

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 966 020**

51 Int. Cl.:

**C07D 213/88** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.04.2020 PCT/IB2020/053841**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.04.2021 WO21069975**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.04.2020 E 20722665 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2023 EP 4041712**

54 Título: **Un método de síntesis de flujo continuo para la fabricación de isoniazida**

30 Prioridad:

**10.10.2019 GB 201914685**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**17.04.2024**

73 Titular/es:

**NELSON MANDELA UNIVERSITY (100.0%)  
University Way Summerstrand  
6001 Port Elizabeth, ZA**

72 Inventor/es:

**WATTS, PAUL y  
MANGWIRO, RUVIMBO**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 966 020 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Un método de síntesis de flujo continuo para la fabricación de isoniazida

Introducción

5 Esta invención se refiere a un método de síntesis de flujo continuo de múltiples etapas para la fabricación de isoniazida, en particular, pero no exclusivamente, a un método de síntesis de flujo continuo que produce un rendimiento de isoniazida superior al 90 %.

Antecedentes

Existen numerosos procedimientos y rutas de síntesis descritas en la técnica anterior para la preparación de isoniazida.

10 Sin embargo, todas las metodologías de síntesis existentes para la producción de estos compuestos se han basado en procedimientos estándar del tipo de reactor discontinuo agitado, en los que se usan volúmenes importantes de disolventes orgánicos. Además, estos procedimientos por lo general aíslan los productos intermedios del procedimiento en cada etapa del procedimiento, lo que aumenta aún más el uso de disolventes. Por lo tanto, el coste relativamente alto de los API producidos de esta manera se basa en gran medida en esta dependencia de solventes orgánicos, y las ineficiencias inherentes del procedimiento que resultan del aislamiento de productos intermedios.

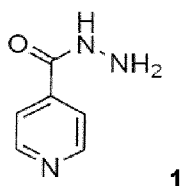
15 La tecnología de microrreactor (MRT), más recientemente denominada "química de flujo", es una técnica emergente que permite a quienes trabajan en investigación y desarrollo reacciones de cribado rápido usando flujo continuo, lo que lleva a la identificación de condiciones de reacción que son apropiadas para su uso en nivel de producción. Adicionalmente, además de usar la metodología de reacción convencional, la seguridad inherente asociada con el uso de volúmenes pequeños de reactor permite a los usuarios emplear condiciones de reacción que antes se consideraban demasiado peligrosas para su uso dentro de un entorno de producción; tales como condiciones de reacción extremas o el uso/generación de compuestos "peligrosos". En consecuencia, el tipo de reacciones disponibles para el químico aumenta mediante el uso de esta tecnología. A la fecha no existe ningún procedimiento para la producción de isoniazida basado en la metodología de química de flujo.

20 Por lo tanto, existe la necesidad de un método mejorado para la fabricación de isoniazida. En particular, existe la necesidad de un método de síntesis de flujo de múltiples etapas completamente continuo para la fabricación de isoniazida, produciendo preferiblemente el método un rendimiento de isoniazida superior al 90 %.

Se hace referencia a: WO2014/039829, US2830994, GB787282, WO97/29087, DD63493.

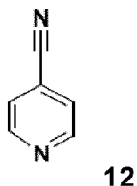
Sumario de la invención

30 Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un método de síntesis de flujo continuo en microrreactor de múltiples etapas, apropiado para producir un rendimiento superior al 90 %, para la fabricación de isonicotinil-hidrazida de fórmula 1.

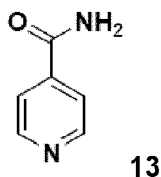


que comprende las etapas de:

35 a) en un primer microrreactor, o una primera parte de una configuración de microrreactor apropiada, hacer reaccionar 4-ciano piridina de fórmula 12



en una mezcla de agua y alcohol, con NaOH en una relación molar de 4-ciano piridina:NaOH de 1:0.2 a 1:0.4 a una temperatura de 95 °C a 105 °C para producir el producto intermedio, isonicotinamida de fórmula 13



- 5 b) en un segundo microrreactor, o una segunda parte de una configuración de microrreactor apropiada, que está en comunicación fluida con el primer microrreactor, o la primera parte del microrreactor, hacer reaccionar el producto intermedio, isonicotinamida de fórmula 13 con hidrato de hidracina en una relación molar de isonicotinamida:hidrato de hidracina de 1:1.75 a 1:2.50 a una temperatura de 100 °C a 120 °C, en el que la reacción en la etapa a) tiene un tiempo de residencia de 10 a 32 minutos, y la reacción en la etapa b) tiene un tiempo de residencia de 10 a 25 minutos.
- En una realización, en la etapa a) la 4-ciano piridina se disuelve en una mezcla de agua y alcohol, incluido metanol.
- En una realización preferida, la mezcla de agua y alcohol tiene una proporción de alcohol:agua de 7:3.
- En una realización preferida, en la etapa a) la relación molar de 4-ciano piridina a NaOH es 1:0.2.
- 10 En una realización, en la etapa a) la temperatura es de 95 °C a 100 °C.
- En una realización preferida, en la etapa a) la temperatura es 95 °C.
- En una realización preferida, en la etapa a) el tiempo de residencia es de 10 a 15 minutos.
- En una realización especialmente preferida, en la etapa a) el tiempo de residencia es de 10 minutos.
- En una realización, en la etapa b) la relación molar de 4-ciano piridina:hidrato de hidracina es de 1:1.75 a 1:2.25.
- 15 En una realización preferida, en la etapa b) la relación molar de 4-ciano piridina:hidrato de hidracina es 1:2.0.
- En otra realización, en la etapa b) la temperatura es de 100 °C a 115 °C, o de 105 °C a 115 °C.
- En una realización preferida, en la etapa b) la temperatura es 105 °C.
- En una realización preferida, en la etapa b) el tiempo de residencia es de 10 a 20 minutos.
- En una realización especialmente preferida, en la etapa b) el tiempo de residencia es de 10 minutos.
- 20 En una realización preferida, el rendimiento total del método de síntesis de flujo continuo en múltiples etapas para isonicotinil-hidrazida a partir de 4-ciano piridina es superior al 92 %, superior al 94 %, o superior al 95 %.
- Breve descripción de los dibujos
- La invención se describirá ahora con más detalle con referencia a las siguientes realizaciones y figuras no limitantes en las que:
- 25 La figura 1 muestra una representación esquemática de un método de síntesis general de la invención;
- La figura 2 muestra una representación esquemática de la configuración utilizada para investigar la preparación de isonicotinil-hidrazida 1 como un procedimiento continuo de múltiples etapas;
- La figura 3 muestra una configuración de flujo continuo para la síntesis de isonicotinamida mediante hidrólisis de 4-cianopiridina;
- 30 La figura 4 muestra el efecto del % molar relativo de hidróxido de sodio sobre la conversión hacia 13 y formación del subproducto 15;
- La figura 5 muestra el efecto de la temperatura en la conversión hacia 13 y formación del subproducto 15;
- La figura 6 muestra el efecto del tiempo de residencia en la conversión de 12 hacia 13; y
- La figura 7 muestra el efecto del tiempo total de residencia en la conversión hacia 1, en el que la reacción hacia 13 tenía un tiempo de residencia fijado en 10 minutos.
- 35

Descripción detallada de una realización preferida

La presente invención se describirá ahora más completamente en lo que sigue con referencia a las figuras adjuntas, en las que se muestran algunas de las realizaciones no limitantes de la invención.

La invención como se describe en lo que sigue no debe interpretarse como limitada a las realizaciones específicas divulgadas, con ligeras modificaciones y otras realizaciones destinadas a incluirse dentro del alcance de la invención.

Aunque en este documento se emplean términos específicos, se usan únicamente en un sentido genérico y descriptivo y no con fines limitativos.

- 5 Como se usa en este documento, a lo largo de esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones siguientes, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen la forma plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

La terminología y fraseología usadas en este documento tienen fines descriptivos y no deben considerarse limitantes. El uso de los términos "que comprende", "que contiene", "que tiene", "incluido", y variaciones de los mismos usadas en este documento pretenden abarcar los elementos enumerados a continuación, y sus equivalentes, así como elementos adicionales.

- 10 Cuando se usan en esta memoria descriptiva, los términos "método de síntesis de flujo completamente continuo", "método de síntesis de flujo continuo de múltiples etapas", y "método de síntesis de flujo de múltiples etapas completamente continuo" se usan indistintamente y deben entenderse como un procedimiento de síntesis de flujo, es decir, un procedimiento usando tecnología de microrreactor, que comprende un número de etapas, en el que el producto final del procedimiento se obtiene sin el aislamiento de ningún producto intermedio.

La presente invención proporciona un método para la fabricación de isoniazida en un método de síntesis de flujo completamente continuo. La figura 1 muestra una representación esquemática del método de síntesis general, y las etapas de síntesis de una realización de la invención para preparar isoniazida.

- 20 El método de síntesis de flujo continuo hacia la isoniazida que se muestra en la figura 1 es una reacción de dos etapas realizada con el uso de tecnología de microrreactor. Generalmente, la primera reacción hacia la isoniazida es la hidrólisis de la 4-cianopiridina 12 para producir isonicotinamida 13 en un primer microrreactor, o una primera parte de una configuración de microrreactor apropiada. La isonicotinamida 13 se hace reaccionar con hidrato de hidracina en un segundo microrreactor, o una segunda parte de una configuración de microrreactor apropiada, que está en comunicación fluida constante con el primer microrreactor, o la primera parte del microrreactor.

- 25 En la figura 2 se muestra un ejemplo de una configuración de microrreactor para la implementación del método de la invención. Como puede verse en la figura 2, se puede construir una configuración de reacción de flujo continuo para implementar la invención usando dos bombas de jeringa, tres jeringas, y diversas placas de reactor. El sistema puede incluir válvulas de retención para flujo unilateral, y un regulador de contrapresión. La temperatura de las placas del reactor se puede controlar, por ejemplo, usando baños de aceite, o de cualquier otra manera conocida en la técnica. Los expertos en la técnica apreciarán que se pueden modificar diversos detalles de la configuración experimental, como se describe anteriormente, llegando así a realizaciones adicionales, pero que estas realizaciones permanecerán dentro del alcance de la invención.

- 35 La compatibilidad de reactivos y disolventes es particularmente importante en los sistemas de flujo para garantizar que los productos y los productos intermedios permanezcan en solución. Los disolventes, las proporciones y concentraciones de reactivos, las temperaturas de reacción, y otras condiciones de reacción incorrectas pueden provocar la precipitación de los reactivos. La precipitación no sólo afecta la eficiencia de las reacciones, sino que también provoca bloqueos del sistema, lo que a su vez provoca una acumulación de presión en el sistema. Los bloqueos de los sistemas darán como resultado un costoso tiempo de inactividad del sistema, y la ineficiencia general de la reacción.

- 40 La etapa de síntesis individual del método según la invención se describirá ahora con más detalle con referencia a los siguientes ejemplos experimentales y datos analíticos no limitantes.

#### Parámetros experimentales

Todos los productos químicos usados se adquirieron de Merck, Sigma Aldrich and Industrial Analytical. Se usaron tal como se recibieron sin purificación adicional.

- 45 El progreso de la reacción se controló mediante cromatografía en capa fina (TLC). La TLC se llevó a cabo en placas de gel de sílice E. Merck de 250 µm de espesor (60F-254) usando hexano y acetato de etilo (80:20 v/v) como fase móvil. La detección de la mancha se logró usando un gabinete detector UV Camag a 254 nm. La pureza de los compuestos se determinó mediante una única mancha en la hoja de TLC.

- 50 Los espectros <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de resonancia magnética nuclear (RMN) se registraron usando un espectrómetro Bruker (Bruker Ultrashield TM 400 plus) que funcionó a 400 MHz para protones y 100 MHz para carbono. Los espectros se calibraron usando el cambio químico de <sup>1</sup>H residual en DMSO-d<sub>6</sub> (2.62 ppm) que se usó como estándar de referencia interno. Los valores de desplazamiento químico para todos los espectros se dan en partes por millón (ppm).

4-Cianopiridina 12, isonicotinamida 13, isonicotinil-hidrazida 1 y ácido isonicotínico 15 se determinaron mediante cromatografía líquida analítica de alta resolución (HPLC). El análisis por HPLC se llevó a cabo usando un instrumento

- 5 LC Agilent 1220 Infinity equipado con un detector de matriz de diodos (DAD) equipado con una columna de fase inversa Agilent Eclipse Plus C18. Se usó metanol de calidad HPLC (fase móvil orgánica) de Merck. Para obtener una solución reguladora (fase móvil acuosa) con pH de 7.0, la solución se preparó agregando 29.1 mL de hidróxido de sodio 0.1 M a 50 mL de dihidrogenofosfato de potasio 0.1 M (grado analítico) en 1000 mL de agua desionizada. La solución reguladora se desgasificó mediante sonicación combinada con filtración al vacío. Durante la desgasificación se usó papel de filtro Whatman de 0.45  $\mu\text{m}$ . La fase móvil orgánica también se desgasificó antes de su uso. La separación cromatográfica se logró usando un sistema de disolvente isocrático. La configuración de los parámetros de HPLC se proporciona en la siguiente tabla.

Componente del instrumento		Condición
Fase estacionaria		Agilent Eclipse Plus C18 (5 $\mu\text{m}$ , 4.6 x 250 mm)
Fase móvil	A (disolvente acuoso) — 97.5 %	Solución reguladora acuosa solución reguladora de fosfato 0.1 M (pH 7)
	B (disolvente orgánico) - 2.5 %	Metanol
Caudal		1.0 mL/min
Volumen de inyección		5 $\mu\text{l}$
Temperatura de la columna		30 °C
Longitudes de onda de detección óptimas		254 nm y 263 nm
Lámpara de detección		UV
Tiempo de análisis		35 min

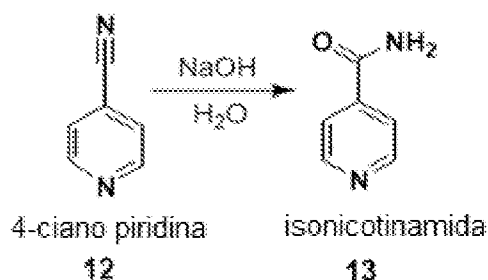
- 10 Los picos característicos de FTIR que identifican los grupos funcionales en una muestra se registraron en un espectrofotómetro Bruker Alpha con ajuste ATR. Los análisis de muestras se registraron en el intervalo 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  y los picos se informan en números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ). Las muestras sólidas y líquidas se analizaron sin ninguna modificación. La cuantificación se realizó usando el software administrador OPUS.

- 15 La GC se llevó a cabo en un instrumento Agilent 7820A usando una columna HP-5 (30 m x 320  $\mu\text{m}$  x 0.5  $\mu\text{m}$ ). Para la detección de las muestras se usó un detector de ionización de llama. Se empleó una entrada split-split menos. La configuración de los parámetros del GC se proporciona en la siguiente tabla.

- 20 Para confirmar la pureza de los compuestos sintetizados, el punto de fusión se determinó usando el aparato digital Stuart SMP10. Antes del análisis, las muestras de analito debían secarse durante la noche en un desecador de vacío. Se empaquetó una pequeña cantidad de muestra de analito en polvo hasta una profundidad de 4 mm en un tubo capilar de vidrio sellado en un extremo. El aparato Stuart se ajustó a una temperatura meseta de 60 °C.

COMPONENTES DEL INSTRUMENTO		CONDICIONES
Muestreador automático	Gas portador	Nitrógeno ( $\text{N}_2$ )
	Flujo del gas portador	1 mL/min
	Volumen de inyección	1 $\mu\text{L}$
Detector	Temperatura FID	300 °C
	Temperatura del inyector	250 °C
Horno	Temperatura inicial del horno	70 °C
	Tiempo de espera inicial	2 min
	Temperatura rampa 1	140 °C
	Tiempo de espera rampa 1	3 min
	Velocidad rampa 1	70 °C/min
	Temperatura rampa 2	325 °C
	Tiempo de espera rampa 2	7 min
	Velocidad de la rampa 2	50 °C/min
	Temperatura final de la columna	325 °C/min
Entrada	Modo	Split
	Flujo del Split	17 mL/min
	Proporción del Split	20:1
	Temperatura de entrada	250 °C
	Tiempo de análisis	16.7 min

Etapa de síntesis 1: Preparación de isonicotinamida 13



Esquema 1: Preparación del compuesto 13

El esquema 1 muestra la primera etapa de síntesis del método en el que 4-cianopiridina 12 se convierte en isonicotinamida 13 en presencia de hidróxido de sodio acuoso. Esta primera etapa del método se desarrolló completamente antes de considerar la introducción de hidrato de hidracina en la segunda etapa de la reacción.

- 5 Estas reacciones se llevaron a cabo usando la configuración del microrreactor que se muestra en la figura 3. Esta configuración de microrreactor se construyó usando una bomba de jeringa modular Chemyx fusion 200, jeringas de vidrio SGE de 10 mL y reactores de placa de vidrio de borosilicato LTF-V (volumen: 1.7 mL, tamaño del canal: 1 mm, geometría: 115 × 60 × 6 mm) y LTF-VS (volumen: 1.1 mL, tamaño del canal: 1 mm, geometría: 15 × 60 × 6mm). Las jeringas de vidrio SGE se conectaron a una placa de microrreactor mediante un tubo de PTFE de 0.5 mm de diámetro interno. Los reactivos bombeados desde las dos jeringas se mezclaron usando un conector en T de tres vías (Omnifit labware, tamaño de poro: 8.0 mm ID, 0.5 - 4 mm OD) colocado antes del microrreactor. Para permitir el flujo unilateral de soluciones reactivas, válvulas de retención (Salida CV: 3302, ¼-28M a ¼-28F y entrada CV: 3301, ¼-28M a ¼-28F, 15 psi) se conectaron en línea desde cada una de las dos corrientes de flujo de reactivos como se ilustra en la figura 3.
- 10
- 15 El microrreactor se sumergió en un baño de aceite con control de temperatura y la entrega de los reactivos a la placa se permitió mediante una bomba de jeringa modular Chemyx fusion 200 que sostenía las dos jeringas. Se instaló en línea un regulador de contrapresión (BPR) de 10 psi entre el flujo de salida del reactor y el vial de recogida. Los experimentos preliminares resumidos en la tabla 1 a continuación mostraron que los microrreactores dieron un rendimiento comparable.

- 20 Tabla 1: Resumen de las condiciones y resultados de experimentos preliminares con las placas del reactor LTF-V y LTF-VS.

Reactor	[12] (M)	[NaOH]	T (°C)	R <sub>t</sub> (min)	Conversión de 12 (%)	Selectividad (%)
LTF-V	0.5	0.05	90	15	85	93
LTF-VS	0.5	0.05	90	15	81	89

#### Disolvente de reacción

- 25 La compatibilidad de los reactivos y el disolvente es particularmente importante en los sistemas de flujo para garantizar que los productos y los productos intermedios permanezcan en solución. Los disolventes incorrectos, y otras condiciones de reacción pueden provocar la precipitación de reactivos y el aumento de presión. Los dos sistemas de disolventes investigados fueron agua y una mezcla de agua y metanol. Aunque se usó metanol en estos experimentos, el experto apreciará que alcoholes inferiores similares, tales como etanol, serían igualmente apropiados como disolvente de reacción. Se consideró breve, y simultáneamente el efecto de la temperatura de reacción.
- 30 En el primer experimento preliminar, se introdujo una solución de 4-ciano piridina (0.5 M) en agua e hidróxido de sodio (0.05 M) en agua en un microrreactor usando dos jeringas. En el segundo experimento preliminar, se introdujo una solución de 4-cianopiridina (0.5 M) en una mezcla 7:3 de metanol/agua, e hidróxido de sodio (0.05 M) en un microrreactor usando dos jeringas. Las reacciones se llevaron a cabo a temperaturas de 40 °C y 90 °C respectivamente, con un tiempo de residencia de 15 min. Las muestras se recogieron y analizaron mediante HPLC y GC fuera de línea.
- 35

- Se observó que el uso de agua sólo resultó en la precipitación de sólidos en los canales del reactor, disminuyendo así la conversión hacia el producto intermedio deseado, isonicotinamida 13. La formación de precipitados dentro de un sistema de flujo continuo es altamente indeseable ya que da como resultado el bloqueo de los conectores, lo que eventualmente conduce a la acumulación de presión dentro del sistema. Por lo tanto, es importante seleccionar disolventes adecuados para las reacciones de modo que los productos y los productos intermedios permanezcan en solución.
- 40

No se observó la presencia del disolvente miscible en agua metanol que ayudó a disolver la 4-cianopiridina, y los productos y subproductos de reacción resultantes, ni precipitación dentro de los canales y conectores de reacción. Los resultados de estos experimentos, resumidos en la tabla 2 a continuación, muestran que el uso de un alcohol, tal como metanol, y el aumento de temperatura promovieron la reacción de hidrólisis del nitrilo.

- 5           Tabla 2: Resumen de condiciones y resultados para experimentos con agua y una mezcla de MeOH:agua, en la que [12] es la concentración de 4-cianopiridina.

Análisis	[12] (M)	[NaOH]	Sistema del disolvente	T(°C)	R <sub>t</sub> (min)	Conversión (%)
1	0.5	0.05	Agua	40	15	35
2	0.5	0.05	Agua	90	15	62
3	0.5	0.05	Metanol/agua (7:3)	40	15	48
4	0.5	0.05	Metanol/agua (7:3)	90	15	83

El efecto de la equivalencia molar del reactivo en la conversión hacia isonicotinamida 13

- 10           La equivalencia molar de base alcalina a nitrilo dentro de la reacción es crucial para lograr el control de la reacción, particularmente con respecto a la selectividad de la reacción. Se evaluó el efecto de la concentración de bases para la preparación de isonicotinamida 13 usando el siguiente procedimiento.

- 15           Se agregó una solución estándar de 4-cianopiridina 12 (0.50 M) en solución de MeOH/agua (7:3) desde una primera jeringa (A), y se agregó hidróxido de sodio (0.04 M) en agua desionizada desde una segunda jeringa (B). Para mantener una temperatura de reacción constante (90 °C), los microrreactores se sumergieron en un baño de aceite con temperatura controlada. El producto de reacción se recogió en un vial después de un tiempo de residencia de 15 minutos para obtener una indicación de los tiempos de reacción antes de realizar investigaciones adicionales. Para investigar el efecto de las proporciones estequiométricas relativas de los reactivos (4-cianopiridina 12 e hidróxido de sodio) en la conversión al producto 13, El experimento se repitió usando diferentes soluciones de hidróxido de sodio con concentraciones variables que oscilaban entre 0 y 0.75 M. El producto de cada reacción de flujo se recogió en un vial y el análisis se realizó mediante HPLC fuera de línea. La tabla 3 a continuación muestra un resumen de los parámetros de reacción usados y los resultados obtenidos (véase la figura 4).

Tabla 3: Parámetros de reacción usados para estudiar el efecto de la equivalencia molar en la conversión de 12 hacia isonicotinamida 13, en la que [12] es la concentración de 4-cianopiridina.

Reacción	[12] (M)	Equivalencia molar respecto a 12	[NaOH] (M)	R <sub>t</sub> (min)	T (°C)	Conversión de 12 (%)	Conversión hacia 13 (%)
1	0.50	0	0	15	90	5.5	5.5
2	0.50	0.08	0.04	15	90	79.2	79.2
3	0.50	0.1	0.05	15	90	83.7	83.7
4	0.50	0.15	0.08	15	90	93.1	88.6
5	0.50	0.2	0.10	15	90	100	96.9
6	0.50	0.4	0.20	15	90	100	92.1
7	0.50	0.6	0.30	15	90	100	86.9
8	0.50	0.8	0.40	15	90	100	78.4
9	0.50	1	0.50	15	90	100	71.8
10	0.50	1.5	0.75	15	90	100	35.1

- 25           El análisis de las muestras de reacción proporciona información inicial sobre si la reacción está completa, así como posibles productos secundarios. Durante el análisis de muestras en estos experimentos de optimización, se observaron tres picos prominentes en los cromatogramas de HPLC. El primer pico corresponde al sustrato de nitrilo. 12, el otro al producto amida 13, y el otro al subproducto, ácido isonicotínico 15. Por tanto, la conversión del sustrato se midió directamente, y a partir de la proporción, se calculó la selectividad de la reacción. La conversión hacia el producto amida 13 se usó para determinar las condiciones óptimas de reacción.

La figura 6 muestra una comparación entre la conversión hacia la isonicotinamida deseada 13 y la conversión hacia el compuesto subproducto, ácido isonicotínico 15.

Como puede verse en la figura 4, se obtuvo una conversión del 5 % en ausencia de cualquier base. Dado que el grupo nitrilo no es particularmente reactivo, se requiere la adición de un catalizador alcalino para mejorar la reactividad de la 4-cianopiridina 12. Sin embargo, se desconocía la cantidad requerida para que esta reacción dé como resultado un rendimiento y selectividad deseables en sistemas de flujo continuo como tales. Se hizo evidente que había un aumento en la conversión del compuesto 12 a medida que aumentaba la relación molar del compuesto 12:hidróxido de sodio. Se obtuvo una conversión máxima del 100 % cuando se utilizó un mínimo de 0.134 M (0.2 equiv. molar) de hidróxido de sodio.

Sin embargo, el aumento de la concentración de hidróxido de sodio también tuvo efectos adversos sobre la selectividad de la amida 13 incluso cuando los resultados mostraron una conversión del 100 % del compuesto 12. Preferiblemente, la relación molar de 4-cianopiridina 12 a hidróxido de sodio está en el intervalo de 1:0.1 a 1:0.7, incluida cualquier proporción particular que se encuentre dentro de este intervalo, como 1:0.15, 1:0.2, 1:0.25, 1:0.3, 1:0.35, 1:0.4, 1:0.45, 1:0.5, 1:0.55, 1:0.6, 1:0.65, y 0.7. Preferiblemente, la relación molar de 4-cianopiridina 12 a hidróxido de sodio está en el intervalo de 1:0.15 a 1:0.6, o de 1:0.15 a 1:0.4.

El efecto del tiempo de residencia en la conversión hacia isonicotinamida 13

Una solución de 4-cianopiridina 12 (0.50 M) en MeOH/agua (7:3) se agregó desde una primera jeringa (A), y se bombeó una solución de hidróxido de sodio (0.10 M, 0.2 equiv. molar) en agua desionizada desde una segunda jeringa (B). El producto de la reacción se recogió en un vial a diferentes tiempos de residencia. Las reacciones se realizaron a una temperatura constante de 90 °C. El efecto del tiempo de residencia en la conversión a isonicotinamida 13 se investigó con ocho caudales diferentes, con tiempos de residencia que oscilaron entre 1.5 - 32 min.

Tabla 4: Parámetros de reacción para la investigación del efecto de los tiempos de residencia en la conversión de 4-cianopiridina 12

Reacción	[12] (M)	[NaOH] (M) 0.2 equiv.	R <sub>t</sub> (min)	T (°C)	Conversión de 12 (%)	Conversión hacia 13 (%)
1	0.50	0.10	32	90	100	94
2	0.50	0.10	15	90	100	95
3	0.50	0.10	10	90	98	95
4	0.50	0.10	7.6	90	87	83
5	0.50	0.10	5.5	90	78	75
6	0.50	0.10	3.5	90	68	65
7	0.50	0.10	2.3	90	60	57
8	0.50	0.10	1.5	90	52	48

Como se puede ver en los resultados presentados en la tabla 4 anterior, y en el gráfico de la figura 6, la conversión de 12 aumentó con el aumento del tiempo de residencia, y alcanzó una conversión deseable a partir de un tiempo de residencia de 7 min. Preferiblemente, el tiempo de residencia para la conversión de 12 a 13 es de 7 min a 32 min, incluyendo cualquier duración dentro de este intervalo. Por ejemplo, el tiempo de residencia puede ser 7 min, 8 min, 9 min, 10 min, 11 min, 12 min, 13 min, 14 min, 15 min, 16 min, 17 min, 18 min, 19 min, 20 min, 21 min, 22 min, 23 min, 24 min, 25 min, 26 min, 27 min, 28 min, 29 min, 30 min, 31 min, y 32 min. Preferiblemente, el tiempo de residencia para la conversión de 12 es de 7 min a 20 min, de 7 a 15 min, o de 10 a 15 min.

El efecto de la temperatura de reacción sobre la conversión hacia isonicotinamida 13

Se investigó el efecto de la temperatura de reacción para la preparación de 13 usando el siguiente procedimiento experimental. Se colocó una solución estándar de 4-cianopiridina 12 (0.50 M) en solución de MeOH/H<sub>2</sub>O (7:3) en una primera jeringa (A), y una solución de hidróxido de sodio (0.10 M) en agua desionizada se colocó en una segunda jeringa (B). El efecto de la temperatura tanto en la selectividad como en la conversión del producto se investigó a temperaturas entre 80 °C y 110 °C. La temperatura de las soluciones en el microreactor se controló mediante un baño de temperatura constante. El producto de cada reacción de flujo se recogió en un vial y se analizó inmediatamente mediante HPLC fuera de línea. Para garantizar que los resultados obtenidos se debieran a la reacción que ocurre dentro de los microcanales, se logró el enfriamiento inmediato de la muestra recolectada sumergiendo el vial sellado que contiene la muestra en un vaso de precipitados con agua a temperatura ambiente. Los diferentes parámetros usados en el experimento se resumen en la tabla 5 a continuación.

Tabla 5: El efecto de la temperatura en la conversión de 12 a 13.

Reacción	[12] (M)	[NaOH] (M) 0.2 equiv.	T (°C)	R <sub>t</sub> (min)	Conversión de 12 (%)	Conversión hacia 13 (%)
1	0.50	0.10	80	10	74	71
2	0.50	0.10	85	10	82	78
3	0.50	0.10	90	10	94	90
4	0.50	0.10	95	10	99	95
5	0.50	0.10	100	10	100	95
6	0.50	0.10	105	10	100	91
7	0.50	0.10	110	10	100	85

La conversión de 12 aumentó gradualmente con el aumento de la temperatura alcanzando una conversión del 100 % después de 95 °C. Como se puede observar en la figura 5, los resultados indican que la conversión hacia 13 estuvo influenciada por la temperatura de reacción. A medida que la temperatura aumentó gradualmente de 80 a 95 °C, la conversión hacia el producto amida también aumentó hasta un determinado nivel (95 %), después del cual comenzó a disminuir como subproducto 15 se producía cada vez más. Sin desear quedar ligado a ninguna teoría particular, se cree que a medida que la temperatura continuó aumentando, la reacción favoreció la formación de ácido, sin mejorar por tanto la conversión en amida. Preferiblemente, la temperatura de reacción para la conversión del compuesto 12 en el compuesto 13 es de 90 a 105 °C, más preferiblemente de 90 a 100 °C.

A partir de los resultados obtenidos en este estudio, se encontró una conversión óptima hacia isonicotinamida usando una temperatura de 95 °C. Esta temperatura permitió una conversión del 99 % de 12 con menos formación de subproductos (4 %), lo que resultó en una selectividad más alta del 96 % hacia la isonicotinamida 13. Todas las reacciones posteriores se realizaron usando estas condiciones óptimas: tiempo de residencia de 10 min y temperatura de 95 °C.

El efecto de la concentración de 4-cianopiridina 12 sobre la conversión hacia isonicotinamida 13

El efecto de la concentración del compuesto 12 se investigó en un intervalo de 0.08 M - 1 M. La concentración de 12 fue variada, manteniendo la equivalencia molar relativa entre 12 y NaOH constante. El efecto de la concentración se investigó usando el siguiente procedimiento experimental.

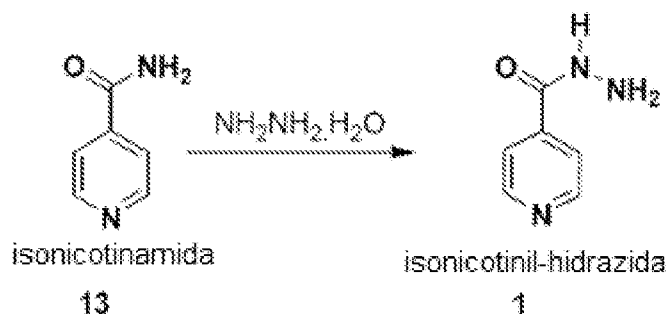
Usando dos jeringas de vidrio SGE y tubos de PTFE (ID 0.5 mm), se extrajo 4-cianopiridina (0.08 M en MeOH/H<sub>2</sub>O 7:3) e hidróxido de sodio (0.016 M) se alimentaron a un microrreactor LTF-V. Después de un tiempo de residencia de 10 min, se recogió y analizó una muestra. La reacción se repitió usando diferentes concentraciones de 4-cianopiridina 12 e hidróxido de sodio como se muestra en la tabla 6 a continuación. La equivalencia molar entre compuestos 12 y el hidróxido de sodio se mantuvo constante en 1: 0.2. La conversión total y la selectividad se determinaron usando HPLC fuera de línea.

Tabla 6: Parámetros de reacción usados para investigar el efecto de la concentración del compuesto 12 sobre la conversión hacia 13.

Reacción	[12] (M)	[NaOH] (M) 0.2 equiv.	T (°C)	R <sub>t</sub> (min)	Conversión de 12 (%)	Conversión hacia 13 (%)
1	0.080	0.016	95	10	41	41
2	0.100	0.020	95	10	52	51
3	0.125	0.025	95	10	59	59
4	0.170	0.034	95	10	75	75
5	0.250	0.050	95	10	94	91
6	0.500	0.100	95	10	99	95
7	0.670	0.134	95	10	100	96
8	1.000	0.200	95	10	95	90

De los resultados presentados en la tabla 6 anterior, se puede ver que la conversión de 4-cianopiridina 12 está influenciada por la concentración del reactivo 12. Generalmente, un aumento en la concentración de 4-cianopiridina dio como resultado un aumento en la cantidad de producto formado. Sin embargo, sorprendentemente, no se siguió la misma tendencia para concentraciones más altas. Aumentar la concentración de 12 a 1 M resultó en una disminución notable en la conversión (5 %).

Etapa de síntesis 2: Preparación de isonicotinil-hidrazida (isoniazida) 1



Esquema 2: Preparación del compuesto 1

El esquema 2 muestra la etapa de reacción para la conversión del producto intermedio, isonicotinamida 13 a isonicotinil-hidrazida (isoniazida) 1. La preparación del producto 1 se investigó mediante una ruta de síntesis de dos etapas, como se muestra en la figura 2, en la que las investigaciones sobre la segunda etapa de síntesis, es decir, la reacción del compuesto intermedio 13 con hidracina que se muestra arriba, se realizó de forma continua con el compuesto 13 preparado in situ.

Esta configuración de reacción de flujo continuo se construyó usando dos bombas de jeringa modulares Chemyx fusion 200, tres jeringas de vidrio SGE de 10 mL (las dos primeras jeringas controladas por una bomba, una jeringa controlada por la otra bomba) y diferentes reactores de vidrio Little Things Factory (LTF). Placas equipadas con tubos de PTFE de 0.5 mm de diámetro interior. Estas placas de reactor incluyen: una placa de residencia LTF-V (volumen del reactor: 1.7 mL, tamaño del canal: 1 mm, geometría: 115 × 60 × 6 mm), un micromezclador LTF-MS (volumen del reactor: 0.2 ml, tamaño del canal: 1 mm, geometría: 115 × 60 × 6 mm) y dos placas de residencia LTF-VS (volumen del reactor: 1.1 mL, tamaño del canal: 1 mm, geometría: 115 × 60 × 6 mm). El sistema también constaba de válvulas de retención (CV Salida: 3302, ¼-28M a ¼-28F y entrada CV: 3301, ¼-28M a ¼-28F) para flujo unilateral, y un regulador de contrapresión de 35 psi. Estas placas de reactor se dispusieron en dos baños de aceite de temperatura donde el primer baño contenía dos placas: una única placa de residencia LTF-V (para síntesis de amida 13) y una única placa de mezcla LTF-MS que contiene dos canales de entrada (uno de flujo continuo de la placa de residencia LTF-V y el segundo como entrada de hidrato de hidracina en la corriente de flujo). El segundo baño contenía dos placas de residencia LTF-VS (para síntesis de isonicotinil-hidrazida 1). Se usó un micromezclador LTF-MS para introducir hidrato de hidracina en la reacción de flujo. Se requiere una mezcla intensiva en la segunda etapa de la reacción, por lo que se usaron placas LTF-VS. Se usaron dos placas de residencia durante la etapa dos simplemente para aumentar el tiempo de residencia.

El efecto del tiempo de residencia en la conversión hacia isonicotinil-hidrazida 1

Usando la configuración experimental ilustrada en la figura 2, una solución estándar de 4-cianopiridina 12 (0.67 M en MeOH/H<sub>2</sub>O 7:3) desde una primera jeringa (A), se agregó una solución de hidróxido de sodio (0.134 M, 0.2 equiv.) desde una segunda jeringa (B) y una solución de hidrato de hidracina (1.34 M, 2.0 equiv) se agregó desde una tercera jeringa (C). Se usó un tiempo de residencia de 10 min y una temperatura del baño de 95 °C para la síntesis del compuesto intermedio 13, que se formó in situ.

Para investigar el efecto del tiempo de residencia (en la segunda parte de la configuración del microrreactor) en la conversión al producto 1, se investigó en un intervalo de caudales después de la adición de hidrato de hidracina. Se bombeó hidrato de hidracina al sistema con caudales que oscilaban entre 0.05 y 0.3 mL/min. Esto dio como resultado tiempos de residencia de entre 2 y 25.2 minutos para la reacción de hidracina, en esta configuración de reactor particular. La temperatura para la reacción de hidracina se mantuvo constante a 110 °C. Los productos se recogieron en viales y se analizaron mediante HPLC. La tabla 7 a continuación muestra los parámetros de reacción usados en este experimento de optimización.

Tabla 7: Los parámetros de reacción usados para investigar el efecto del tiempo de residencia de la reacción de hidracina en la conversión hacia 1. (Las reacciones 1-3 son ejemplos de referencia)

Reacción	[12] (M)	[NaOH] (M)	[Hidrato de hidracina] (M)	T (°C)		R <sub>t</sub> (min)	Conversión hacia 1 (%)
				Etapa 1	Etapa 2		
1	0.67	0.134	1.34	95	110	12.4	64
2	0.67	0.134	1.34	95	110	14	75
3	0.67	0.134	1.34	95	110	16.3	86
4	0.67	0.134	1.34	95	110	21	95.5
5	0.67	0.134	1.34	95	110	29.1	96
6	0.67	0.134	1.34	95	110	35.2	96

En general, hubo un aumento gradual en la conversión hacia isonicotinil-hidrazida 1 a medida que aumentaba el tiempo de residencia. Los tiempos de residencia (R<sub>t</sub>) que se muestran en la tabla 7 anterior son los tiempos de residencia combinados de la reacción hacia el producto intermedio 13, y la posterior reacción de hidracina hacia el producto 1. Por lo tanto, como puede verse en la tabla 7 y el gráfico correspondiente de la figura 7, un tiempo de residencia efectivo de 11 min (es decir, tiempo total de 21 minutos menos 10 minutos usados para la primera reacción hacia 13) proporcionó una conversión del 95.5 %, que mejoró ligeramente con tiempos de residencia más altos de 19.1 y 25.2 minutos. Se observó que había una selectividad completa del producto intermedio amida 13 hacia el producto 1. Por lo tanto, el tiempo de residencia de la reacción de hidracina está en un intervalo desde 10 a 25 min, incluyendo todas las duraciones de tiempo dentro de este intervalo, tales como 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, y 25 minutos. Preferiblemente, el tiempo de residencia de la reacción de hidracina está en el intervalo de 10 a 20 min.

El efecto de la concentración de hidrato de hidracina sobre la conversión hacia isonicotinil-hidrazida 1

Se investigaron diferentes concentraciones de hidrato de hidracina en un intervalo entre 0.67 M (1 equiv.) y 1.675 M (2.5 equiv.) en proporción con el compuesto de partida 12. Se usó un tiempo de residencia de 11 min para la reacción de hidracina (tiempo de residencia total 21 min), mientras que la temperatura para la primera y segunda reacción se mantuvo a 95 °C y 110 °C respectivamente. Soluciones de 4-cianopiridina 12 (0.67 M), hidróxido de sodio (0.134 M) y diferentes concentraciones de hidrato de hidracina. Las condiciones de reacción se resumen en la tabla 8 a continuación. Las muestras se recogieron en viales y se analizaron para determinar su conversión hacia 1 y selectividad mediante HPLC.

Tabla 8: Los parámetros de reacción usados para investigar el efecto de la concentración de hidrato de hidracina en la conversión hacia el producto 1, donde R<sub>t</sub> es el tiempo de residencia total. (Las reacciones 1-3 son ejemplos de referencia)

Reacción	[Hidrato de hidracina] (M)	Equiv. Molar respecto a 12	T (°C)		R <sub>t</sub> (min)	Conversión hacia 1 (%)
			Etapa 1	Etapa 2		
1	0.67	1.00	95	110	21	64.5
2	0.84	1.25	95	110	21	77
3	1.00	1.50	95	110	21	86
4	1.17	1.75	95	110	21	91
5	1.34	2.00	95	110	21	96
6	1.50	2.25	95	110	21	96
7	1.68	2.50	95	110	21	96

Los resultados mostrados en la tabla 8 anterior indican que la concentración de hidrato de hidracina tuvo un efecto sobre la conversión del producto intermedio 13 hacia isonicotinil-hidrazida 1. La cantidad de hidrato de hidracina utilizada osciló entre 1 y 2.5 veces con respecto al material de partida, 4-cianopiridina 12. Los resultados muestran que es bastante ventajoso emplear hidrato de hidracina en exceso (2.0 equiv.) con respecto al material de partida. Preferiblemente, la relación molar de 4-cianopiridina:hidrato de hidracina está en el intervalo de 1:1.50 a 1:2.50, más preferiblemente en el intervalo de 1:1.75 a 1:2.25, incluyendo todos los subintervalos contenidos dentro de estos intervalos.

El efecto de la temperatura en la conversión hacia isonicotinil-hidrazida 1

- 5 Se agregó 4-cianopiridina (0.67 M) a la jeringa A, se agregó hidróxido de sodio (0.134 M) a la jeringa B, e hidrato de hidracina (1.34 M) de la jeringa C al sistema de flujo continuo. La temperatura para el primer baño de aceite (síntesis de producto intermedio 13) se mantuvo a 95 °C, mientras que la temperatura para el segundo baño de aceite se varió entre 90 °C y 120 °C. Para garantizar que los resultados obtenidos se debieran a la reacción que ocurre dentro de los microcanales, se enfriaron inmediatamente las muestras recolectadas, seguido de un análisis por HPLC. Los parámetros de reacción se resumen en la tabla 9 a continuación.

Tabla 9: Los parámetros de reacción usados para investigar el efecto de la temperatura de reacción de la hidracina en la conversión hacia 1. (Las reacciones 1-2 son ejemplos de referencia)

Reacción	[12] (M)	[NaOH] (M)	[Hidrato de hidracina] (M)	T (°C)		R <sub>t</sub> (min)	Conversión hacia 1 (%)
				Etapa 1	Etapa 2		
1	0.67	0.134	1.34	95	90	21	80
2	0.67	0.134	1.34	95	95	21	88
3	0.67	0.134	1.34	95	100	21	93
4	0.67	0.134	1.34	95	105	21	96.5
5	0.67	0.134	1.34	95	110	21	97
6	0.67	0.134	1.34	95	115	21	97
7	0.67	0.134	1.34	95	120	21	97

- 10 El efecto de la temperatura en la reacción de hidracina sobre la conversión hacia isonicotinil-hidrazida. 1, se muestra en los resultados tabulados arriba. La temperatura de reacción pareció tener un efecto significativo en la conversión hacia 1. A medida que aumentaba la temperatura, la cantidad de producto 1 formado también aumentó de forma no lineal.

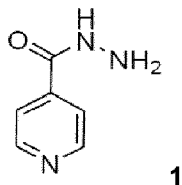
- 15 Esta descripción anterior de algunas de las realizaciones ilustrativas de la invención es para indicar cómo se puede realizar y llevar a cabo la invención. Los expertos en la técnica sabrán que se pueden modificar varios detalles para llegar a realizaciones adicionales, pero que muchas de estas realizaciones permanecerán dentro del alcance de la invención.

Las unidades que se usan en esta memoria descriptiva y dibujos, y que no están de acuerdo con el sistema métrico, se pueden convertir al sistema métrico con la ayuda del siguiente factor de conversión:

- 20 1 psi = 6,895 x 10<sup>3</sup> Pa.

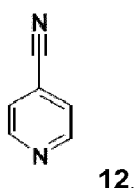
## REIVINDICACIONES

1. Un método de síntesis de flujo continuo en microrreactor de múltiples etapas, apropiado para producir un rendimiento superior al 90 %, para la fabricación de isonicotinil-hidrazida de fórmula 1

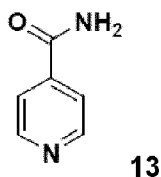


5 que comprende las etapas de:

a) en un primer microrreactor, o una primera parte de una configuración de microrreactor apropiada, hacer reaccionar 4-ciano piridina de fórmula 12



10 en una mezcla de agua y alcohol, con NaOH en una relación molar de 4-ciano piridina:NaOH de 1:0.2 a 1:0.4 a una temperatura de 95 °C a 105 °C para producir el producto intermedio, isonicotinamida de fórmula 13



b) en un segundo microrreactor, o una segunda parte de una configuración de microrreactor apropiado,

15 que está en comunicación fluida con el primer microrreactor, o la primera parte del microrreactor, haciendo reaccionar el producto intermedio, isonicotinamida de fórmula 13 con hidrato de hidracina en una relación molar de isonicotinamida:hidrato de hidracina de 1:1.75 a 1:2.50 a una temperatura de 100 °C a 120 °C,

en el que la reacción en la etapa a) tiene un tiempo de residencia de 10 a 32 minutos, y la reacción en la etapa b) tiene un tiempo de residencia de 10 a 25 minutos.

2. El método según la reivindicación 1, en el que en la etapa a) la 4-ciano piridina se disuelve en una mezcla de agua y metanol.

20 3. El método según la reivindicación 1, en el que la mezcla de agua y alcohol tiene una proporción de alcohol-agua de 7:3.

4. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa a) la relación molar de 4-ciano piridina a NaOH es 1:0.2.

25 5. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa a) la temperatura es de 95 °C a 100 °C.

6. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa a) la temperatura es 95 °C.

7. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa a) el tiempo de residencia es de 10 a 15 minutos.

30 8. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa a) el tiempo de residencia es de 10 minutos.

9. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa b) la relación molar de 4-ciano piridina:hidrato de hidracina es de 1:1.75 a 1:2.25.

10. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa b) la relación molar de 4-ciano piridina:hidrato de hidracina es 1:2.0.
11. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa b) la temperatura es de 100 °C a 115 °C, o de 105 °C a 115 °C.
- 5 12. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa b) la temperatura es 105 °C.
13. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa b) el tiempo de residencia es de 10 a 20 minutos.
- 10 14. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa b) el tiempo de residencia es de 10 minutos.
15. El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el rendimiento total del método de síntesis de flujo continuo en múltiples etapas para isonicotinil-hidrazida a partir de 4-ciano piridina es superior al 92 %, superior al 94 %, o superior al 95 %.

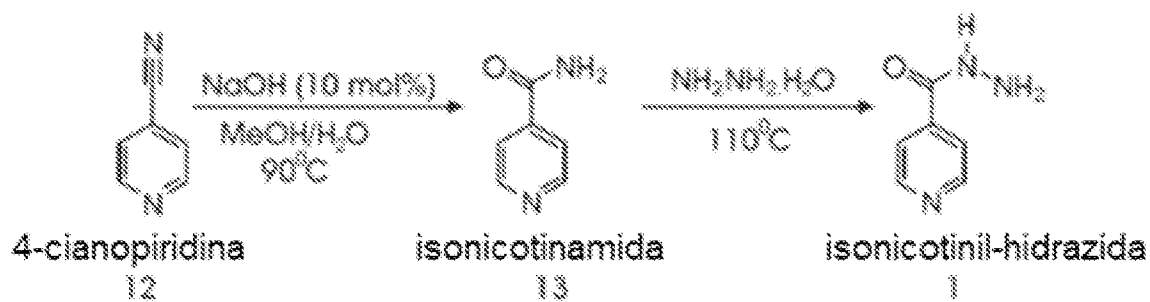


Fig. 1

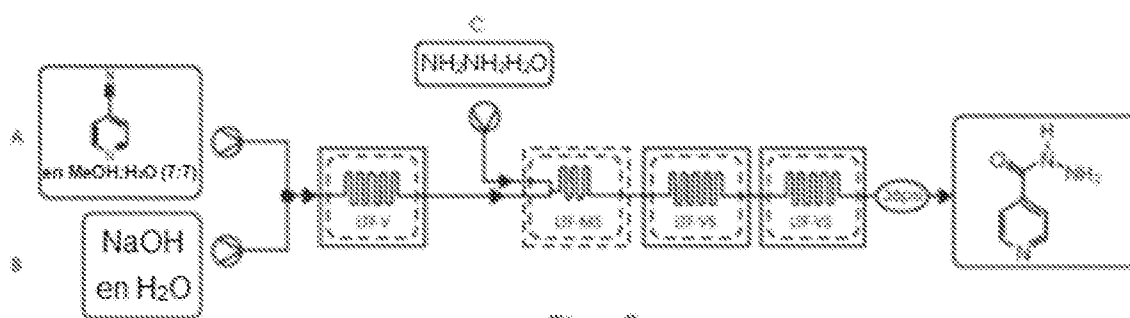


Fig. 2

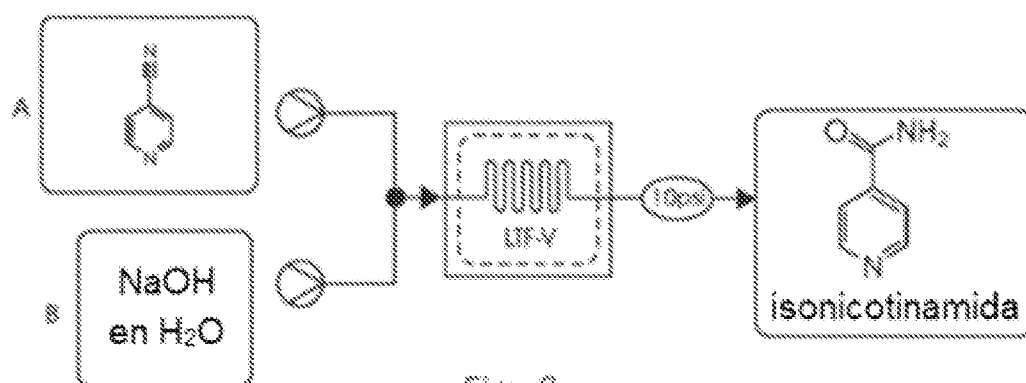


Fig. 3

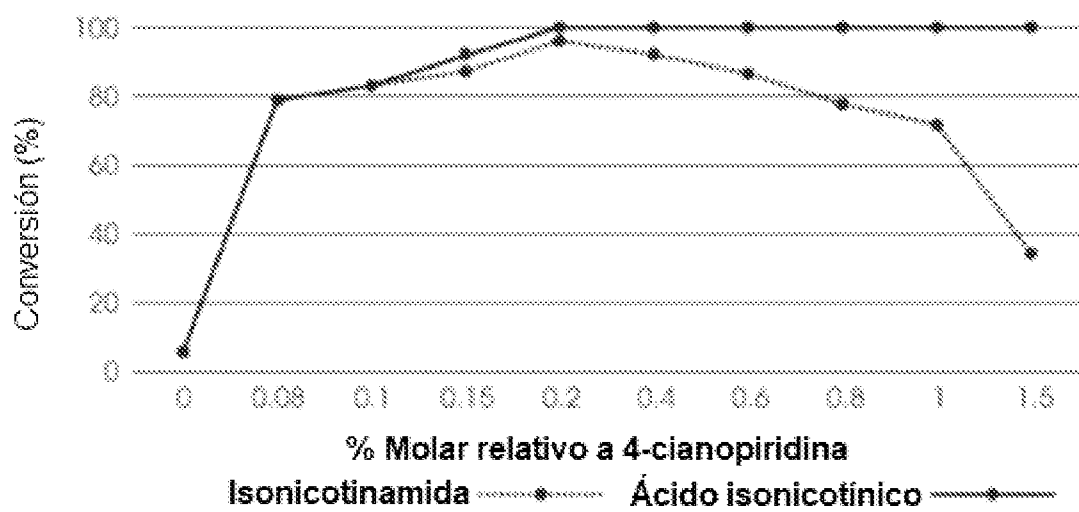


Fig. 4

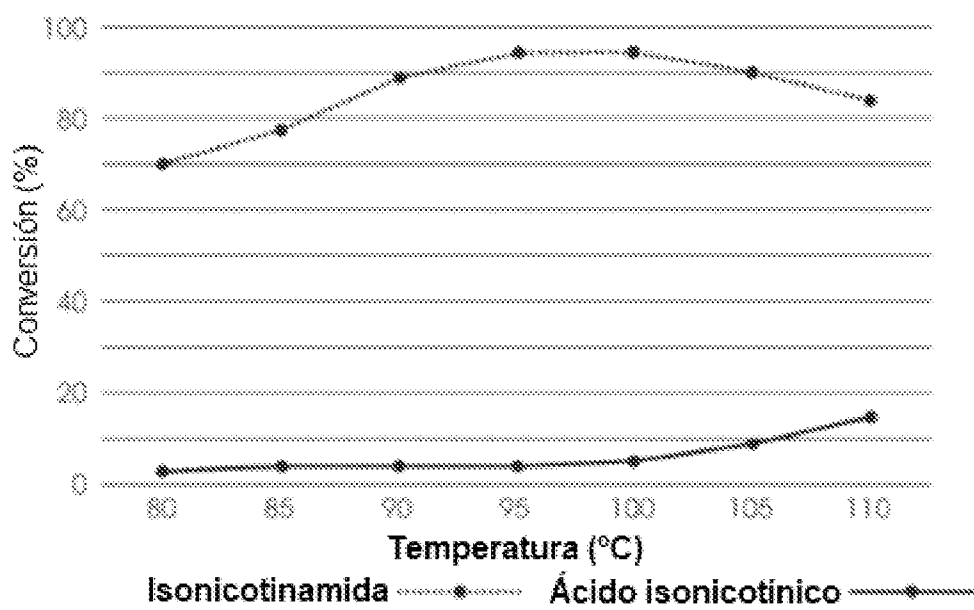


Fig. 5

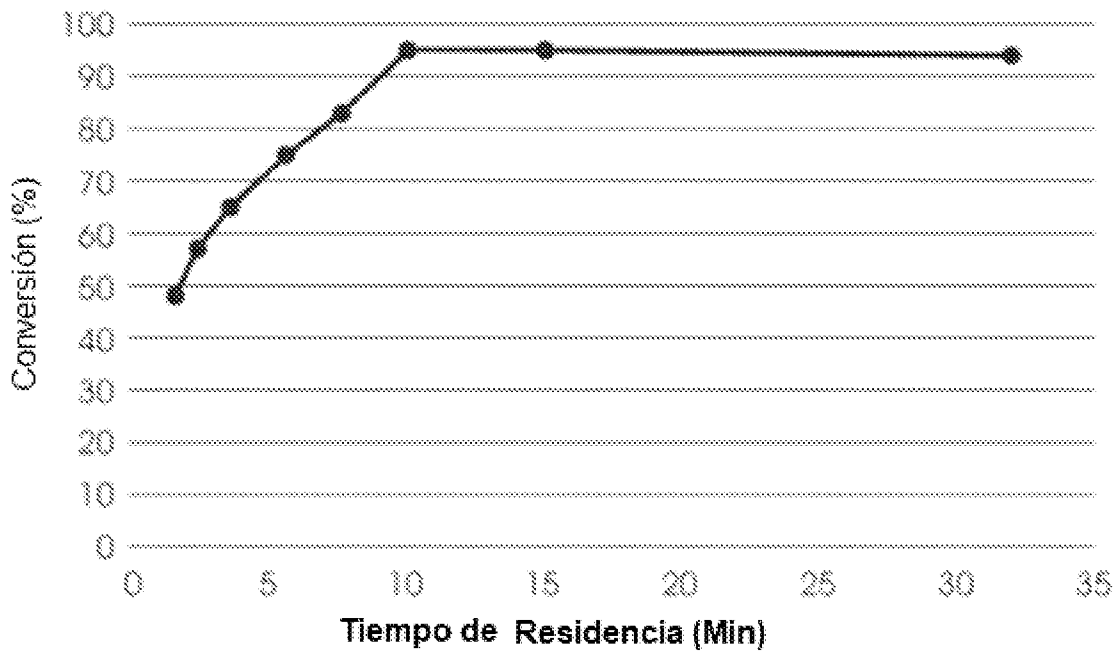


Fig. 6

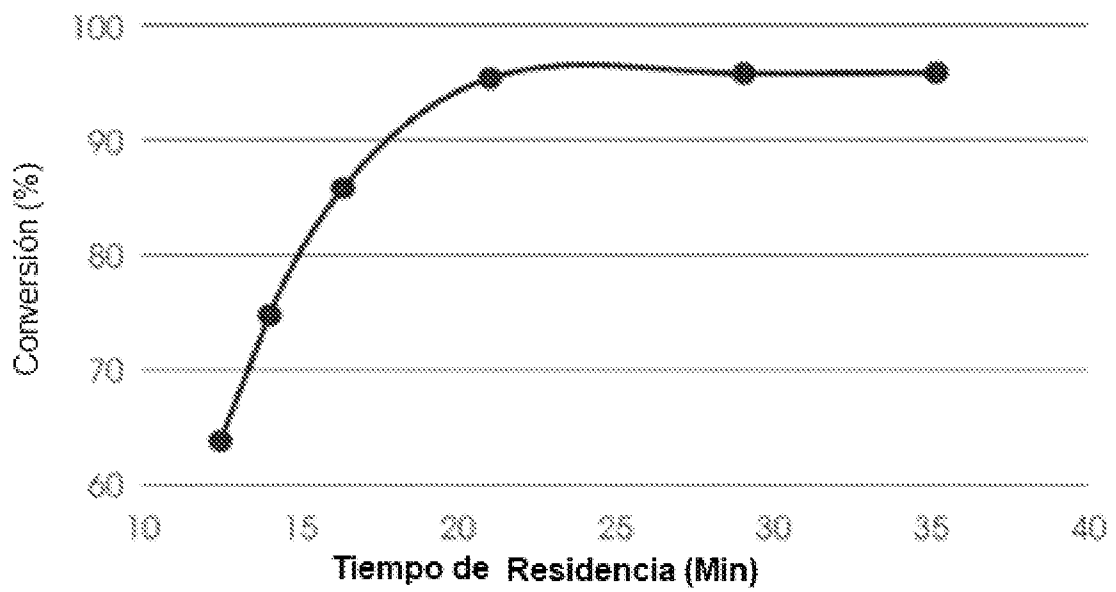


Fig. 7