

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 810 950**

21 Número de solicitud: 202030552

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

G01N 31/22 (2006.01)

G01N 33/18 (2006.01)

G01N 21/78 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

09.06.2020

43 Fecha de publicación de la solicitud:

09.03.2021

71 Solicitantes:

**UNIVERSITAT D'ALACANT / UNIVERSIDAD DE
ALICANTE (100.0%)
CARRETERA SAN VICENTE DEL RASPEIG, S/N
03690 SAN VICENTE DEL RASPEIG (Alicante) ES**

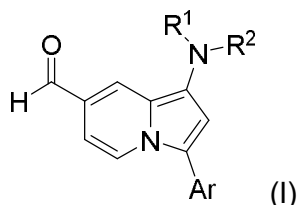
72 Inventor/es:

**ANTÓN CÁNOVAS, Teresa y
ALONSO VALDÉS, Francisco**

54 Título: **FORMILACIÓN DE INDOLIZINAS Y DETECCIÓN DE NITRITOS**

57 Resumen:

La presente invención se refiere a una formilindolizina
1,3,7-trisustituida de fórmula general (I),



donde:

R¹ y R² son iguales o diferentes, seleccionados de entre átomos de hidrógeno, oxígeno, alcanos (C₂-C₂₀) lineales o ramificados, alquenos (C₂-C₂₀) lineales o ramificados, alquinos (C₂-C₂₀) lineales o ramificados, estructura aromática, poliaromática, heteroaromática o poliheteroaromática, donde dicha estructura tiene anillos de 5-60 átomos y donde dichos anillos son seleccionados de anillos individuales, fusionados y enlazados;

La presente invención se refiere al procedimiento de obtención de las mismas mediante la formilación directa de indolizinas usando la sal de Eschenmoser como agente de formilación y al uso de las formilindolizinas 1,3,7-trisustituidas para la detección de iones nitrito en disolución.

DESCRIPCIÓN

FORMILACIÓN DE INDOLIZINAS Y DETECCIÓN DE NITRITOS

5 CAMPO DE LA INVENCION

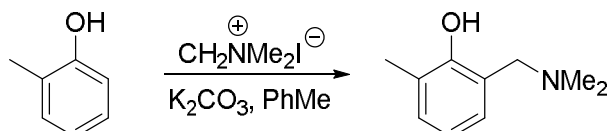
La presente invención se encuadra en el campo general de la química orgánica y química analítica y, en particular, se refiere a formilindolizinas 1,3,7-trisustituidas, al procedimiento de obtención de las mismas mediante la formilación directa de indolizinas usando la sal de Eschenmoser como agente de formilación, y al uso de las
 10 formilindolizinas 1,3,7-trisustituidas para la detección de iones nitrito en disolución.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

La transformación de compuestos aromáticos en los correspondientes carbaldehídos se lleva a cabo con métodos clásicos de formilación, tales como Vilsmeier-Haack, Reimer-Tiemann, Duff, Gatterman-Koch, o por desprotonación seguida de sustitución electrofílica con *N,N*-dimetilformamida. Estos métodos presentan el inconveniente de requerir sustancias altamente reactivas y/o de elevada toxicidad, como cloruro de fosforilo, cloroformo, ácido trifluoroacético, hexametilentetramina, monóxido de carbono, cloruro de hidrógeno, butillitio, tetrahidrofurano, tetrametiletildiamina o *N,N*-
 15 dimetilformamida. Ciertos casos precisan más de dos reactivos, aparte del sustrato a formular y del disolvente, siendo la temperatura un parámetro importante a controlar tanto por calentamiento como por enfriamiento. Algunos de estos métodos se han utilizado para la formilación de indolizinas, pero emplean reactivos como cloruro de fosforilo [(a) Yamashita, Y.; Suzuki, D.; Masumura, M. *Synthesis of Vinyl-substituted Indolizine*
 20 *Derivatives by a Novel Reaction of Indolizines with Ethoxyethylenes Having Electron Withdrawing Substituents. Heterocycles* **1981**, 16, 1499-1502; (b) Zhang, M.; He, X.; Li, S.; Shang, Y. Regiospecific Synthesis of 1-(3,4-Dihydro-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-3-yl)indolizine Derivatives Through a Three-step Sequence from 2-Arylindolizine. *Heterocycles* **2018**, 96, 2079-2086], o butillitio (Kuznetsov, A. G.; Bush, A. A.; Rybakov, V. B.; Babaev, E. V. An Improved Synthesis of Some 5-Substituted Indolizines Using Regiospecific Lithiation. *Molecules* **2008**, 10, 1074-1083) que son incompatibles con la
 25 presencia de muchos grupos funcionales.

En relación a procesos de formilación, conviene mencionar que la sal de Eschenmoser,

o yoduro de *N,N*-dimetilmetilenamonio (Kleinman, E. F. En *e-EROS Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* [Online], 15 April 2001. doi: 10.1002/047084289X.rd346), pertenece a una familia de sales de iminio que se utilizan como una variante de la reacción de Mannich para dar productos de aminometilación, según el esquema 1, pero no productos de formilación.



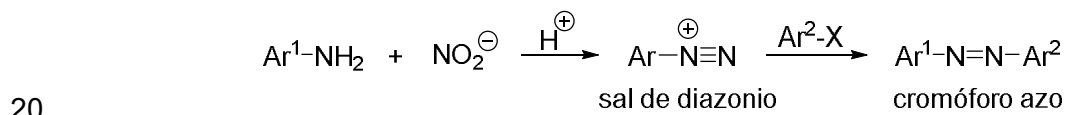
Esquema 1: Ejemplo de reacción de dimetilaminometilación con la sal de Eschenmoser.

Existe pues la necesidad de proporcionar nuevos métodos de formilación de compuestos aromáticos que no requieran sustancias altamente reactivas y/o de elevada toxicidad y que no sean incompatibles con los grupos funcionales de los compuestos ni necesiten grandes requerimientos en el control de los parámetros.

Por otra parte, es de suma importancia poder disponer de métodos eficientes de detección de iones nitrito por el riesgo que supone su acumulación tanto en sistemas fisiológicos como medioambientales. La ingesta de este anión se sabe que puede tener un efecto perjudicial en la salud de mamíferos, macro-invertebrados y en la mayoría de los organismos acuáticos. La Organización Mundial de la Salud recomienda un límite seguro de contenido de nitritos en agua potable de 3 mg L⁻¹ (3 ppm) (Addendum to Guidelines for Drinking-Water Quality, Health Criteria and Other Supporting Information, 2nd Edn.; World Health Organisation: Geneva, 1998; Vol. 2, p. 281). Ese límite ha sido revisado a la baja por la EPA (1 ppm, 1.45 × 10⁻⁵ M) [USEPA (United States Environmental Protection Agency). National Primary Drinking Water Regulations. <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations> (accessed March 2020)] y por la Unión Europea (0.1 ppm, 1.45 × 10⁻⁶ M). Los nitritos, por una parte, son ampliamente utilizados como conservantes, protegiendo los alimentos frente a microorganismos, pero, por otra, bajo las condiciones ácidas del estómago, reaccionan con aminas secundarias y terciarias para dar lugar a *N*-nitrosoaminas, compuestos altamente carcinogénicos que pueden producir cáncer gástrico.

Dentro de la importancia que representa la detección de nitritos en aguas y en alimentos [(a) Davis, J. Current Strategies in Nitrite Detection and their Application to Field

Analysis. *J. Environ. Monit.* **2002**, 4, 465-471; (b) Singha, P.; Singh, M. K.; Beg, Y. R.; Nishad, G. R. A Review on Spectroscopic Methods for Determination of Nitrite and Nitrate in Environmental Samples. *Talanta* **2019**, 191, 364-381] los métodos colorimétricos son los más simples y directos (Viboonratanasri, D.; Pabchanda, S.; Prompinit, P. Rapid and Simple Preparation of Rhodamine 6G Loaded HY Zeolite for Highly Selective Nitrite Detection. *Appl. Surf. Sci.* **2018**, 440, 1261-1268), normalmente basados en reacciones de diazotización (ensayo de Griess) (Griess, J. P. Bemerkungen zu der Abhandlung der HH. Weselsky und Benedikt "Ueber einige Azoverbindungen". *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1879**, 12, 426-428). Esta se induce en medio ácido de un indicador de amina con la muestra de nitrito, seguida del acoplamiento con una especie secundaria que da lugar a un cromóforo de tipo azocompuesto según el esquema 2. Sin embargo, este ensayo presenta algunos inconvenientes como, por ejemplo: (a) la necesidad de controlar la reacción para que no descomponga la sal de diazonio antes del acoplamiento, (b) rango de concentraciones de trabajo estrecho, (c) largos tiempos de equilibrio y (d) la toxicidad del proceso. Una alternativa es la que emplea reacciones de nitrosación/nitración; son más sencillas, al eliminar el acoplamiento con el segundo componente, aunque los cambios de color no son tan evidentes, especialmente cuando se pretende detectar cantidades traza, y los productos resultantes (nitrosocompuestos, nitrosaminas, nitrocompuestos, etc.) pueden ser altamente tóxicos y peligrosos.



Esquema 2: Ensayo de Griess para la determinación de nitrito.

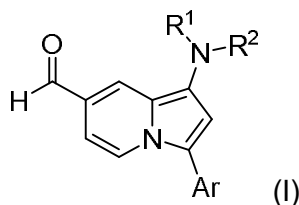
Por tanto, existe la necesidad de desarrollar nuevos métodos para la detección de iones nitrito que sean rápidos, simples y eficientes en diferentes rangos de concentración, y que puedan llevarse a cabo tanto en disolución como en otro tipo de soportes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención soluciona los problemas planteados en el estado de la técnica, ya que, por un lado, proporciona un método para la formilación de compuestos aromáticos con la sal de Eschenmoser como agente de formilación, para dar lugar a los correspondientes indolizina-7-carbaldehídos (o 7-formilindolizinas) de una manera regioselectiva. Por otro lado, los carbaldehídos obtenidos, a muy baja concentración, han mostrado ser agentes selectivos para la detección rápida y colorimétrica de iones

nitrito a diferentes concentraciones, sin ningún control exhaustivo del proceso, en un amplio rango de trabajo y con una generación insignificante de residuos.

Así pues, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a una formilindolizina 1,3,7-trisustituída de fórmula general (I) (de aquí en adelante, formilindolizina de la presente invención),



donde:

R¹ y R² son iguales o diferentes, seleccionados de entre átomos de hidrógeno, oxígeno, alcanos (C₂-C₂₀) lineales o ramificados, alquenos (C₂-C₂₀) lineales o ramificados, alquinos (C₂-C₂₀) lineales o ramificados, estructura aromática, poliaromática, heteroaromática o poliheteroaromática, donde dicha estructura tiene anillos de 5-60 átomos y donde dichos anillos son seleccionados de anillos individuales, fusionados y enlazados;

Ar es seleccionado de entre una estructura aromática, poliaromática, heteroaromática, poliheteroaromática o una combinación de las mismas, donde dicha estructura tiene anillos de 5-60 átomos y donde dichos anillos son seleccionados de anillos individuales, fusionados y enlazados.

En la presente invención los términos 7-formilindolizina e indolizin-7-carbaldehídos se consideran iguales y equivalentes, y se utilizarán indistintamente.

En una realización particular, la presente invención se refiere a la formilindolizina de la presente invención donde R¹ y R² son iguales y son butilo.

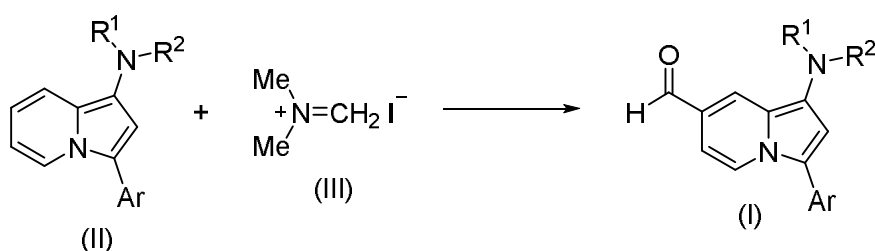
En otra realización particular, la presente invención se refiere a la formilindolizina de la presente invención, donde Ar es fenilo.

En otra realización particular, la presente invención se refiere a la formilindolizina de la presente invención, donde Ar es *p*-metoxifenilo.

En otra realización más en particular, la presente invención se refiere a la formilindolizina de la presente invención, donde R¹ y R² son iguales y son butilo, y donde Ar es fenilo.

En otra realización más en particular, la presente invención se refiere a la formilindolizina de la presente invención, donde R^1 y R^2 son iguales y son butilo, y donde Ar es *p*-metoxifenilo.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de la formilindolizina de la presente invención (de aquí en adelante procedimiento de la presente invención), que comprende la reacción de formilación de una indolizina 1,3-disustituída, de fórmula general (II), con la sal de Eschenmoser, de fórmula (III), en presencia de una base y de un primer disolvente orgánico.



donde

R^1 y R^2 son iguales o diferentes, seleccionados de entre átomos de hidrógeno, oxígeno, alcanos (C_2 - C_{20}) lineales o ramificados, alquenos (C_2 - C_{20}) lineales o ramificados, alquinos (C_2 - C_{20}) lineales o ramificados, estructura aromática, poliaromática, heteroaromática o poliheteroaromática, donde dicha estructura tiene anillos de 5-60 átomos y donde dichos anillos son seleccionados de anillos individuales, fusionados y enlazados;

Ar es seleccionado de entre una estructura aromática, poliaromática, heteroaromática, poliheteroaromática o una combinación de las mismas, donde dicha estructura tiene anillos de 5-60 átomos y donde dichos anillos son seleccionados de anillos individuales, fusionados y enlazados.

En la presente invención, por sal de Eschenmoser se refiere, indistintamente, al yoduro de *N,N*-dimetilmetilenamonio y al compuesto de fórmula general (III).

En una realización particular, la presente invención se refiere al procedimiento de la presente invención, donde R^1 y R^2 de la indolizina 1,3-disustituída de fórmula general (II), y de la formilindolizina de la presente invención son iguales y son butilo.

En una realización particular, la presente invención se refiere al procedimiento de la presente invención, donde Ar de la indolizina 1,3-disustituida de fórmula general (II), y de la formilindolizina de la presente invención es fenilo.

5 En una realización particular, la presente invención se refiere al procedimiento de la presente invención, donde Ar de la indolizina 1,3-disustituida de fórmula general (II), y de la formilindolizina de la presente invención es *p*-metoxifenilo.

En una realización más en particular, la presente invención se refiere al procedimiento de la presente invención, donde R¹ y R² de la indolizina 1,3-disustituida de fórmula general (II), y de la formilindolizina de la presente invención son iguales y son butilo y, 10 donde Ar de la indolizina 1,3-disustituida de fórmula general (II), y de la formilindolizina de la presente invención es fenilo.

En una realización más en particular, la presente invención se refiere al procedimiento de la presente invención, donde R¹ y R² de la indolizina 1,3-disustituida de fórmula general (II), y de la formilindolizina de la presente invención son iguales y son butilo y, 15 donde Ar de la indolizina 1,3-disustituida de fórmula general (II), y de la formilindolizina de la presente invención es *p*-metoxifenilo.

En una realización particular, la base del procedimiento de la presente invención es seleccionada de entre hidróxido, carbonato, carbonato ácido, sulfito, bisulfito, sulfato, fosfato, fosfato ácido de litio, sodio, potasio, bario, cesio, calcio, magnesio, amonio, o 20 una base orgánica del tipo alcóxido metálico y una base del tipo amina.

Más en particular, la base del procedimiento de la presente invención es seleccionada de entre Na₂CO₃, NaHCO₃, K₂CO₃, KHCO₃, Cs₂CO₃, CaCO₃, Ca(OH)₂, Ba(OH)₂, NaOH, KOH, NH₄OH, K₃PO₄, NaHSO₃, MeONa, *t*-BuOK, DBU, DABCO, DIPEA, TMEDA, piridina y piperidina. Preferentemente, la base es NaHCO₃.

25 En una realización particular, el disolvente del procedimiento de la presente invención es un disolvente orgánico seleccionado de entre acetonitrilo, diclorometano, acetona y nitrometano. Preferentemente el disolvente es acetonitrilo.

En una realización particular, la reacción de formilación del procedimiento de la presente invención tiene lugar durante al menos 8 horas.

30 En otra realización particular, el procedimiento de la presente invención comprende una etapa adicional de adición de un segundo disolvente orgánico y posterior filtración.

En otra realización particular, el procedimiento de la presente invención comprende una etapa adicional de adición de un segundo disolvente orgánico y posterior filtración, y otra etapa adicional de purificación.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere a la sal de Eschenmoser como agente de formilación de indolizinas.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende la formilindolizina de la presente invención y un excipiente químicamente aceptable (de aquí en adelante, composición de la presente invención).

10 En la presente invención por excipiente químicamente aceptable se refiere a cualquier componente no tóxico, principalmente se refiere a vehículos y tampones tales como soluciones salinas, soluciones acuosas, emulsiones, etc.

En una realización particular, la composición de la presente invención comprende, además, un disolvente orgánico, preferentemente el disolvente orgánico es acetonitrilo.

15 En otra realización particular, la composición de la presente invención comprende, además, un ácido seleccionado de entre ácido clorhídrico, ácido acético, ácido sulfúrico y la resina Amberlyst.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para la detección de nitritos (de aquí en adelante, procedimiento de detección de nitritos de la presente invención) en disolución que comprende:

- 20
- poner en contacto la composición de la presente invención con una disolución problema,
 - determinar el color de la disolución problema,

donde el cambio de color de la disolución problema hacia un color rojo-rosáceo es indicativo de nitritos en la disolución problema.

25 En una realización particular, el procedimiento para la detección de nitritos de la presente invención comprende una etapa adicional de adición de una sal a la disolución problema. Más en particular, la sal es seleccionada de entre NaCl, NaI, NaBr, KCl, KI, KBr, CaCl₂, CaI₂, CaBr₂.

30 En una realización particular, en el procedimiento para la detección de nitritos de la presente invención, la disolución problema está impregnada en un soporte sólido.

En la presente invención, en el procedimiento para la detección de nitritos de la presente invención, por soporte sólido se refiere a cualquier objeto donde la disolución problema

pueda absorberse, adsorberse o soportarse por cualquier método físico-químico. Preferentemente, el soporte sólido es un algodón.

En una realización en particular, el cambio de color en el procedimiento para la detección de nitritos de la presente invención se determina en un tiempo comprendido entre 1
5 segundo y 15 minutos.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un kit para la detección de nitritos mediante el procedimiento para la detección de nitritos de la presente invención (de aquí en adelante, kit de la presente invención), que comprende:

- la formilindolizina de la presente invención o la composición de la presente
10 invención.

En una realización particular, el kit de la presente invención comprende un soporte sólido.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

15 **Figura 1.** Muestra el test de detección selectiva de iones nitrito (NaNO_2 , disolución H), frente a trece aniones, utilizando una 7-formilindolizina en medio ácido. Sales: KCN (A), PhCO_2K (B), KF (C), KCl (D), KBr (E), KI (F), KOAc (G), $\text{K}_2\text{P}_4\text{O}_7$ (I), K_3PO_4 (J), KH_2PO_4 (K), NaN_3 (L), K_2S (M) y NaHS (N). Todas las concentraciones son 10^{-4} M en acetonitrilo o acetonitrilo-agua.

20 **Figura 2.** Muestra el test de detección selectiva de iones nitrito (NaNO_2 , disolución B), frente a iones nitrato (KNO_3 , disolución A), utilizando una formilindolizina en medio ácido. Todas las concentraciones son 10^{-4} M, en acetonitrilo para la formilindolizina y en agua para nitrito y nitrato.

25

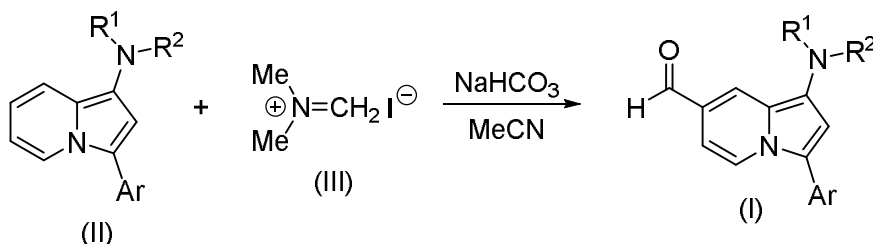
DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un método mediante el cual, cuando se hace reaccionar indolizinas 1,3-disustituidas (Albaladejo, M. J.; Alonso, F.; González-Soria, M. J. Synthetic and Mechanistic Studies on the Solvent-Dependent Copper-Catalyzed
30 Formation of Indolizines and Chalcones. *ACS Catal.* **2015**, 5, 3446-3456) con la sal de Eschenmoser, se produce una formilación directa y regioselectiva en la posición 7 del anillo de indolizina, en lugar de un producto de dimetilaminometilación.

La reacción tuvo lugar en acetonitrilo a temperatura ambiente, en presencia de

bicarbonato de sodio como base (esquema 3). Ésta representa la primera formilación en la posición 7 del anillo de indolizina. Los productos resultantes, indolizin-7-carbaldehídos, han mostrado una elevada selectividad en la detección de iones nitrito frente a otros catorce aniones en medio ácido.

5



Esquema 3. Reacción de una indolizina de estructura general (II), sustituida en las posiciones 1 y 3, con la sal de Eschenmoser (III). Se muestra el producto de formilación de estructura general (I).

10

Ejemplo 1: síntesis de formilindolizina 1,3,7-trisustituida de fórmula general (I).

La nueva indolizina 1-(dialquilamino)-3-fenilindolizin-7-carbaldehído, de fórmula general (I), se obtuvo por tratamiento de la indolizina de partida de fórmula general (II) con la sal de Eschenmoser de fórmula general (III), mediante el siguiente procedimiento:

15 En un procedimiento típico, se añadió a un tubo de reacción la indolizina de fórmula general (II) (1 mmol), bicarbonato de sodio (168 mg, 2 mmol) y la sal de Eschenmoser (370 mg, 2 mmol), en dicho orden.

La mezcla se disolvió en acetonitrilo (1.5 mL), manteniéndola con agitación magnética a temperatura ambiente durante 8 horas.

20 Al crudo de reacción se le añadió acetato de etilo (10 mL). La disolución resultante se filtró a través de Celite y el disolvente del filtrado se evaporó a vacío.

El residuo se purificó por cromatografía en columna (cilíndrica de vidrio y con llave de teflón) o cromatografía de capa fina preparativa (sobre placa de vidrio cuadrada), esta última si se trata de cantidades pequeñas de producto. En ambos casos se utilizó gel de

25 sílice como fase estacionaria, eluyendo con mezclas de hexano y acetato de etilo.

Con esta metodología se consiguió introducir un grupo formilo de manera selectiva en la posición 7 de la indolizina de partida, obteniendo un único isómero de todos los posibles. La presencia de este sustituyente formilo le confiere al producto una coloración

rojiza.

Ejemplo 2: síntesis de formilindolizina 1,3,7-trisustituida, 1-(dibutilamino)-3-fenilindolizin-7-carbaldehído (3a).

5 Para la síntesis de la formilindolizina 1,3,7-trisustituida 3a, se repitió el procedimiento descrito en el ejemplo 1, donde los sustituyentes de la indolizina de partida de fórmula general (II) eran:

R¹ y R² son butilo y Ar era un grupo fenilo (Ph o C₆H₅), dando lugar a la formilindolizina 1,3,7-trisustituida 3a con las propiedades descritas en la tabla 1:

3a; R = Bu, Ar = Ph	
Rendimiento	62%
R _f (hexano/EtOAc 8:2)	0.68
Espectroscopía FTIR $\tilde{\nu}$	1668 cm ⁻¹ (C=O aldehído)
MS m/z (impacto electrónico)	349 (M ⁺ +1, 25%), 348 (M ⁺ , 100%)
HRMS m/z calculada para C ₂₃ H ₂₈ N ₂ O 348.2203	m/z encontrada 348.2199
Aceite rojo: $\lambda_{\max}$	453 nm (CH ₃ CN) c = 10 ⁻⁴ M

10

Tabla 1. Datos físicos y espectroscópicos seleccionados para la formilindolizina **3a**; R = Bu, Ar = C₆H₅. Espectroscopía FTIR (Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier; MS: Espectrometría de masas, HRMS: Espectrometría de masas de alta resolución.

15 *Ejemplo 3: síntesis de formilindolizina 1,3,7-trisustituida, 1-(dibutilamino)-3-(4-metoxifenil)indolizin-7-carbaldehído (3b)*

Para la síntesis de la formilindolizina 1,3,7-trisustituida 3b, se repitió el procedimiento descrito en el ejemplo 1, donde los sustituyentes de la indolizina de partida de fórmula general (II) eran:

20 R¹ y R² eran butilo y Ar era un grupo *p*-metoxifenilo (MeOC₆H₄), obteniéndose la formilindolizina 1,3,7-trisustituida 3b con las propiedades descritas en la Tabla 2:

3b; R = Bu, Ar = <i>p</i>-MeOC₆H₄	
Rendimiento	66%
R _f (hexano/EtOAc 8:2)	0.43
Espectroscopía FTIR $\tilde{\nu}$	1666 cm ⁻¹ (C=O aldehído)
MS <i>m/z</i> (impacto electrónico)	379 (M ⁺ +1, 24%), 378 (M ⁺ , 100%)
HRMS <i>m/z</i> calculada para C ₂₃ H ₂₈ N ₂ O 378.2307	<i>m/z</i> encontrada 378.2314
Aceite rojo: $\lambda_{\max}$	454 nm (CH ₃ CN) <i>c</i> = 10 ⁻⁴ M

Tabla 2. Datos físicos y espectroscópicos seleccionados para la formilindolizina **3b**; R = Bu, Ar = *p*-MeOC₆H₄. Espectroscopía FTIR (Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier; MS: Espectrometría de masas, HRMS: Espectrometría de masas de alta resolución.

5

Ejemplo 4: preparación de la composición de la presente invención.

Se prepararon las composiciones según la tabla 3

	Composición 1	Composición 2	Composición 3
formilindolizina 1,3,7-trisustituída	1 mL, 10 ⁻⁴ M	0.5 mL, 10 ⁻⁴ M	0.5 mL, 10 ⁻³ M
disolvente orgánico	acetonitrilo	acetonitrilo	acetonitrilo
ácido	40 μ L (HCl 2N)	10 μ L (HCl 2N)	40 μ L (HCl 2N)

Tabla 3. Composiciones de la presente invención.

Ejemplo 5: test de detección de nitrito frente a otros aniones.

10 En un procedimiento típico, se prepararon disoluciones problema con 6 mL de distintas sales de potasio y sodio de concentración 10⁻⁴ M en acetonitrilo, a excepción de K₃PO₄, KH₂PO₄ y K₄P₂O₇ que se prepararan en MeCN-H₂O en proporción 1:1.

En un vial se adicionó 1 mL de la composición 1 del ejemplo 3, que comprendía 1 mL de formilindolizina 1,3,7-trisustituída y 40 μ L de HCl 2N, y se añadió a 2 mL de disolución problema.

15

La mezcla se agitó y se dejó reposar entre 1 segundo y 30 minutos a la espera del cambio de color. Sólo en el caso de la disolución de nitrito se observó cambio de color a rojo, que fue instantáneo.

Ejemplo 6: test general de detección de nitritos en disolución.

20 En un procedimiento típico, se preparó la composición 2 que comprendía una disolución

10^{-4} M de formilindolizina 1,3,7-trisustituida en acetonitrilo (color naranja rojizo). A 0.5 mL de dicha disolución se añadieron 10 μ L de una disolución de HCl 2N (pH 1.57); la disolución adquirió un color amarillo claro.

La disolución problema se añadió a la composición 2. La presencia de nitrito se manifestó con un oscurecimiento de la disolución, que evolucionó a un color que puede variar de rojo a rosa, según la concentración.

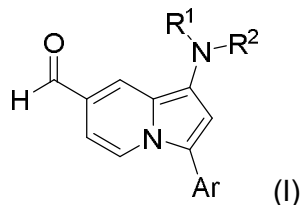
El rango de detección de nitritos estudiado baja hasta 10^{-5} M (0.69 ppm). A medida que baja la concentración, tarda más en adquirir el color rosado, pasando de un cambio inmediato para concentraciones en torno a 10^{-2} M o mayores, a unos 15 minutos para las concentraciones más bajas. En estos casos, la adición de una pequeña cantidad de cloruro de sodio a la muestra de nitrito acelera el proceso de coloración. A modo orientativo, se facilitan las cantidades de indolizina, ácido clorhídrico diluido y cloruro de sodio para la detección de distintas concentraciones de nitrito (Tabla 4).

[NO ₂ ⁻] (M)	ppm	Volumen (mL)	[FORMILINDOLIZINA] (M)	Volumen (mL)	HCl 2N (μ L)	NaCl (mg)
10^{-2}	690	1	10^{-4}	0.5	10	-
10^{-3}	69	1	10^{-4}	0.5	10	-
10^{-4}	6.9	1	10^{-4}	0.5	10	50
10^{-5}	0.69	1	9×10^{-4}	0.1	10	50
Detección del límite máximo de nitritos en agua potable según la OMS						
4.35×10^{-5}	3	1	10^{-4}	0.4	10	50

Tabla 4. Relación de cantidades de reactivos para la detección de diferentes concentraciones de nitrito.

REIVINDICACIONES

1. Formilindolizina 1,3,7-trisustituida de fórmula general (I),



donde:

- 5 R¹ y R² son iguales o diferentes, seleccionados de entre átomos de hidrógeno, oxígeno, alcanos (C₂-C₂₀) lineales o ramificados, alquenos (C₂-C₂₀) lineales o ramificados, alquinos (C₂-C₂₀) lineales o ramificados, estructura aromática, poliaromática, heteroaromática o poliheteroaromática, donde dicha estructura tiene anillos de 5-60 átomos y donde dichos anillos son seleccionados de anillos individuales, fusionados y
10 enlazados;

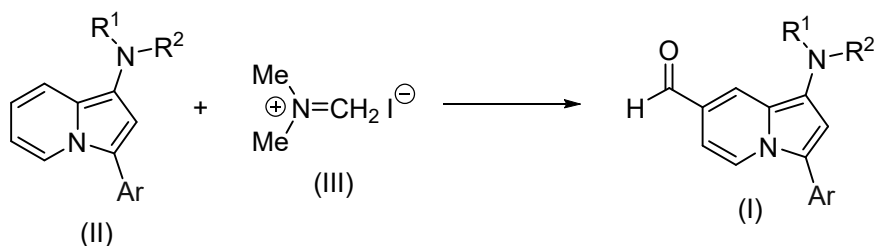
Ar es seleccionado de entre una estructura aromática, poliaromática, heteroaromática, poliheteroaromática o una combinación de las mismas, donde dicha estructura tiene anillos de 5-60 átomos y donde dichos anillos son seleccionados de anillos individuales, fusionados y enlazados.

- 15 2. Formilindolizina 1,3,7-trisustituida según la reivindicación 1, donde R¹ y R² son iguales y son butilo.

3. Formilindolizina 1,3,7-trisustituida según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde Ar es fenilo.

4. Formilindolizina 1,3,7-trisustituida según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde
20 Ar es *p*-metoxifenilo.

5. Procedimiento para la obtención de formilindolizina 1,3,7-trisustituida de fórmula general (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende la reacción de formilación de indolizinas 1,3-disustituidas, de fórmula general (II), con la sal de Eschenmoser, de fórmula (III), en presencia de una base y de un primer disolvente
25 orgánico.



donde

R^1 y R^2 son iguales o diferentes, seleccionados de entre átomos de hidrógeno, oxígeno, alcanos (C_2-C_{20}) lineales o ramificados, alquenos (C_2-C_{20}) lineales o ramificados, alquinos (C_2-C_{20}) lineales o ramificados, estructura aromática, poliaromática, heteroaromática o poliheteroaromática, donde dicha estructura tiene anillos de 5-60 átomos y donde dichos anillos son seleccionados de anillos individuales, fusionados y enlazados;

Ar es seleccionado de entre una estructura aromática, poliaromática, heteroaromática, poliheteroaromática o una combinación de las mismas, donde dicha estructura tiene anillos de 5-60 átomos y donde dichos anillos son seleccionados de anillos individuales, fusionados y enlazados.

6. Procedimiento según la reivindicación 1, donde R^1 y R^2 son iguales y son butilo.

7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 5-6, donde Ar es fenilo.

8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 5-6, donde Ar es *p*-metoxifenilo.

9. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la base es seleccionada de entre hidróxido, carbonato, carbonato ácido, sulfito, bisulfito, sulfato, fosfato, fosfato ácido de litio, sodio, potasio, bario, cesio, calcio, magnesio, amonio, o una base orgánica del tipo alcóxido metálico o del tipo amina.

10. Procedimiento según la reivindicación 9, donde la base es seleccionada de entre Na_2CO_3 , $NaHCO_3$, K_2CO_3 , $KHCO_3$, Cs_2CO_3 , $CaCO_3$, $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$, $NaOH$, KOH , NH_4OH , K_3PO_4 , $NaHSO_3$, $MeONa$, *t*-BuOK, DBU, DABCO, DIPEA, TMEDA, piridina y piperidina.

11. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el disolvente es un disolvente orgánico seleccionado de entre acetonitrilo, diclorometano, acetona y nitrometano.

12. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la reacción de formilación tiene lugar durante al menos 8 horas.
13. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende una etapa adicional de adición de un segundo disolvente orgánico y posterior filtración.
- 5 14. Procedimiento según la reivindicación 13 que comprende una etapa de purificación.
15. Uso de la sal de Eschenmoser como agente de formilación de indolizinas.
16. Composición que comprende la formilindolizina 1,3,7-trisustituida según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un excipiente químicamente aceptable.
17. Composición según la reivindicación 16 que comprende un disolvente orgánico.
- 10 18. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 16-17, que comprende un ácido seleccionado de entre ácido clorhídrico, ácido acético, ácido sulfúrico y la resina Amberlyst.
19. Procedimiento para la detección de nitritos en disolución que comprende:
 - poner en contacto una composición según cualquiera de las reivindicaciones 16-15 18 con una disolución problema,
 - determinar el color de la disolución problema,donde el cambio de color de la disolución problema hacia un color rojo-rosáceo es indicativo de nitritos en la disolución problema.
20. Procedimiento según la reivindicación 19 que comprende la adición de una sal a la 20 disolución problema.
21. Procedimiento según la reivindicación 20, donde la sal es seleccionada de entre NaCl, NaI, NaBr, KCl, KI, KBr, CaCl₂, CaI₂, CaBr₂.
22. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 19-21, donde la disolución problema está impregnada en un soporte sólido.
- 25 23. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 19-22, donde el cambio de color se determina en un tiempo comprendido entre 1 segundo y 15 minutos.
24. Kit para la detección de nitritos mediante un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 19-23, que comprende:
 - una formilindolizina según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una composición 30 según cualquiera de las reivindicaciones 16-18.

25. Kit según la reivindicación 24 que comprende un soporte sólido.

FIG. 1

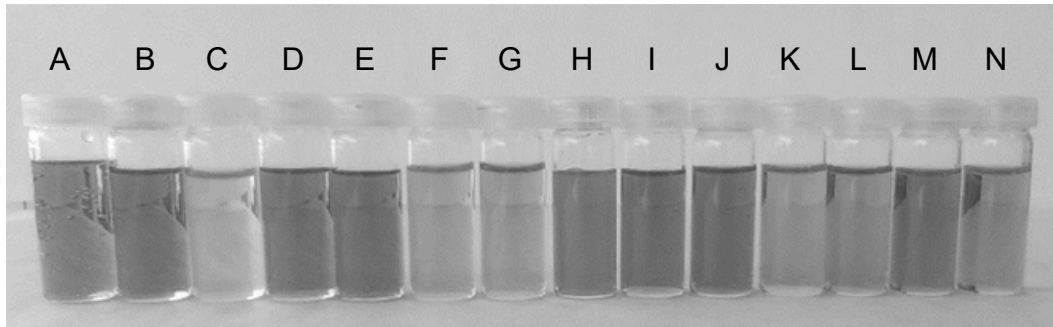
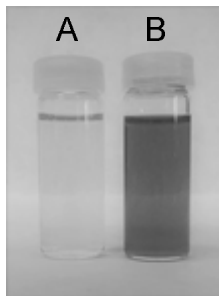


FIG. 2





- ②① N.º solicitud: 202030552
②② Fecha de presentación de la solicitud: 09.06.2020
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	ZHANG, F. et al. "Sensitive naked eye detection and quantification assay for nitrite by a fluorescence probe in various water resources". Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2018, Volumen 200, páginas 275-280. [Disponible en línea el 21.04.2018]. DOI: 10.1016/j.saa.2018.04.025. ISSN: 1386-1425. [Recuperado el 19.02.2021]. Recuperado de: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386142518303305 >. Ver página 275, resumen; página 276, apartado 2.3 y figura 1; página 277, apartado 3.3.1; página 279, figura 7.	1-25
A	WU, H. et al. "Fluorescent and colorimetric dual-readout sensor base don Griess assay for nitrite detection". Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2020, Volumen 225, página 117470. [Disponible en línea el 26.08.2019]. DOI: 10.1016/j.saa.2019.117470. ISSN: 1386-1425. [Recuperado el 18.02.2021]. Recuperado de: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386142519308601 >. Ver página 1, resumen; página 2, columna 1, párrafo 3; figura 1.	1-25
A	XU, Z. et al. "A colorimetric and fluorescent probe for rapid and specific detection of nitrite". Luminiscence: The Journal of Biological and Chemical Luminiscence 2020, Volumen 35, Número 2, páginas 299-304. [Disponible en línea el 01.12.2019]. DOI: 10.1002/bio.3727. ISSN: 1522-7235; 1522-7243 (en línea). Ver página 299, resumen; página 300, esquema 1.	1-25
A	HOU, J. et al. "Phenosafranin-Based Colorimetric-Sensing Platform for Nitrite Dectection Enabled by Griess Assay". Sensors 2020, Volumen 20, Número 5, página 1501. [Disponible en línea el 09.03.2020]. DOI: 10.3390/s20051501. ISSN: 1424-3210; 1424-8220 (en línea). [Recuperado el 18.02.2021]. Recuperado de: < https://www.mdpi.com/1424-8220/20/5/1501 >. Ver página 1, resumen; página 2, figura 1; página 7, tabla 1.	1-25

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
24.02.2021

Examinador
G. Esteban García

Página
1/3



- 21 N.º solicitud: 202030552
22 Fecha de presentación de la solicitud: 09.06.2020
32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	RAJ, A.S.K. et al. "Gold-catalyzed bicyclic annulations of 4-methoxy-1,2-dienyl-5-ynes with isoxazoles to form indolizine derivatives via an Au- π -allene intermediate". Chemical Science 2019, Volumen 10, Número 26, páginas 6437-6442. [Disponible en línea el 22.05.2019]. DOI: 10.1039/c9sc00735k. ISSN: 2041-6520; 2041-6539 (en línea). [Recuperado el 17.02.2021]. Recuperado de: < https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/sc/c9sc00735k#!divAbstract >. Ver página 6437, resumen; ecuación (3); página 6439, tabla 1.	1-18
A	GONG, M. et al. "Facile Synthesis of Polysubstituted Indolizines via One-Pot Reaction of 1-Acetylaryl 2-Formylpyrroles and Enals". Chemistry: An Asian Journal 2020, Volumen 15, Número 3, páginas 352-355. DOI: 10.1002/asia.201901517. ISSN: 1861-4728; 1861-471X (en línea). [Disponible en línea el 27.12.2019]. Ver página 352, resumen; esquema 1; página 353, esquema 2; página 354, esquema 3).	1-18
A	SARKAR, R. et al. "Synthesis and photophysics of selective functionalized π -conjugated, blue light emitting, highly fluorescent C7-imidazo indolizine derivatives". Organic & Biomolecular Chemistry 2015, Volumen 13, Número 48, páginas 11674-11686. [Disponible en línea el 09.10.2015]. DOI: 10.1039/c5ob01646k. ISSN: 1477-0520; 1477-0539 (en línea). Ver página 11674, resumen; página 11675, columna 2, párrafo 1; esquemas 1 y 2.	1-18
A	SETTAMBOLO, Z. et al. "A shortcut hydroformylation route to 7-formyl-5,6-dihydroindolizine from 1-allyl-2-formylpyrrole". Journal of Organometallic Chemistry 2001, Volumen 619, Números 1-2, páginas 241-244. DOI: 10.1016/S0022-328X(00)00658-6. ISSN: 0022-328X. [Recuperado el 19.02.2021]. Recuperado de: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022328X00006586 >. Ver página 241, resumen; página 242, esquema 1.	1-18

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
24.02.2021

Examinador
G. Esteban García

Página
2/3

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07D471/04 (2006.01)**G01N31/22** (2006.01)**G01N33/18** (2006.01)**G01N21/78** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07D, G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTE, REGISTRY, CAPLUS, XPESP, NPL, EMBASE, BIOSIS, NCBI (PUBMED), GOOGLE SCHOLAR