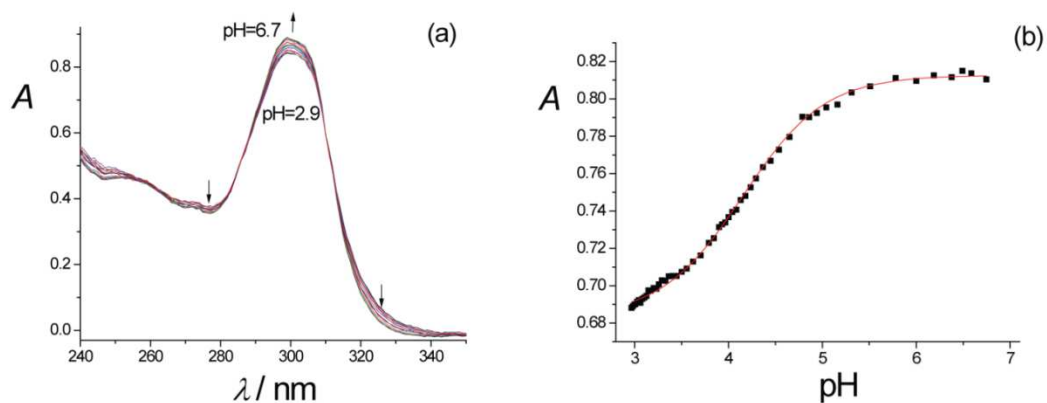
Slika 45. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-M ($c = 4.2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 7.08 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 315 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



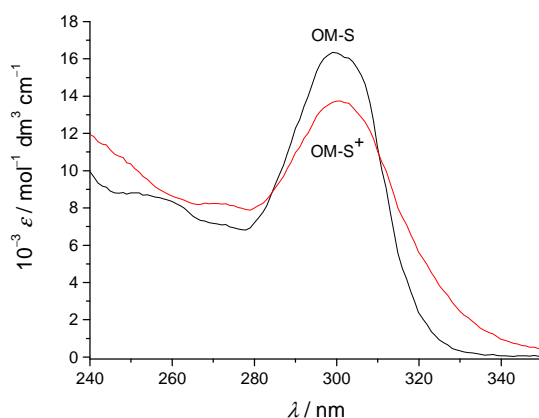
Slika 46. Svojeviti elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-M u miješanom otapalu MeOH/H₂O; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$.



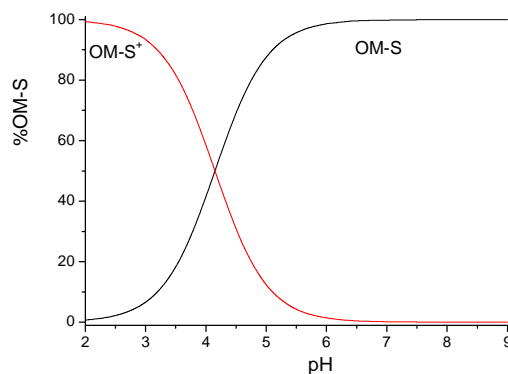
Slika 47. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-M u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).



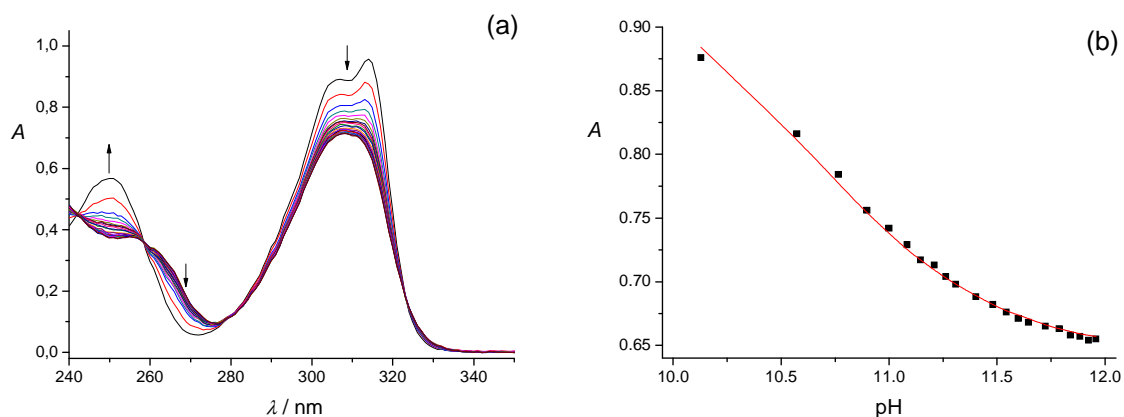
Slika 48. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-S ($c = 4.98 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 1.00 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 4.52 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 300 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



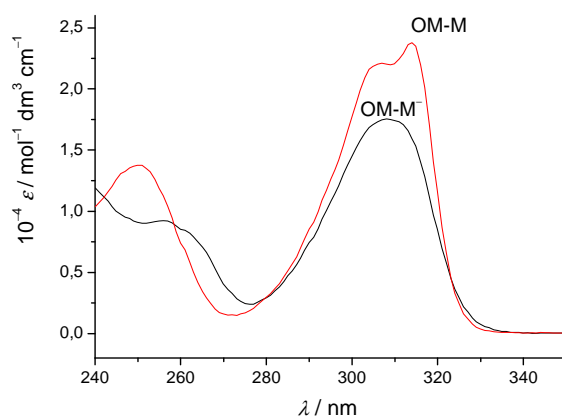
Slika 49. Svojeviti elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-S u miješanom otapalu MeOH/H₂O; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$.



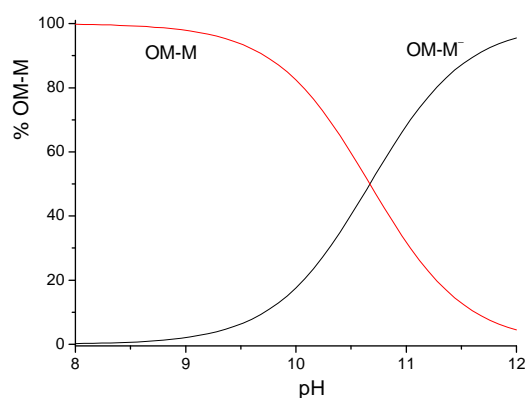
Slika 50. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-S u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73 : 1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).



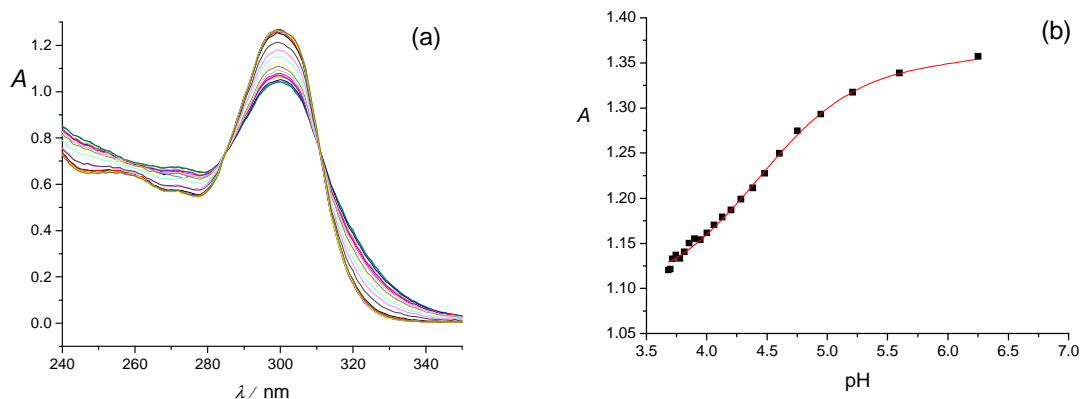
Slika 51. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-M ($c = 4,05 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 4,38 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 315 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



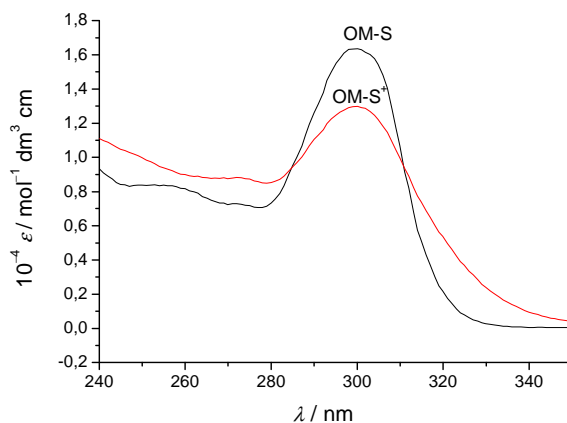
Slika 52. Svojtveni elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-M u miješanom otapalu MeOH/H₂O; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$.



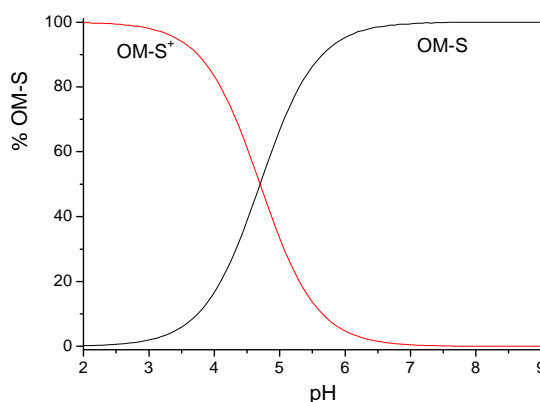
Slika 53. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-M u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).



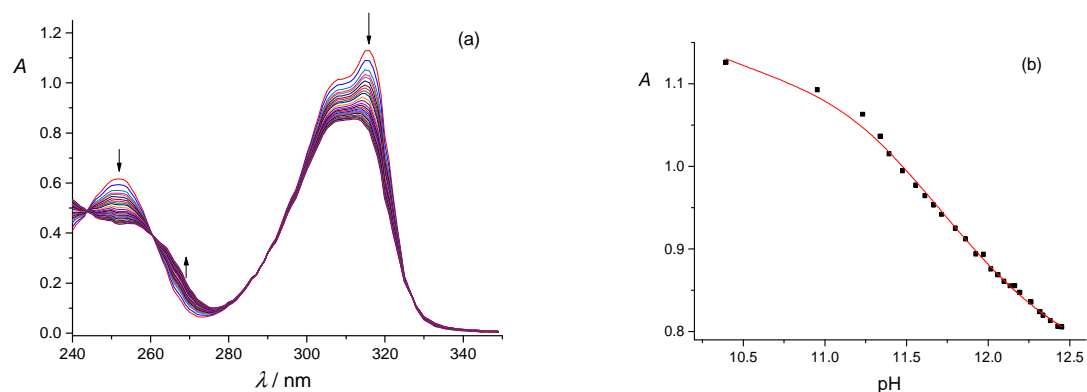
Slika 54. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-S ($c = 7,48 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 3,00 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 4,19 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 300 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



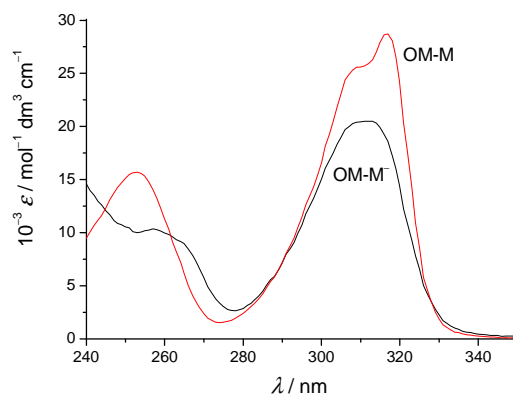
Slika 55. Svojeviti elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-S u miješanom otapalu MeOH/H₂O; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$.



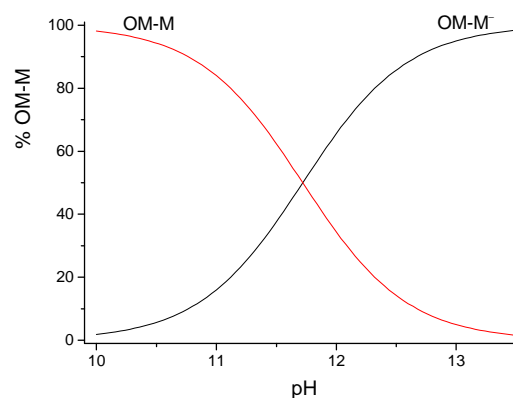
Slika 56. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-S u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).



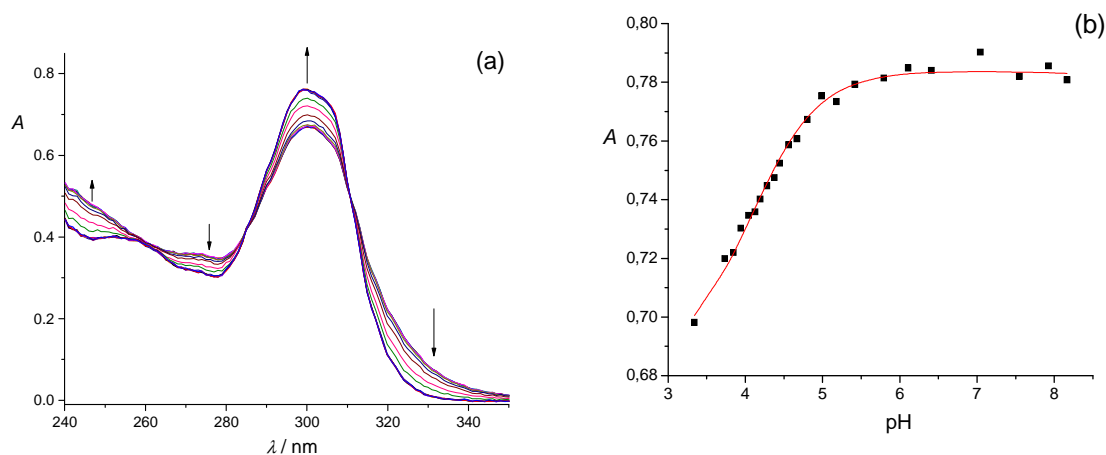
Slika 57. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-M ($c = 4,05 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 4,71 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 315 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



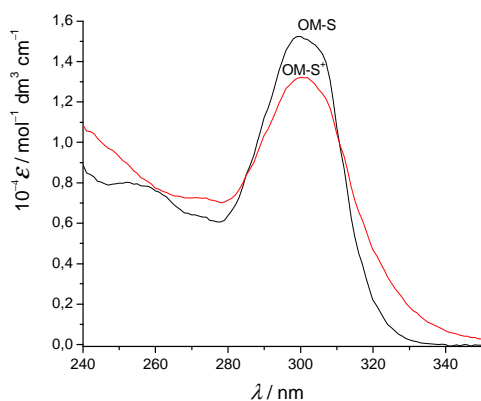
Slika 58. Svojeviti elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-M u miješanom otapalu MeOH/H₂O; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$.



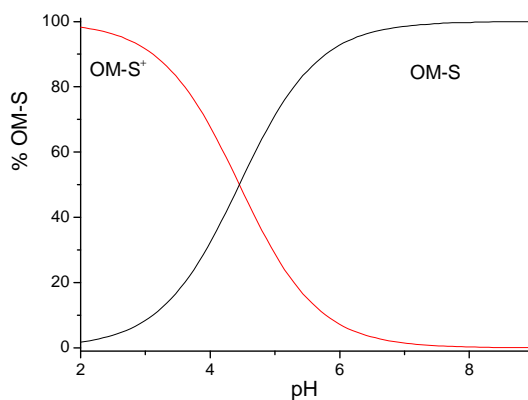
Slika 59. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-M u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).



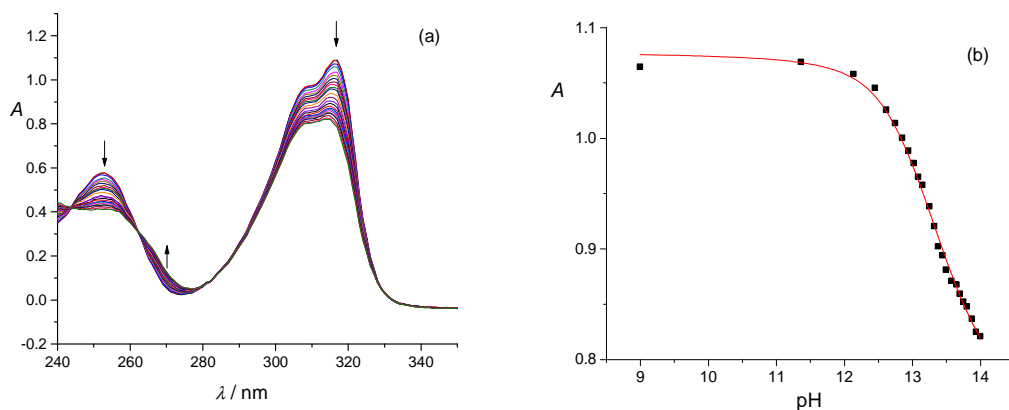
Slika 60. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-S ($c = 5,00 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 3,00 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 4,19 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 300 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



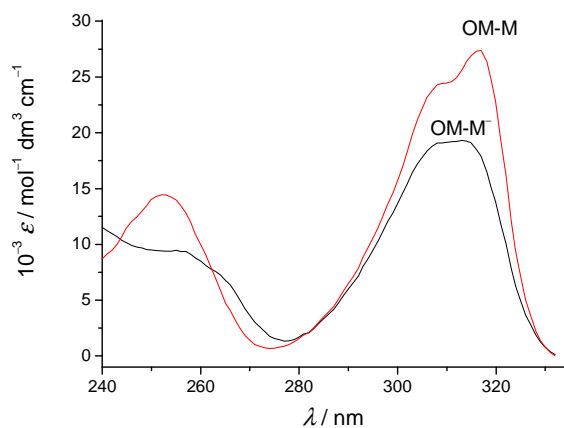
Slika 61. Svojeviti elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-S u miješanom otapalu MeOH/H₂O; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$.



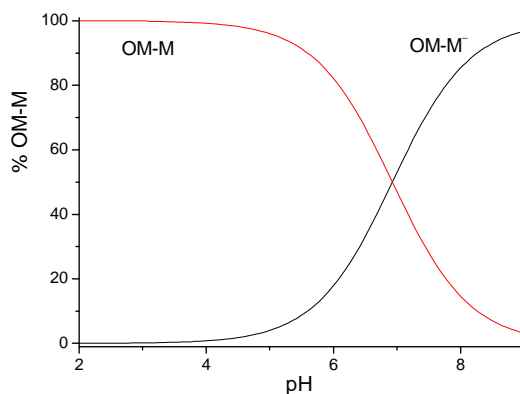
Slika 62. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-S u miješanom otapalu MeOH/H₂O pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$, $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).



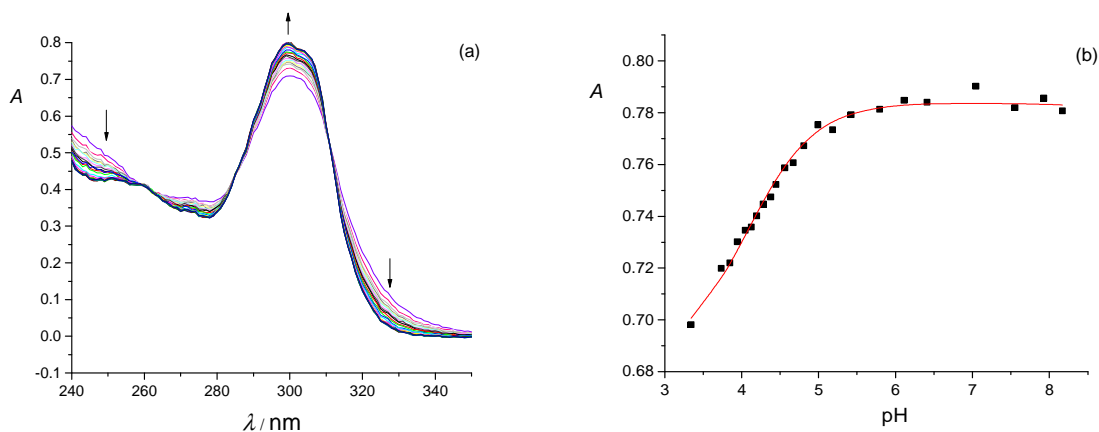
Slika 63. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-M ($c = 4,00 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 4,71 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u čistom metanolu pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 315 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



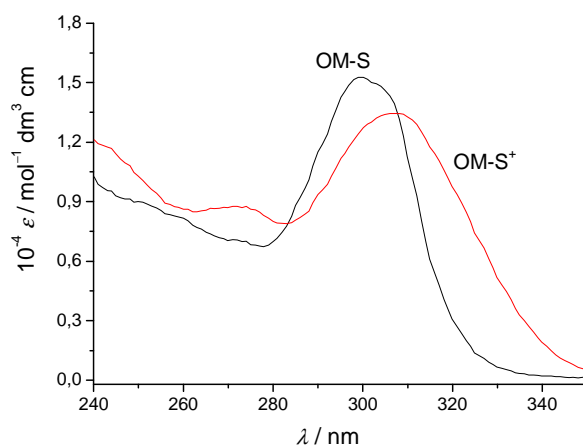
Slika 64. Svojeviti elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-M u čistom metanolu.



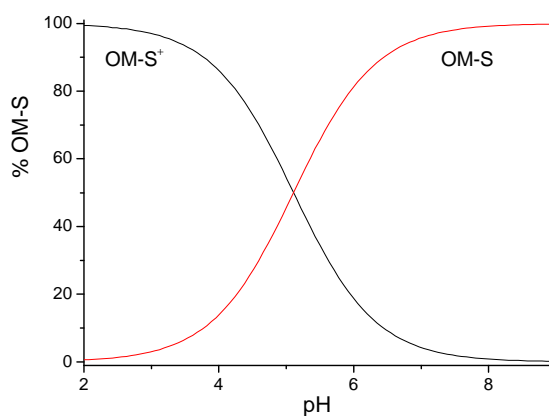
Slika 65. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-M u čistom metanolu pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO₄).



Slika 66. a) Spektrofotometrijsko-potenciometrijska titracija spoja OM-S ($c = 5,03 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 3,00 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) s NaOH ($c = 4,19 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u čistom metanolu pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO_4), $l = 1 \text{ cm}$. b) Ovisnost apsorbancije otopine spoja pri 300 nm o pH. ■ izmjerene vrijednosti, — izračunane vrijednosti.



Slika 67. Svojevrsni elektronski spektri protonacijskih oblika spoja OM-S u čistom metanolu.



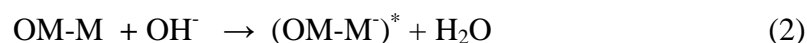
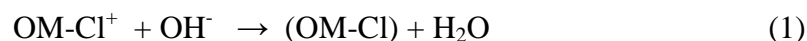
Slika 68. Distribucijski dijagram otopine spoja OM-S u čistom metanolu pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$; $I_c = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ (TBAClO_4).

Analizom vrijednosti K^H može se primijetiti da je protonacija spoja OM-M povoljnija kako raste udio metanola, dok je za spojeve OM-Cl i OM-S najniža vrijednost konstante protonacije pri udjelu $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$. Za sva tri proučavana spoja konstante protonacije su u čistom metanolu puno veće nego u miješanim otapalima. Takvi podaci su u skladu s rezultatima istraživanja sličnih sustava, na primjer protonacija neutralnih spojeva, poput amina, ili negativno nabijenih baza, kao karboksilata i tiolata, u miješanim otapalima alkohol/voda opisanih u literaturi, što je objašnjivo solvatacijom reaktanata u miješanim otapalima.^{32,33,34,35}

Dobiveni rezultati mogu se objasniti na temelju razmatranja solvatacije reaktanata i produkta u miješanim otapalima, odnosno mogu se kvantitativno procijeniti na temelju standardne Gibbsove energije prijenosa iona iz vode u miješana otapala različitih molarnih udjela ($\Delta_t G^\circ$).³⁶ U slučaju protonacije anionske specije kao što je OM-M^- , oba reaktanta su nabijene vrste, dok je produkt neutralan. Solvatacija vodikova iona je nešto povoljnija u miješanom otapalu metanol/voda u umjerenim omjerima $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$ u usporedbi s čistom vodom.³⁷ Standardna Gibbsova energija prijenosa H^+ iz miješanog otapala u vodu doseže minimum pri $x(\text{MeOH}) \approx 0,75$, dok solvatacija vodikova iona postaje znatno manje povoljna u otapalima koja su bogatija metanolom. Takvo ponašanje može se pripisati preferencijalnom solvatacijskom efektu.^{37,38} S druge strane, Gibbsova energija solvatacije aniona u većini slučajeva opada s porastom udjela metanola u miješanom otapalu, sa skoro linearnom ovisnosti $\Delta_t G^\circ$ o molarnom udjelu metanola,³⁹ dok je obrnuto očekivano za neutralne organske spojeve.^{40,41} Sve navedeno objašnjava dobivene rezultate koji pokazuju da je protonacija OM-M^- povoljnija kako raste $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$. U slučaju protonacije neutralnih vrsta, kao što su OM-Cl i OM-S, nema razlike u broju nabijenih vrsta između reaktanata i produkata reakcije. Zbog toga su u miješanim otapalima bogatijima vodom ($x(\text{MeOH}) < 0,60$) promjene Gibbsove energije solvatacije pozitivno nabijenih specija, (H^+ i OM-M^+ ili OM-S^+) dobrim dijelom slične, za razliku od neutralnih i deprotoniranih vrsta koje su bolje solvatirane u manje polarnim otapalima, s većim udjelom organskog otapala. To dovodi do smanjenja vrijednosti K^H kako se množinski udio metanola povećava od 0,31 do 0,72. Kako je već prikazano, pri povećanju udjela metanola u miješanom otapalu ($x(\text{MeOH}) = 0,85$ i 1), solvatacija iona H^+ postaje manje povoljna, što uzrokuje značajnije povećanje protonacijske konstante ravnoteže spojeva OM-Cl i OM-S.

4.2.2. Određivanje entalpija reakcija (de)protonacije

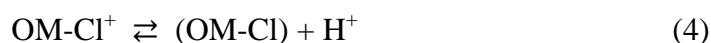
U svrhu detaljnog opisa termodinamike reakcije prvog koraka sinteze omeprazola mikrokalorimetrijski su određene reakcijske entalpije deprotonacije OM-M i OM-Cl⁺ te reakcijska entalpija neutralizacije pri (25,0 ± 0,1) °C u miješanom otapalu koje se koristi za industrijsku sintezu farmaceutika, V(MeOH)/V(H₂O) = 12,6:1. Pri tome su otopine oba spoja titrirane s otopinama NaOH prikladnih koncentracija, kako bi se postigla potpuna deprotonacija OM-M odnosno OM-Cl⁺. Budući da je konstanta ravnoteže deprotonacije OM-M znatno veća od konstante ravnoteže deprotonacije OM-Cl⁺, otopina NaOH korištena za određivanje entalpije deprotonacije OM-M bila je znatno veće koncentracije od one u slučaju OM-Cl⁺. S obzirom da su OM-M i OM-Cl⁺ slabe kiseline, pri korištenim koncentracijama lužine zbiva se potpuna deprotonacija, a potom i neutralizacija disociranog H⁺ prema jednadžbama (1), (2) i (3):



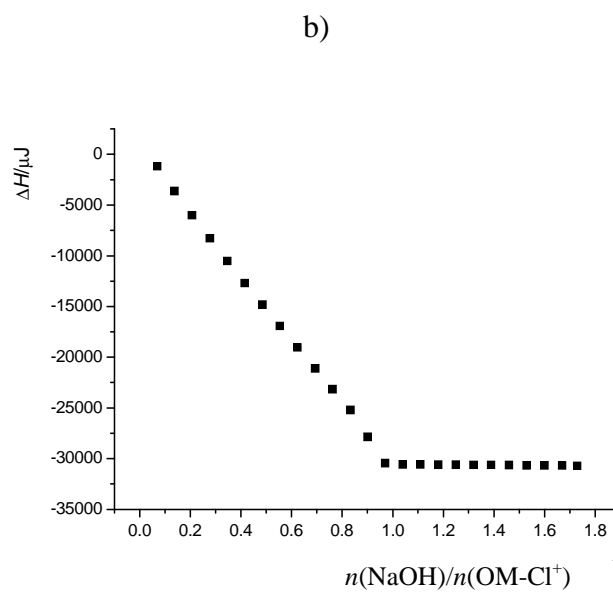
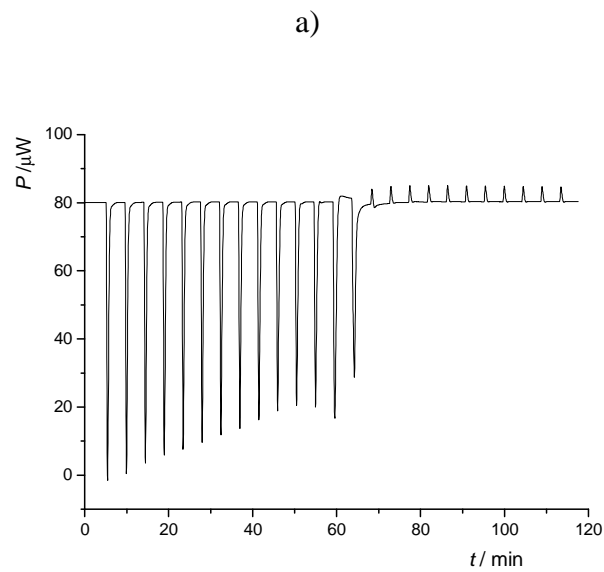
Uz poznatu entalpiju neutralizacije u korištenom otapalu prema jednadžbi (3):



moguće je pomoću Hessova zakona odrediti entalpije reakcija deprotonacije, dane jednadžbama (4) i (5):



Kao primjer dobivenih rezultata, na slici 69 a prikazan je termogram jedne od titracija OM-Cl⁺ s NaOH. Pripadna ovisnost kumulativne promjene entalpije o omjeru množine titransa i titranda prikazana je na slici 69 b. Entalpija reakcije prikazane jednadžbom (1), određena iz kvocijenta ukupne promjene entalpije i dosega reakcije (množine OM-Cl⁺) dana je u tablici 11.



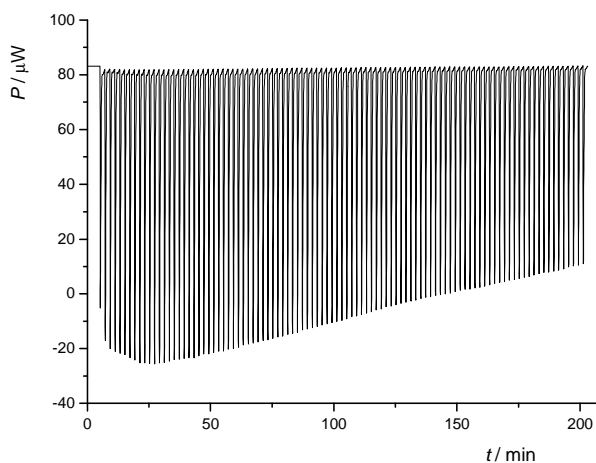
Slika 69. a) Termogram kalorimetrijske titracije OM-Cl^+ ($c = 5,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $V = 1,42 \text{ ml}$) s NaOH ($c = 4,92 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$. b) Kumulativne promjene entalpije u ovisnosti o omjeru množina titransa i titranda.

Tablica 11. Kalorimetrijski određene entalpije reakcija (1) – (5) pri $(25,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

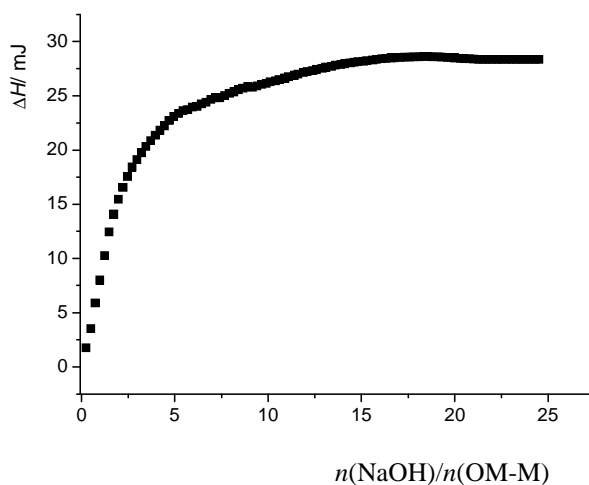
Reakcija	$\Delta_r H / \text{kJ mol}^{-1}$
(1)	$-18,8 \pm 0,3$
(2)	$9,5 \pm 0,3$
(3)	$-30,70 \pm 0,06$
(4)	$11,9 \pm 0,06$
(5)	$40,2 \pm 0,06$

Kako je vidljivo iz prikazanih rezultata, za OM-Cl^+ već iznad množinskog omjera 1:1 nije moguće zamijetiti mjerljive promjene entalpije. Navedena eksperimentalna činjenica posljedica je relativno niske pK vrijednosti istraživanog spoja ($pK = 3,75$). Posve suprotno, mjerljive promjene entalpije u slučaju titracije OM-M s natrijevom lužinom vidljive su do znatno viših množinskih omjera (slika 70), što je izravna posljedica znatno veće pK -vrijednosti navedenog spoja ($pK = 11,72$).

a)



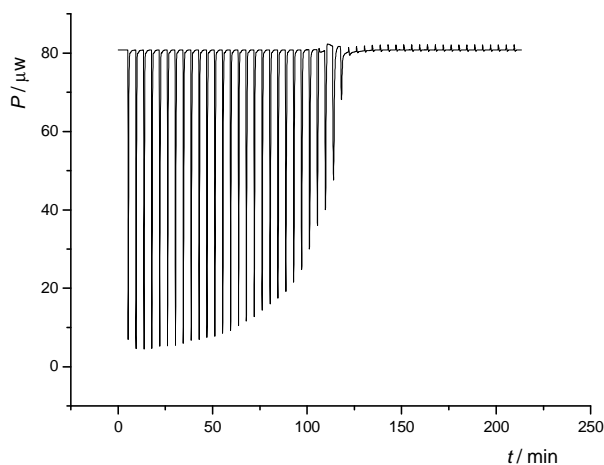
b)



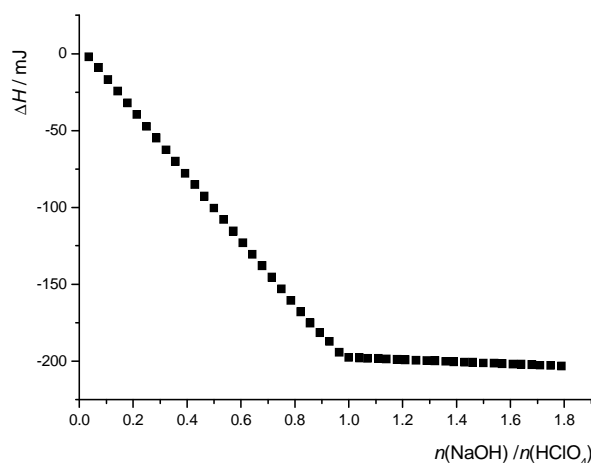
Slika 70. a) Termogram kalorimetrijske titracije OM-M ($c = 2,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $V = 1,42 \text{ ml}$) s NaOH ($c = 0,23 \text{ mol dm}^{-3}$) pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$. b) Kumulativne promjene entalpije u ovisnosti o omjeru množina titransa i titranda.

Entalpija neutralizacije H^+ s OH^- , nužna za određivanje vrijednosti deprotonacijskih entalpija u korištenom otapalu, određena je iz neovisnog pokusa u kojemu je otopina perklorne kiselina titrirana sa standardiziranom otopinom NaOH. Rezultati jedne od kalorimetrijskih titracija prikazani su na slici 71. Vrijednost entalpije reakcije deprotonacije određena iz pojedinih sukcesivnih promjena entalpija i množine dodatnog titransa dana je u tablici 11.

a)



b)



Slika 71. a) Termogram kalorimetrijske titracije HClO_4 ($c = 4,86 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $V = 1,42 \text{ ml}$) s NaOH ($c = 4,92 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$. b) Kumulativne promjene entalpije u ovisnosti o omjeru množina titransa i titranda.

Reakcijske entalpije deprotonacije oba spoja određene iz vrijednosti entalpija reakcija (1) i (2) i reakcije neutralizacije (3) iznose $\Delta_p H(\text{OM-Cl}^+) = 11,9 \pm 0,06$ i $\Delta_p H(\text{OM-M}) = 40,2 \pm 0,06$. Dobivene vrijednosti u skladu su sa znatnim razlikama u protonacijskom afinitetu istraživanih spojeva. U nastavku kalorimetrijskih istraživanja bilo je planirano određivanje entalpija deprotonacije reaktanata pri $60 \text{ }^\circ\text{C}$ kako bi se stekao uvid u temperaturnu ovisnost navedenih reakcijskih veličina, a time i u ovisnost konstanti reakcija deprotonacije spojeva o temperaturi. Navedena istraživanja su započeta pomoću izoternog titracijskog

mikrokalorimetra koji je korišten i za kalorimetrijske pokuse pri 25 °C, međutim zbog temperature bliske vrelištu metanola dobiveni rezultati nisu bili dovoljno reproducibilni.

Provedena su i kalorimetrijska istraživanja prvog koraka sinteze omprazola u otapalima s većim udjelom vode, odnosno određivanje entalpije otapanja OM-M i OM-Cl-HCl u svrhu potpune termodinamičke karakterizacije prvog sintetskog koraka.

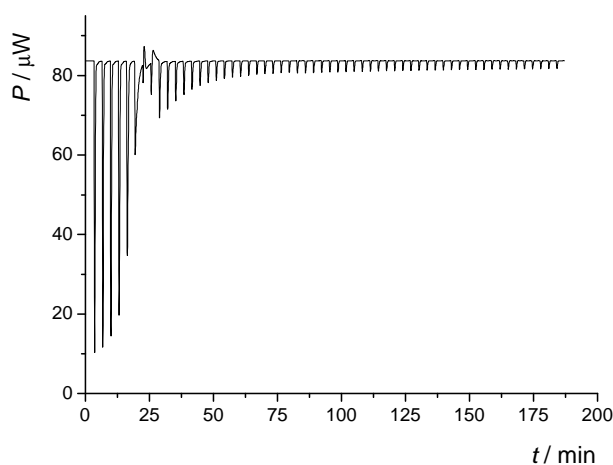
U svrhu detaljnog opisa termodinamike reakcije prvog koraka sinteze omeprazola u modificiranom miješanom otapalu $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,7:1$ mikrokalorimetrijski su određene reakcijske entalpije protonacije OM-Cl te reakcijska entalpija neutralizacije pri $(25,0 \pm 0,1)$ °C. Zbog nešto niže vrijednosti pK OM-Cl⁺ u spomenutom otapalu, taj je spoj najprije neutraliziran sa suviškom standardizirane natrijeve lužine ($n(\text{NaOH})/n(\text{OM-Cl}) \approx 4$). Dobivena otopina potom je titrirana otopinom HClO₄ poznate koncentracije. Budući da je hidroksid u otopini OM-Cl prisutan u suvišku i da afinitet omeprazola za vezanje protona nije suviše velik ($pK(\text{OM-Cl}) = 3,7$), doseg protonacije može se smatrati jednakim množini omeprazola. Doseg reakcije neutralizacije jednak je razlici početne množine lužine i množine omeprazola. Sukladno navedenom, ukupna izmjerena promjena entalpija jednaka je (6):

$$\Delta H = \Delta_p H \cdot \zeta_p + \Delta_n H \cdot \zeta_n, \quad (6)$$

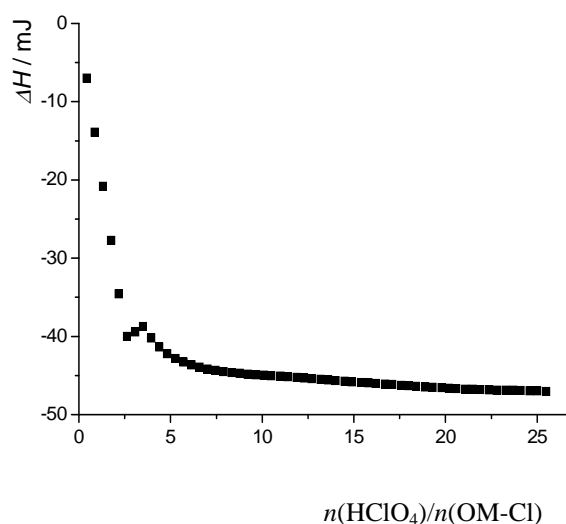
gdje su $\Delta_p H$ i $\Delta_n H$ entalpija protonacije omeprazola, odnosno entalpija neutralizacije, a ζ_p i ζ_n pripadni reakcijski dosezi. Iz te jednadžbe proizlazi da je vrijednosti $\Delta_p H$ moguće odrediti ukoliko je poznata entalpija neutralizacije jake kiseline i jake lužine.

Kao primjer dobivenih rezultata na slici 72 a prikazan je termogram jedne od titracija OM-Cl i NaOH s HClO₄. Pripadna ovisnost kumulativnih promjena entalpija o omjeru množine titransa i titranda prikazana je slici 72 b. Rezultati kalorimetrijskog određivanja entalpije neutralizacije prikazani su na slici 73 a te kumulativne promjene entalpije u ovisnosti o omjeru množina titransa i titranda na slici 73 b.

a)



b)

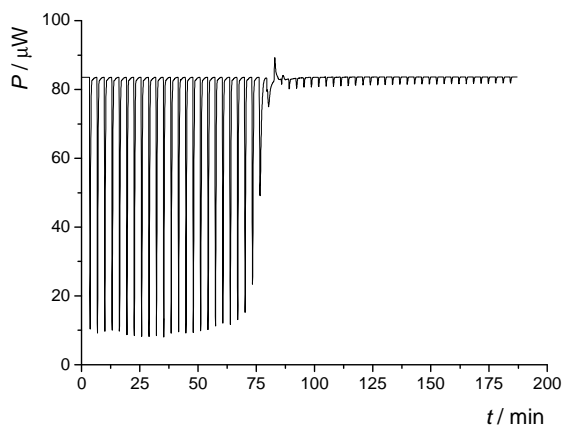


Slika 72. a) Termogram kalorimetrijske titracije OM-Cl ($c = 4,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$; $V = 1,42 \text{ ml}$) i NaOH ($c = 1,48 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ $V = 1,42 \text{ ml}$) s HClO_4 ($c = 4,98 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,7:1$ pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$. b) Kumulativne promjene entalpije u ovisnosti o omjeru množina titransa i titranda.

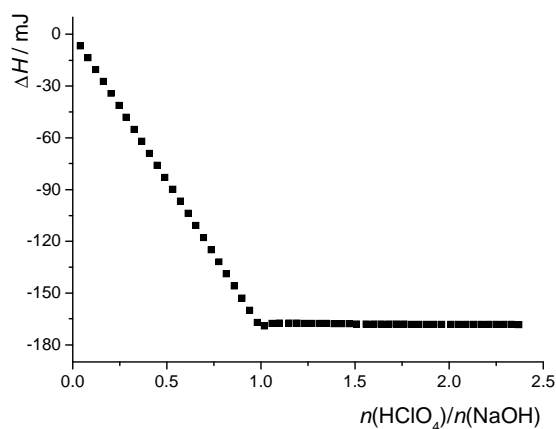
Obradom eksperimentalnih podataka dobivenih na prethodno opisan način dobivene su sljedeće vrijednosti entalpije reakcije protonacije omprazola i entalpije reakcije neutralizacije jake baze s jakim kiselinom u miješanom otapalu $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,7:1$ pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$: $\Delta_p H = -10 \pm 1 \text{ kJ mol}^{-1}$ i $\Delta_n H = -27 \pm 1 \text{ kJ mol}^{-1}$.

Usporedbom navedenih vrijednosti s onima određenima u otapalu korištenim za industrijsku sintezu omeprazola, $\Delta_p H = -11,9 \pm 0,06 \text{ kJ mol}^{-1}$, može se zaključiti da se povećanjem udjela vode entalpije reakcije deprotonacije omeprazola povećava. Navedena činjenica najvjerojatnije je posljedica povoljnije solvatacije protona u otapalima s većim udjelom vode.

a)



b)



Slika 73. a) Termogram kalorimetrijske titracije NaOH ($c = 4,29 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$; $V = 1,42 \text{ ml}$) s HClO_4 ($c = 4,98 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) u miješanom otapalu $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,7:1$ pri $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$. b) Kumulativne promjene entalpije u ovisnosti o omjeru množina titransa i titranda.

Iz kalorimetrijskih mjerenja određene su i entalpije otapanja krutina OM-Cl, OM-M i OM-S u smjesi otapala metanol/voda, $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$, $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$ i $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$, te čistom metanolu prikazane u tablici 12.

U svim slučajevima izmjerena je pozitivna vrijednost entalpije otapanja, odnosno svi su procesi endotermni. Kod spojeva OM-Cl i OM-S nema značajne promjene u vrijednostima entalpije otapanja u proučavanim smjesama otapala, dok je kod spoja OM-M otapanje endotermnije u smjesi otapala s većim udjelom vode.

Tablica 12. Kalorimetrijski određene entalpije i entropije otapanja spojeva OM-Cl, OM-M i OM-S u smjesama otapala metanol/voda i čistog metanola.^a

	OM-Cl	OM-M	OM-S
$V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$	1 : 1		
$\Delta_{\text{sol}}H / \text{kJ mol}^{-1}$		27(1) ^c	
$\Delta_{\text{sol}}S^\circ / \text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$		50,1(5) ^c	
$V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$	5,73 : 1		
$\Delta_{\text{sol}}H / \text{kJ mol}^{-1}$	21,38(7) ^b	27,63(6) ^b	
		28,0(5) ^c	
$\Delta_{\text{sol}}S^\circ / \text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$		71(1) ^c	
$V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$	12,6 : 1		
$\Delta_{\text{sol}}H / \text{kJ mol}^{-1}$	21,4(3) ^b	24,1(5) ^b	33,2(6) ^b
	–	20(1) ^c	–
$\Delta_{\text{sol}}S^\circ / \text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	–	45(4) ^c	–
$V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$	čisti MeOH		
$\Delta_{\text{sol}}H / \text{kJ mol}^{-1}$		17(2) ^c	
$\Delta_{\text{sol}}S^\circ / \text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$		35(5) ^c	

^a nepouzdanost zadnje znamenke izražena je u zagradama kao standardna pogreška srednje vrijednosti

^b vrijednosti dobivene kalorimetrijskim mjerenjima

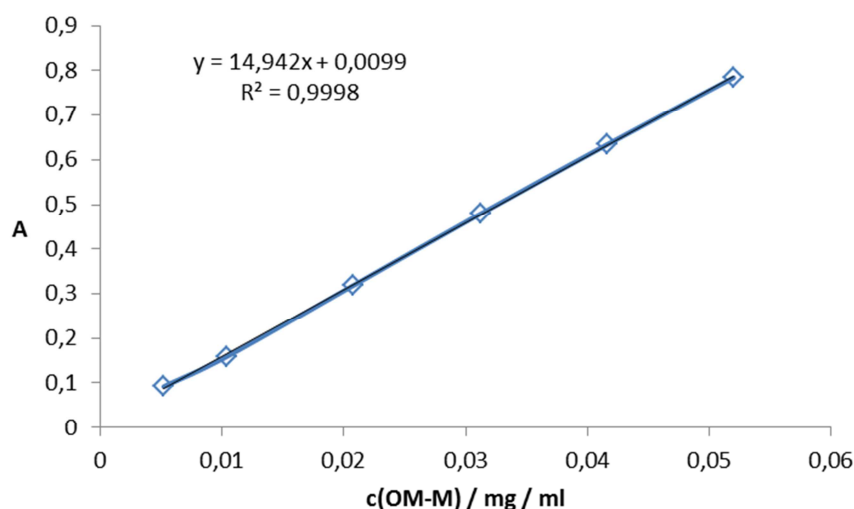
^c vrijednosti određene primjenom van't Hoffove jednadžbe

Tablica 13. Entalpije otapanja krutina OM-Cl, OM-M i OM-S u čistom metanolu te miješanim otapalima s udjelima vode u metanolu 12,6, 5,73 i 1 određeno kalorimetrijski pri $(25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$.

	$\Delta_{\text{sol}}H / \text{kJ mol}^{-1}$		
$V(\text{metanol})/V(\text{voda})$	OM-Cl	OM-M	OM-S
čisti metanol	19,48	20,08	26,41
12,60	20,90	22,54	29,44
5,73	21,96	24,17	30,12
1	28,29	27,32	32,60

4.2.3. Spektrofotometrijsko određivanje topljivosti

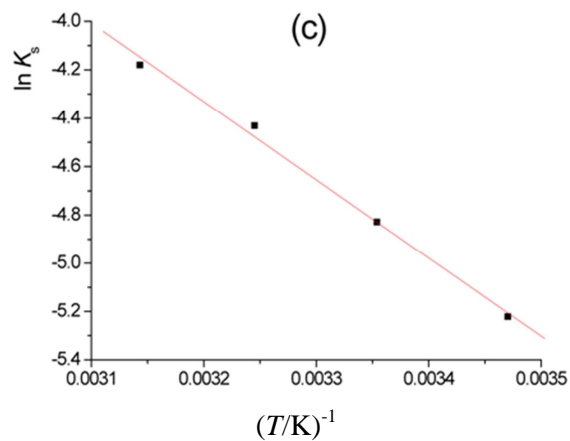
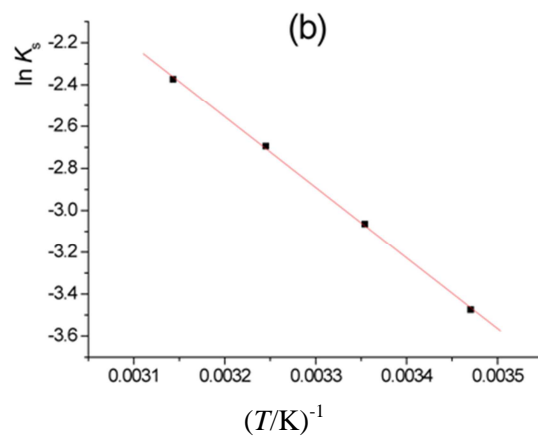
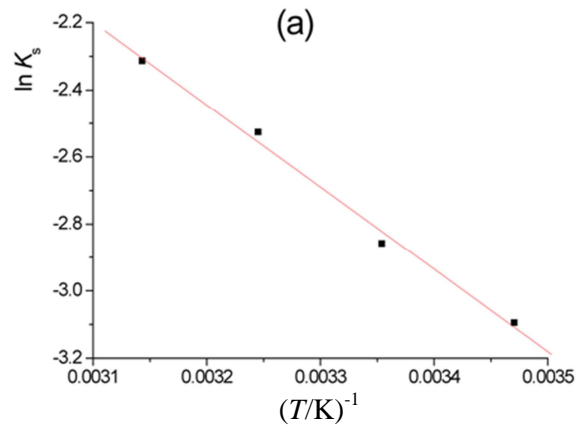
Spektrofotometrijskom određivanju topljivosti u miješanim otapalima metanol/voda i čistom metanolu, spojeva OM-Cl, OM-M i OM-S, pri nekoliko temperatura prethodila je izrada kalibracijskih dijagrama. Spoj OM-M priređen je u koncentracijama od 0,005 mg/ml do 0,05 mg/ml, OM-Cl od 0,06 mg/ml do 0,6 mg/ml i OM-S od 0,015 mg/ml do 0,25 mg/ml. Snimljeni su spektri svih otopina pri 15 °C, 25 °C, 35 °C i 45 °C. Kao primjer, na slici 74 prikazan je dijagram spoja OM-M. U svim dijagramima R^2 iznosio je od 0,9998 do 1, dok su vrijednosti molarnog apsorpcijskog koeficijenta bile redom $28555 \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ za OM-M, $7074 \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ za OM-Cl i $16016 \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ za OM-S.

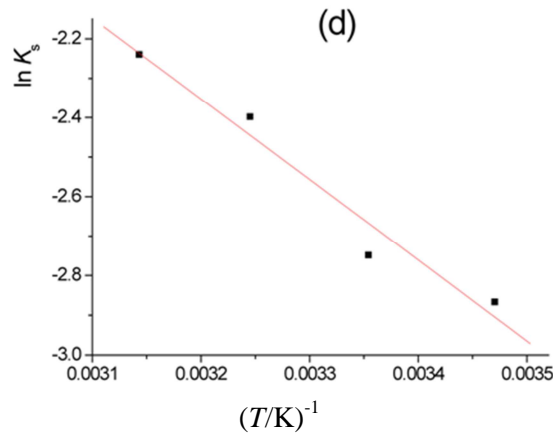


Slika 74. Kalibracijski dijagram spoja OM-M u miješanom otapalu $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$, pri $\lambda = 315 \text{ nm}$.

Spektrofotometrijski su određene topljivosti spojeva OM-M, OM-Cl i OM-S u miješanim otapalima i čistom metanolu pri nekoliko temperatura, a rezultati su prikazani u tablicama 14, 15 i 16. Budući da je nakon otapanja u korištenim otapalima spoj OM-M u neioniziranom obliku, a topljivosti nisu izrazito visoke, opravdano je pretpostaviti da topljivosti po iznosu odgovaraju konstantama ravnoteže otapanja (K_s) tog spoja u istraživanim miješanim otapalima. Na temelju temperaturne ovisnosti standardne konstante ravnoteže otapanja o temperaturi (van't Hoffovi dijagrami na slici 75) određeni su termodinamički parametri otapanja OM-M u dva miješana otapala, tj. odgovarajuće vrijednosti entalpije i entropije otapanja, koje su dane u tablici 17. Dobivena je linearna ovisnost $\ln K_s$ vs. T^{-1} ($R^2 > 0,99$), što upućuje na zaključak da termodinamičke funkcije otapanja OM-M ne ovise

značajno o temperaturi, kao što je i pretpostavljeno. Nadalje, vrijedi napomenuti da su dobivene vrijednosti entalpije otapanja OM-M u oba otapala u dobrom slaganju s onima određenim kalorimetrijski.





Slika 75. Ovisnost standardne konstante ravnoteže otapanja OM-M u miješanom otapalu metanol/voda $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$ o temperaturi (a), $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,7:1$ (b), $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$ (c) i čistom metanolu (d).

Zbog izrazite topljivosti OM-Cl te činjenice da je značajan udio ioniziranog oblika tog spoja prisutan u koncentriranim otopinama, pretpostavka da topljivosti po iznosu odgovaraju konstanti ravnoteže otapanja tog spoja nije opravdana. Stoga nije bilo moguće procijeniti iznos entalpije i entropije otapanja tog spoja. Ipak, dobivena ovisnost topljivosti o temperaturi (porast topljivosti s porastom temperature) u skladu je s činjenicom da je proces otapanja endoterman proces, kao što je utvrđeno kalorimetrijski. Koncentracija OM-S u zasićenim otopinama također je previsoka za pouzdano određivanje termodinamičkih parametara, bez obzira na činjenicu da je taj spoj prisutan najvećim dijelom u neioniziranom obliku. Međutim, i u tom slučaju dobivena temperaturna ovisnost u skladu je s predznakom kalorimetrijski određene entalpije otapanja OM-S. Može se uočiti da udio vode u otapalu ne utječe značajno na topljivost spojeva pri 25 °C, no porast topljivosti s povećanjem temperature znatno je izraženiji u otapalu s višim udjelom vode. U slučaju OM-M to je neupitno posljedica veće vrijednosti entalpije otapanja. Važno je napomenuti da to svojstvo istraživanih spojeva ide u prilog korištenju otapala s višim udjelom vode prilikom sinteze omeprazola.

Tablica 14. Topljivost spoja OM-Cl u miješanim otapalima metanol/voda i čistom metanolu pri nekoliko temperatura.^a

		$s(\text{OM-Cl}) / \text{mol dm}^{-3}$			
$V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$		1	5,73	12,6	čisti MeOH
$\theta / ^\circ\text{C}$	15	2,56(7)	2,20(8)	2,40(2)	1,25(4)
	25	3,06(7)	2,50(3)	2,44(4)	1,87(2)
	35	3,57(2)	2,75(0)	2,70(9)	1,99(8)
	45	3,69(6)	3,05(2)	2,91(1)	2,28(8)

^a nepouzdanost zadnje znamenke izražena je u zagradama kao standardna pogreška srednje vrijednosti ($N = 3$)

Tablica 15. Topljivost spoja OM-M u miješanim otapalima metanol/voda i čistom metanolu pri nekoliko temperatura.^a

		$10^2 s(\text{OM-M}) / \text{mol dm}^{-3}$			
$V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$		1	5,73	12,6	čisti MeOH
$\theta / ^\circ\text{C}$	15	0,54(3)	1,78(8)	4,53(1)	5,69(2)
	25	0,79(5)	4,67(5)	5,74(1)	6,40(9)
	35	1,19(1)	6,67(7)	8,01(4)	9,09(1)
	45	1,53(3)	9,32(1)	9,89(6)	10,65(5)

^a nepouzdanost zadnje znamenke izražena je u zagradama kao standardna pogreška srednje vrijednosti ($N = 3$)

Tablica 16. Topljivost spoja OM-S u miješanim otapalima metanol/voda i čistom metanolu pri nekoliko temperatura.^a

		$s(\text{OM-S}) / \text{mol dm}^{-3}$			
$V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$		1	5,73	12,6	čisti MeOH
$\theta / ^\circ\text{C}$	15	0,0026	0,231	0,265	0,293
	25	0,0063	0,365	0,569	0,781
	35	0,0092	0,946	1,311	1,518
	45	0,0135	1,833	1,922	2,126

^a nepouzdanost zadnje znamenke izražena je u zagradama kao standardna pogreška srednje vrijednosti ($N = 3$)

Tablica 17. Termodinamički parametri otapanja OM-M u miješanom otapalu metanol/voda pri različitim udjelima vode određeni na temelju ovisnosti konstante ravnoteže otapanja o temperaturi.^a

$V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O})$	12,6	5,7
$\Delta_r H^\circ / \text{kJ mol}^{-1}$	20(1)	28,0(5)
$\Delta_r S^\circ / \text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	45(4)	71(1)

^a nepouzdanost zadnje znamenke izražena je u zagradama kao standardna pogreška srednje vrijednosti

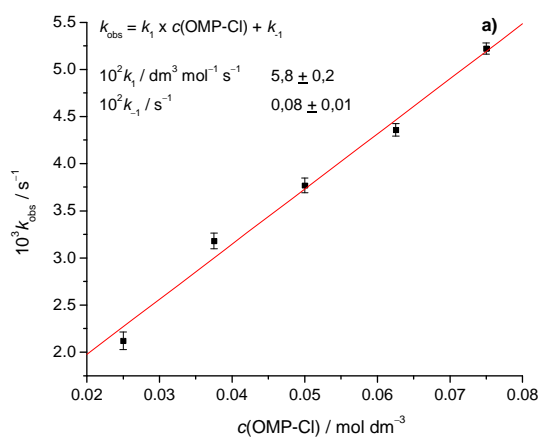
Provedeni su i preliminarni pokusi određivanja topljivosti OM-Cl, OM-M i OM-S turbidimetrijski pomoću instrumentnog sustava Crystal 16 te su utvrđeni povoljni uvjeti za proučavanje procesa otapanja tih spojeva, kao što su temperaturni raspon, brzina promjene temperature, potrebne mase spojeva u mjerenim uzorcima. Određivanje topljivosti temelji se na pojavi turbiditeta uslijed precipitacije spoja iz prezasićene otopine, na što značajan utjecaj može imati kinetika kristalizacije.

Provedeno je određivanje topljivosti mjerenjem turbiditeta automatiziranim instrumentom Crystal 16 s proširenim istraženim temperaturnim rasponom, te je usporedba rezultata u smjesama otapala metanol/voda različitih volumnih udjela vode i čistom metanolu pokazala da su dobiveni rezultati u slaganju s onima dobivenim spektrofotometrijski.

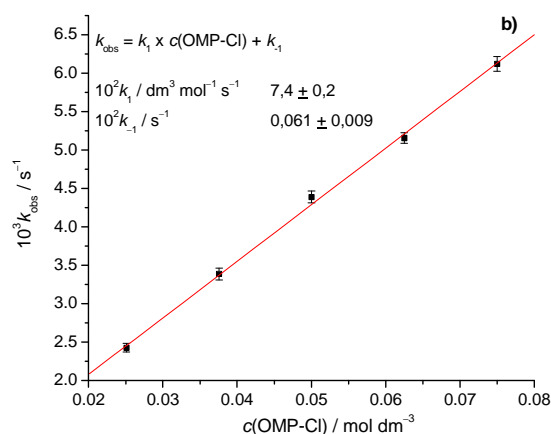
4.2.4. Kinetička istraživanja

Nastavljena su i kinetička istraživanja reakcije spojeva OM-M i OM-Cl u otapalu korištenom u industrijskoj sintezi $V(\text{MeOH}) / V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6 : 1$ u kojima je detaljnije proučen utjecaj koncentracije NaOH na brzinu reakcije (slika 76). Navedene koncentracije lužine odgovaraju koncentraciji OH^- iona nakon potpune neutralizacije hidrokloridnog oblika spoja OM-Cl. Konstante brzine reakcije određene pri dvije najveće koncentracije lužine imaju približno istu vrijednost dok pri koncentraciji lužine od $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ dolazi do smanjenja konstante brzine reakcije za otprilike 20 %.

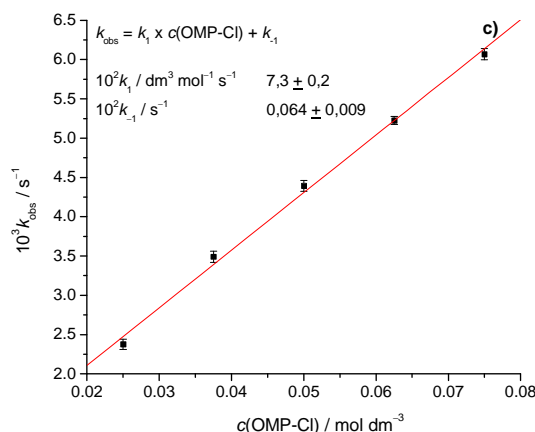
a)



b)



c)



Slika 76. Ovisnost konstante brzine reakcije OM-Cl i OM-M u smjesi otapala metanol/voda, $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$, pri nekoliko koncentracija natrijevog hidroksida. $c(\text{OM-M}) = 1,25 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, pri $(25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. a) $c(\text{NaOH}) = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$; b) $c(\text{NaOH}) = 0,09 \text{ mol dm}^{-3}$; c) $c(\text{NaOH}) = 0,15 \text{ mol dm}^{-3}$.

Iz određenih konstanti brzine reakcije izračunate su vrijednosti konstante ravnoteže reakcije koje odgovaraju omjeru k_1/k_{-1} . Vidljivo je da su vrijednosti konstanti ravnoteže za koncentracije lužine od $0,09 \text{ mol dm}^{-3}$ i $0,15 \text{ mol dm}^{-3}$ približno iste, dok sa smanjenjem koncentracije OH^- iona konstanta ravnoteže postaje manja. Rezultati su prikazani u tablici 18.

Tablica 18. Konstanta ravnoteže reakcije spojeva OM-Cl i OM-M u smjesi otapala metanol/voda, $V(\text{MeOH}) / V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6 : 1$, pri nekoliko koncentracija natrijevog hidroksida pri $(25,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$.

$c(\text{NaOH}) / \text{mol dm}^{-3}$	0,05	0,09	0,15
$K / \text{dm}^3 \text{mol}^{-1}$	72,5	122,1	113,5

Rezultati kinetičkih istraživanja upućuju na to da pri 25°C koncentracija lužine u rasponu od $0,09 - 0,15 \text{ mol dm}^{-3}$ nema značajnog utjecaja na konstante brzine i konstantu ravnoteže reakcije spojeva OM-Cl i OM-M u smjesi otapala metanol/voda korištenoj u industrijskoj sintezi omeprazola.

Istražen je i utjecaj koncentracije te vremena dokapavanja otopine vodikova peroksida u reakcijsku smjesu koja je sadržavala prethodno pripravljeni omeprazol sulfid. Utjecaj promjene ovih parametara istražen je zbog nastanka omeprazol sulfona kao glavnog onečišćenja koje nastaje zbog preoksidacije reakcijske smjese. Variranje koncentracije

oksidansa i brzine dokapavanja radi izbjegavanja lokalnog povišenja koncentracije moglo bi smanjiti količinu nastalog sulfona. Iz provedenih eksperimenata zaključeno je da je optimalno koristiti 1 ekvivalent vodikova peroksida jer već korištenjem 1,3 ekvivalenata dolazi do nastanka značajne količine sulfona i smanjenja iskorištenja reakcije. Također ukoliko se koristi manje od jednog ekvivalenta ostaje dosta neizreagiralog sulfida. Također za dokapavanje je pokazano da ne smije biti ispod 90 min, jer zbog prevelike lokalne koncentracije nastaje značajna količina sulfonskog nusprodukta, dok jedan dio sulfida ostane neizreagiran.

5. ZAKLJUČAK

U ovom je radu optimiziran postupak sinteze u industrijskoj proizvodnji djelatne tvari omeprazola. Rezultati fizikalno-kemijskih, točnije termodinamičkih i kinetičkih, istraživanja poslužili su kao preduvjet za postizanje toga cilja.

Istraživanje predloženo u okviru ove disertacije doprinijelo je razumijevanju utjecaja otapala na termodinamičke parametre vezane uz reakcije protonacije i procese otapanja spojeva korištenih u sintezi spomenutog farmakološki važnog spoja. Dobiveni rezultati omogućili su poboljšanje proizvodnog postupka pri dobivanju omeprazola te bi potencijalno mogli smanjiti utrošak energije i organskih otapala na industrijskoj skali. Dodatno, općenito su pružili detaljniji uvid u utjecaj solvatacije na termodinamiku procesa protonacije i otapanja derivata piridina i imidazola.

Fizikalno-kemijska istraživanja većim su dijelom bila usmjerena na određivanje termodinamičkih veličina vezanih uz prvi korak sinteze omeprazola. U skladu s tim određene su pK vrijednosti OM-Cl i OM-M u čistom metanolu. Dobivene su sljedeće vrijednosti: $pK(\text{OM-Cl}) = 5,01$; $pK(\text{OM-M}) = 13,52$. Zatim su određene vrijednosti pK u industrijski korištenom otapalu ($V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12,6:1$), gdje su dobivene sljedeće vrijednosti: $pK(\text{OM-Cl}) = 3,75$; $pK(\text{OM-M}) = 11,72$. U modificiranom otapalu ($V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 5,73:1$), pK vrijednosti su iznosile: $pK(\text{OM-Cl}) = 3,66$; $pK(\text{OM-M}) = 11,46$, dok su pri $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$ pK vrijednosti iznosile: $pK(\text{OM-Cl}) = 3,89$; $pK(\text{OM-M}) = 10,67$. Ti su rezultati ukazali na izniman utjecaj čak i najmanje količine vode na kiselinsko-bazna svojstva istraživanih spojeva, odnosno značajan pad pK -vrijednosti oba proučavana spoja s povećanjem udjela vode u otapalu, što je u skladu s očekivanim, uzme li se u obzir povoljnija solvatacija vodikovih iona u otapalu s većim udjelom vode. U svrhu potpune fizikalno-kemijske karakterizacije svih procesa koji se zbivaju prilikom sinteze omeprazola provedena su kalorimetrijska istraživanja otapanja OM-Cl i OM-M u otapalu korištenom u industrijskom postupku pripreme omeprazola, odnosno otapalima s većim udjelima vode. Određene su entalpije otapanja u otapalu u trenutno korištenom postupku pri 25 °C te iznose: $\Delta_s H(\text{OM-Cl}) = 21,4 \text{ kJ mol}^{-1}$ i $\Delta_s H(\text{OM-M}) = 24,1 \text{ kJ mol}^{-1}$, dok u modificiranom sustavu otapala iznose $\Delta_s H(\text{OM-Cl}) = 21,38 \text{ kJ mol}^{-1}$ i $\Delta_s H(\text{OM-M}) = 27,63 \text{ kJ mol}^{-1}$.

Pokazano je da se OM-Cl bolje otapa u otapalima s većim udjelom vode, što je očekivano s obzirom na to da se radi o hidrokloridnoj soli. S druge strane, spojevi OM-M i OM-S pokazali su bolju topljivost u otapalima bogatijim organskom komponentom, što je također u dobrom slaganju s njihovim svojstvima, odnosno strukturom. Najnaglašenija promjena u topljivosti s promjenom udjela vode u otapalu je uočena u slučaju spoja OM-S, koji je jako dobro topljiv u metanolu i otapalima s visokim udjelom metanola, dok mu je topljivost u otapalu s udjelom $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$ znatno manja.

Određena su protonacijska i solvatacijska svojstva, odnosno vrijednosti pK te entalpije i entropije otapanja polaznih spojeva i međuprodukata u različitim smjesama metanol/voda i u čistom metanolu, što je omogućilo odabir optimalnog sustava otapala za sintezu omeprazola. Utvrđeno je da protonacijska i solvatacijska svojstva proučavanih spojeva značajno ovise o sastavu otapala. Svi dobiveni rezultati detaljno su obrazloženi i raspravljeni uzimajući u obzir naboje i strukture proučavanih kemijskih vrsta. Detaljnom analizom rezultata uočeno je da proces solvatacije ima važnu ulogu pri određivanju svojstava ispitivanih sustava.

Činjenica da je disocijacija prekursora OM-M povoljnija u otapalima s većim sadržajem vode u miješanom otapalu metanola i vode može se istaknuti kao jedan od ključnih spoznaja u kontekstu sintetskog postupka za proizvodnju omeprazola. Budući da je ionizirani oblik OM-M vrsta koja sudjeluje u reakciji kondenzacije, dobiveni rezultati doveli su do ideje o uporabi izmijenjene smjese otapala, u usporedbi s konvencionalnim postupkom tijekom sinteze omeprazola, pri čemu je ta promjena išla u smjeru povećanja sadržaja vode. Pokazalo se da je to bila odlučujuća modifikacija za optimizaciju sintetskog postupka, koja bi u konačnici mogla dovesti do brže i isplativije proizvodnje lijeka. Smanjena uporaba organskog otapala dodatno čini predloženi sintetski postupak “zelenijim” i ekološki prihvatljivijim.

6. LITERATURA

1. J. Swarbrick, *Encyclopedia of Pharmaceutical Science and Technology*, CRC Press, Boca Raton., 2013.
2. www.WHO Model List of Essential Medicines, World Health Organization. October 2013. Pristupljeno 22. travnja 2014.
3. B. Radaram, M. Levine., *Tetrahedron Lett.* 2014, 55(35), 4905-4908.
4. P. Lindberg, A. Brändström, B. Wallmark, H. Mattsson, L. Rikner, K.-L. Hoffmann, *Med. Res. Rev.* 1990, 10, 1-54.
5. F. Andrasi, P. Berzsenyi, L. Farkas, J. Korosi, T. Hamori, P. Botka, I. Ling, T. Lang, *Pharmazie* 2004, 59, 365-366.
6. <https://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/>
7. S.-Y. Chou, S.-F. Chen, *Heterocycles* 1997, 45, 77-85.
8. K. Kubo, K. Oda, T. Kaneko, H. Satoh, A. Nohara, *Chem. Pharm. Bull.* 1990, 38, 2853-2858.
9. J.-E. Baeckvall, *Modern Oxidation Methods*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2010.
10. C. Yang, Q. Jin, H. Zhang, J. Liao, J. Zhu, B. Yu, J. Deng, *Green Chem.* 2009, 11, 1401-1405.
11. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Ann. Chim.* 1999, 89, 45-49.
11. a) B. G. Cox, *Acids and Bases: Solvent Effects on Acid-Base Strength*, Oxford University Press: Oxford, U.K., 2013, b) B. G. Cox, *Org. Proc. Res. Dev.* 2015 19, 1800-1808.
12. a) C. L. De Ligny, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas Belg.* 1960, 79, 731-736, b) M. Paabo, R. G. Bates, R. A. Robinson, *J. Phys. Chem.* 1966, 70, 247-251.
13. F. Rived, I. Canals, E. Bosch, M. Rosés, *Anal. Chim. Acta* 2001, 439, 315-333.

14. S. Sanli, Y. Altun, G. Alsancak, *J. Sol.Chem.* 2012, 41, 1352–1363.
15. C. H. Rochester, *J. Chem. Soc. Dalton. Trans.* 1972, 5-8.
15. Y. Marcus, *Ion Properties*, CRC Press, Boca Raton, 1997.
16. a) Y. Marcus, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 1999, 1, 2975-2983, b) Y. Marcus, *Monatsh. Chem.* 2001, 132, 1387-1411, c) F. Naderi, A. Farajtabar, F. Gharib, *J. Mol. Liq.* 2014 190, 126–132.
17. M. K. Chantooni, I. M. Kolthoff, *J. Phys. Chem.* 1974, 78, 839-846.
18. A. Satyam, PCT Int. Appl. 2014 WO 2014111957 A1 20140724.
19. D. S. Bhalerao, G. C. M. Kondaiah, N. Dwivedi, R. K. Mylavarappu, L. A. Reddy, A. Roy, G. Nagaraju, P. P. Reddy, A. Bhattacharya, R. Bandichhor, *Synth. Commun.* 2010, 40, 2983-2987.
20. P. B. Correia, C. C. Romao, L. B. Correia, M. F. Pereira, A. C. Fernandes, J. E. Borges, R. Tavares, M. D. C. Costa, F. Teixeira, PCT Int. Appl. 2003 WO 2003097606 A1 20031127.
21. A. Brandstrom, P. Lindberg, and U. Junggren, *Scand. J. Gastroenterol.*, 108, (Suppl.) 15-22(1985).
22. E. Fellenius, T. Berglindh, G. Sachs, L. Olbe, B. Elander, S.-E. Sjöstrand, B. Wallmark, *Nature*, 290 (1981) 159-161.
23. A. E. Brandstrom, B. R. Lamm, U.S. Patent 4,620,008. (Aktiebolaget Hassle), October 28, 1986.
24. J. E. Baldwin, R. M. Adlington, N. P. Crouch, U.S. Patent 6043371,2000.
25. C. Slemon, B. Macel 1995, US Patent 5,470,983. (Torcan Chemical Ltd., Canada), November 28, 1995.
26. V. Martinez, M. I. Maguregui, R. M. Jiménez, R. M. Alonso, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 23 (2000) 459-468.
27. P. R. B. Fallavena, E. E. S. Schapoval, *Int. J. Pharm.* 158 (1997) 109-112.

28. K. G. Gadamasetti, *Process Chemistry in the Pharmaceutical Industry*, Volume 1, Marcel Dekker, Inc., New York 1999.
29. C. S. Pharmaceutical Science P. Sastry, P. Y. Naidu, S. S. N. Murthy, *Talanta* 44 (1997) 1211-1217.
30. N. Ozaltin, A. Kocer, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 16 (1997) 337-342.
31. W. O. Foye, J.-R. Lo, *J. Pharm. Sci.* 1972, 61, 1209-1212.
32. M. Tuncel, D. Dogrukol-Ak, *Pharmazie* 52 (1997) 73-74.
33. K. Karljickovic-Rajic, D. Novovic, V. Marinkovic, D. Agbaba, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 32 (2003) 1019-1027.
34. A. A. Al-Badr, *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, Volume 35, Elsevier Inc., 2010.
35. S. Pinzauti, P. Gratteri, S. Furlanetto, P. Mura, E. Dreassi, R. Phan-Tan-Luu, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 14 (1996) 881-889.
36. A. Radi, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 31 (2003) 1007-1012.
37. S. Mangalan, R. B. Patel, B. K. Chakravarthy, *J. Planar. Chromatogr. Modern TLC* 4 (1991) 492-493.
38. S. Ray, P. Kumar-De, *Indian Drugs* 31 (1994) 543-547.
39. D. Dogrukol-Ak, Z. Tunalier, M. Tuncel, *Pharmazie* 53 (1998) 272-273.
40. D. Agbaba, D. Novovic, K. Karljickovic-Rajic, V. Marinkovic, *J. Planar. Chromatogr. Modern TLC* 17 (2004) 169-172.
41. M. A. Amantea, P. K. Narang, *J. Chromatogr.* 426 (1988) 216-222.
42. Q. B. Cass, V. V. Lima, R. V. Oliveira, N. M. Cassiano, A. L. Degani, J. Pedrazzoli, *J. Chromatogr. B* 798 (2003) 275-281.
43. M. Rambla-Alegre, J. Esteve-Romero, S. Garda-Broch, *Anal. Chim Acta* 633 (2009) 250-256.

44. Z. A. El-Sherif, A. O. Mohamed, M. G. El-Bardicy, M. F. El-Tarras, *Chem. Pharm. Bull.* 54 (2006) 814-818.
45. D. S. Yim, J. E. Jeong, J. Y. Park, *J. Chromatogr. B* 754 (2001) 487-493.
46. L. Weidolf, T. R. Covey, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 6 (1992) 192-196.
47. H. Kanazawa, A. Okada, Y. Matsushima, H. Yokota, S. Okubo, F. Mashige, *J. Chromatogr.* 949 (2002) 1-9.
48. B. P. Jensen, C. Smith, I. D. Wilson, L. Weidolf, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18 (2004) 181-183.
49. L. Toribio, C. Alonso, M. J. del Nozal, J. L. Bernal, M. T. Martin, *J. Chromatogr.* 1137 (2006) 30-35.
50. T. Perez-Ruiz, C. Martinez-Lozano, A. Sanz, E. Bravo, R. Galera, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 42 (2006) 100-106.
51. I. Bakó, T. Megyes, S. Bálint, V. Chihaiia, M. C. Bellissent-Funel, H. Krienke, Andreas Kopf, S. Suh, *J. Chem. Phys.* 132 (2010) 14506.
52. K. N. Marsh, *Recommended Reference Materials for the Realization of Physicochemical Properties*, Blackwell, Oxford, 1987.
53. J. W. Black, W. A. M. Duncan, C.J. Durant, C. R. Ganellin, E. M. Parsons, *Nature*, 236, 385-340 (1972).
54. P. A. Nickolson, *Dig. Dis. Sci.*, 30, 171S-177S (1985).
55. A. L. Ganser, J. G. Forte, *Biochim. Biophys. Acta*, 307, 169-180 (1973).
56. G. Sachs, H. M. Chang, E. Rabon, R. Schackmann, M. Lewin, G. Saccomani, *J. Biol. Chem.*, 251, 7690-7698 (1974).
57. C. S. Crew, G. Sachs, S. J. Hersey, T. Berglinde, *Am. J. Physiol.*, 238, G312-G320 (1980).
58. S. Muallem, G. Sachs, *Biochem. Biophys. Acta*, 805, 181-185 (1984).
59. A. Smolka, H. F. Heladner, G. Sachs, *Am. J. Physiol.*, 245, G589-G596 (1983).
60. J. M. Wolosin, J. G. Forte, *Am. J. Physiol.*, 246, C537-C545 (1984).
61. G. E. Skull, J. B. Lingrel, *J. Biol. Chem.*, 261, 16788-16799 (1985).

62. B. Wallmark, H. B. Stewart, E. Rabon, G. Saccomani, G. Sachs, *J. Biol. Chem.*, 255, 5313-5319 (1980).
63. H. B. Stewart, B. Wallmark, G. Sachs, *J. Biol. Chem.*, 256, 2682-2690 (1981).
64. R. J. Jackson, J. Mendlein, G. Sachs, *Biochim. Biophys. Acta*, 731, 9-15 (1983).
65. J. D. Kannitz, G. Sachs, *J. Biol. Chem.*, 261, 14005-14010 (1986).
66. A. Brandstrom, P. Lindberg, U. Junggren, *Scand. J. Gastroenterol.*, 108, (Suppl.) 15-22 (1985).
67. P. Lindberg, A. Brandstrom, B. Wallmark, in *Proceedings of the International Symposium on Medicinal Chemistry, Berlin 1986*, E. Mutschler, E. Winterfeldt, Eds., VCH, New York, 1987, pp. 457-473.
68. Y.-H. Lee, E. Phillips, S. W. Sause, *Arch. Inf. Pharmacodyn.*, 195, 402-410 (1972).
69. H. F. Helander, C.-H. Ramsay, C.-G. Regardh, *Scand. J. Gastroenterol.*, 108, (Suppl.) 95-104 (1985).
70. J. Fryklund, K. Gedda, B. Wallmark, *Biochem. Pharmacol.*, 37, 2543-2549 (1988).
71. B. Wakkmark, H. Larsson, L. Humble, *J. Biol. Chem.*, 260, 13681-4 (1985).
72. S. Sweetman (Ed.), Martindale, *The Complete Drug Reference*, Pharmaceutical Press, Electronic Version 2007.
73. M. J. O'Neil (Ed.), *The Merck Index*, 14th ed., Merck & Co., Inc., NJ, USA, 2006, p. 1179.
74. A.Q. C. Moffat, M. D. Osselton, B. Widdop, (Eds.), *Clark's Analysis of Drugs and Poisons*, third ed., Vol. 2, Pharmaceutical Press, London, 2004, pp. 1366-1368.
75. J. H. Block, J. M. Beale Jr. (Eds.), *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, 11th ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2004, p. 954.
76. P. Richardson, C. J. Hawkey, W. A Stack, *Drugs* 56 (1998) 307-335.
77. H. D. Langtry, M. I. Wilde, *Drugs* 56 (1998) 447-486.
78. R. R. Berardi, L. S. Welage, *Am. J. Health-Syst. Pharm.* 55 (1998) 2289-2298.
79. G. J. E. Brown, N. D. Yeomans, *Drug Safety* 21 (1999) 503-512.
80. B. L. Erstad, *Ann. Pharmacother.* 35 (2001) 730-740.
81. M. Robins, J. Horn, *Drugs* 63 (2003) 2739-2754.
82. R. Dekel, C. Morse, R. Fass, *Drugs* 64 (2004) 277-295.

7. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Nina Vojčić

Datum rođenja: 7. srpnja 1978.

Mjesto rođenja: Zagreb

Obrazovanje

Klasična gimnazija, Zagreb

Dodiplomski studij kemije, Kemijski odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu

Doktorski studij kemije, Kemijski odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu

Sudjelovanja na znanstvenim skupovima

1. Vojčić, Nina; Matečić Mušanić, Sanja; Bregović, Nikola; Tomišić, Vladislav; Meštrović, Ernest. Karakterizacija procesa otapanja farmaceutski važnih spojeva u metanolu i miješanim otapalima metanol / voda - usporedba metoda određivanja topljivosti // (poster,domaća recenzija,sažetak,znanstveni). Simpozij studenata Doktorskih studija PMF-a, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, 26. veljače 2016.

2. Bregović, Nikola; Vojčić, Nina; Požar, Josip; Cindro, Nikola; Horvat, Gordan; Meštrović, Ernest; Tomišić, Vladislav. Physico-chemical measurements as a prerequisite for optimization of Omeprazole synthesis // International MacroTrend Conference on Medicine, Science and Technology - New York 2015: Program and conference proceedings. Austin : Macrojournals, 2015. 26-26 (poster,sažetak).

3. Cindro, Nikola; Vojčić, Nina; Požar, Josip; Bregović, Nikola; Horvat, Gordan; Meštrović, Ernest; Tomišić, Vladislav. Physico-chemical steering towards greener processes - optimization of Omeprazole synthesis // International MacroTrend Conference of Medicine, Science and Technology - New York 2015: Program and conference proceedings. Austin : Macrojournals, 2015. 27-27 (poster, sažetak, znanstveni).

4. Runje, Mislav; Vojčić, Nina; Dujmić Vučinić, Željka; Krizmanić, Irena; Meštrović, Ernest; Babić, Sandra. Validacija UPLC metode za određivanje onečišćenja u nepafenaku // Knjiga sažetaka "24. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera" / Ukić, Šime ; Bolanča, Tomislav (ur.). Zagreb : Croatian Society of Chemical Engineers, 2015. 183-183 (poster, domaća recenzija, sažetak, znanstveni).

5. Runje, Mislav; Vojčić, Nina; Dujmić Vučinić, Željka; Krizmanić, Irena; Meštrović, Ernest; Babić, Sandra. Određivanje onečišćenja UPLC-MS metodom nastala degradacijom nepafenaka // Knjiga sažetaka "24. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera" / Ukić, Šime ; Bolanča, Tomislav (ur.). Zagreb : Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, 2015. 182-182 (poster, domaća recenzija, sažetak).

Publikacije

1. Vojčić, Nina; Bregović, Nikola; Cindro, Nikola; Požar, Josip; Horvat, Gordan; Pičuljan, Katarina; Meštrović, Ernest; Tomišić, Vladislav
Optimization of Omeprazole Synthesis: Physico- Chemical Steering Towards Greener Processes // ChemistrySelect, 2 (2017), 17; 4899-4905 doi:10.1002/slct.201700433
(međunarodna recenzija, članak, znanstveni) *

2. Runje, Mislav; Babić, Sandra; Meštrović, Ernest; Nekola, Irena; Dujmić-Vučinić, Željka; Vojčić, Nina
Forced degradation of nepafenac: development and validation of stability indicating UHPLC method // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 123 (2016), 42-52
doi:10.1016/j.jpba.2016.02.003 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

3. Tomić Linšak, Dijana; Linšak, Željko; Bešić, Denis; Vojčić, Nina; Teležar, Mirna; Čoklo, Miran; Šušnić, Saša; Mićović, Vladimir

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Heavy Metals in Kostrena Coastal Area // Collegium Antropologicum, 35 (2011), 4; 1193-1196 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)