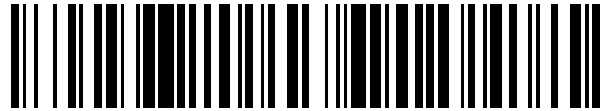


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 751**

51 Int. Cl.:

C07D 233/54 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.09.2011 E 11761030 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2015 EP 2616446**

54 Título: **Nuevas sales de imidazolio y complejos de carbeno-metal a base de las mismas para su utilización como marcadores bioanalíticos para biomoléculas**

30 Prioridad:

15.09.2010 DE 102010040822

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

21.08.2015

73 Titular/es:

**ERNST-MORITZ-ARNDT-UNIVERSITÄT
GREIFSWALD (100.0%)**

**Domstr. 11
17487 Greifswald, DE**

72 Inventor/es:

KÜHL, OLAF

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 543 751 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

Nuevas sales de imidazolio y complejos de carbeno-metal a base de las mismas para su utilización como marcadores bioanalíticos para biomoléculas.

5 La presente invención se refiere a sales de imidazolio, a los complejos de carbeno-metal correspondientes así como a su utilización como marcadores bioanalíticos para biomoléculas.

10 La investigación de la estructura y el modo de funcionamiento de biomoléculas tales como proteínas e hidratos de carbono, así como de genomas y transcritos génicos requiere derivados especiales y/o análisis de espectrometría de masas. Se utilizan, por ejemplo, métodos tales como ESI (*electrospray*) [1], MALDI (*matrix-assisted laser desorption and ionisation*) [2] e ICP-MS (*inductively coupled plasma-mass spectrometry*) [3-5]. Tales procedimientos requieren etapas de separación y purificación por medio de cromatografía de líquidos (LC) o cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) [6]. Esto requiere técnicas, que representan una combinación de purificación y análisis y se designan habitualmente con un acrónimo, que combina los nombres de las técnicas individuales (técnicas en tándem).

15 La estructura y la constitución secuencial de dichas biomoléculas plantean grandes retos en cuanto a la determinación cuantitativa. En particular, la ausencia de grupos funcionales que puedan medirse cuantitativamente o la limitada disponibilidad de heteroátomos adecuados dificultan la utilización de métodos de análisis tales como espectroscopía de fluorescencia o espectroscopía UV/vis, así como la utilización de procedimientos electroanalíticos. Incluso la ICP-MS se ve dificultada o resulta imposible sin una etapa de derivatización adicional [6]. A menudo tienen lugar una denominada etapa de derivatización, mediante la cual se introduce un grupo cromóforo, fluoróforo o electroactivo en los analitos. La introducción de un heteroelemento como etapa de derivatización correspondiente permite el acceso a estudios mediante ICP-MS [7].

20 En relación con diferentes aplicaciones médico-químicas se desarrollaron etapas de derivatización iniciales para la determinación rutinaria de determinados analitos y se reflejaron en los respectivos protocolos. En este sentido, la mayor desventaja es la limitación a la detección simultánea de únicamente un solo analito. Para la determinación de varios analitos son necesarias múltiples secuencias de detección. La determinación simultánea es actualmente imposible. Por tanto, se necesitan urgentemente protocolos para la determinación simultánea de varios analitos, preferentemente aplicando métodos de análisis idénticos [8].

25 En el campo de la proteómica es posible la medición simultánea de diferentes analitos mediante etiquetas de masas en tándem (TMT, *Tandem Mass Tags*) o por medio de reconocimiento de datos isobárico (etiquetado isobárico) para la cuantificación relativa y absoluta (iTRAQ). Sin embargo, las técnicas de etiquetado isobárico requieren el marcaje con isótopos pesados (^2D , ^{13}C , ^{15}N) en una síntesis de múltiples etapas costosa, aunque los marcadores están disponibles comercialmente.

30 Los métodos de marcaje deberían ofrecer marcadores estables, que permitan un límite de detección bajo y que no sean tóxicos y sean económicos en las cantidades utilizadas. Además deberían poder introducirse de manera cuantitativa y específica. Debería estar disponible una amplia gama de marcadores individuales, mediante los cuales fuese posible la medición simultánea de diferentes analitos.

35 Compuestos organometálicos o compuestos de coordinación con metal ofrecen el potencial de cumplir con todos los retos mencionados. Ya se han sintetizado varias clases de compuestos y se han utilizado como marcadores bioanalíticos (*bioanalytical tag*, BAT) [6]. "Estable" significa en este sentido que el compuesto es estable frente al aire y la humedad y es igualmente útil para compuestos de coordinación y compuestos organometálicos. Sin embargo, "estable" significa también que existe estabilidad frente al lavado o en general frente a la eliminación de la biomolécula. En el caso de BAT que contienen metal esto significa una fuerte coordinación del ligando/de los ligandos con el metal, lo que debería ser posible en el mejor de los casos por medio de una combinación de ligandos quelantes y carbenos N-heterocíclicos (NHC) [11,12].

40 Clases de compuestos muy prometedoras, que son útiles para aplicaciones de BAT, son los carbonilos de metal, complejos de carbeno (Fischer y Wanzlick-Arduengo), así como los ferrocenos y complejos quelantes [6]. Sin embargo, los carbonilos de metal son propensos, en la espectrometría de masas, a una pérdida temprana de carbonilo, con lo que se dificulta la evaluación del espectro [13]. Por otro lado ofrecen una ventana de detección única para la espectroscopía IR [14]. La clase de compuestos más desarrollada son claramente los ferrocenos para la detección electroquímica. Sin embargo, en este sentido también existen limitaciones en cuanto a la derivatización y de manera correspondiente en cuanto a la determinación múltiple de analitos [15].

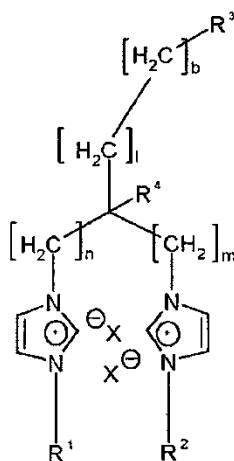
45 En general, ni siquiera los ferrocenos pueden combinar al mismo tiempo en sí mismos las ventajas de la detección electroquímica, patrones de isótopos únicos para la detección por MS y un amplio rango de modificación.

50 De manera correspondiente, el objetivo de la presente invención es proporcionar compuestos que superen los inconvenientes mencionados anteriormente.

El objetivo se soluciona con sales de imidazolio según las reivindicaciones 1 y 5 así como con complejos de carbeno-metal correspondientes según las reivindicaciones 6 y 10. Formas de realización preferidas se obtienen a partir de las reivindicaciones dependientes.

5

Dicho de otro modo, el objetivo se soluciona mediante sales de imidazolio de fórmula general I,



I

10 en la que b, l, m, n y dado el caso q son iguales o diferentes y son en cada caso, independientemente entre sí, cero o 1; y

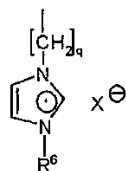
X⁻ es un anión;

15 R¹ y R² son iguales o diferentes y de cadena abierta, ramificados o no ramificados o están presentes como componente de un anillo o sistema de anillos y se seleccionan de entre el grupo constituido por hidrógeno, resto n-alquilo C₁-C₁₂, resto alquilo ramificado C₃-C₁₂, resto cicloalquilo C₃-C₁₂, resto alquenilo C₂-C₁₂, resto arilalquilo C₇-C₂₀, resto arilo C₅-C₁₄,

20 que a su vez está sustituido de la misma o diferente manera con uno o varios restos alquilo C₁-C₃ ramificados o no ramificados, siendo los sistemas cíclicos y aromáticos anillos de un miembro o anillos aislados o condensados de múltiples miembros o formando con el anillo de imidazol de la estructura según la fórmula I un sistema de anillos;

25 R³ se selecciona de entre el grupo constituido por -NH₂, -COOH, -CONH₂ y resto -COOR'', en el que R'' es un resto n-alquilo C₁-C₆;

R⁴ es hidrógeno o R⁵, siendo R⁵ un anillo de imidazol de fórmula II,



II

30

en la que q es cero o 1;

35

R⁶ es igual a o diferente de R¹ y R² y se selecciona de entre el mismo grupo que R¹, R².

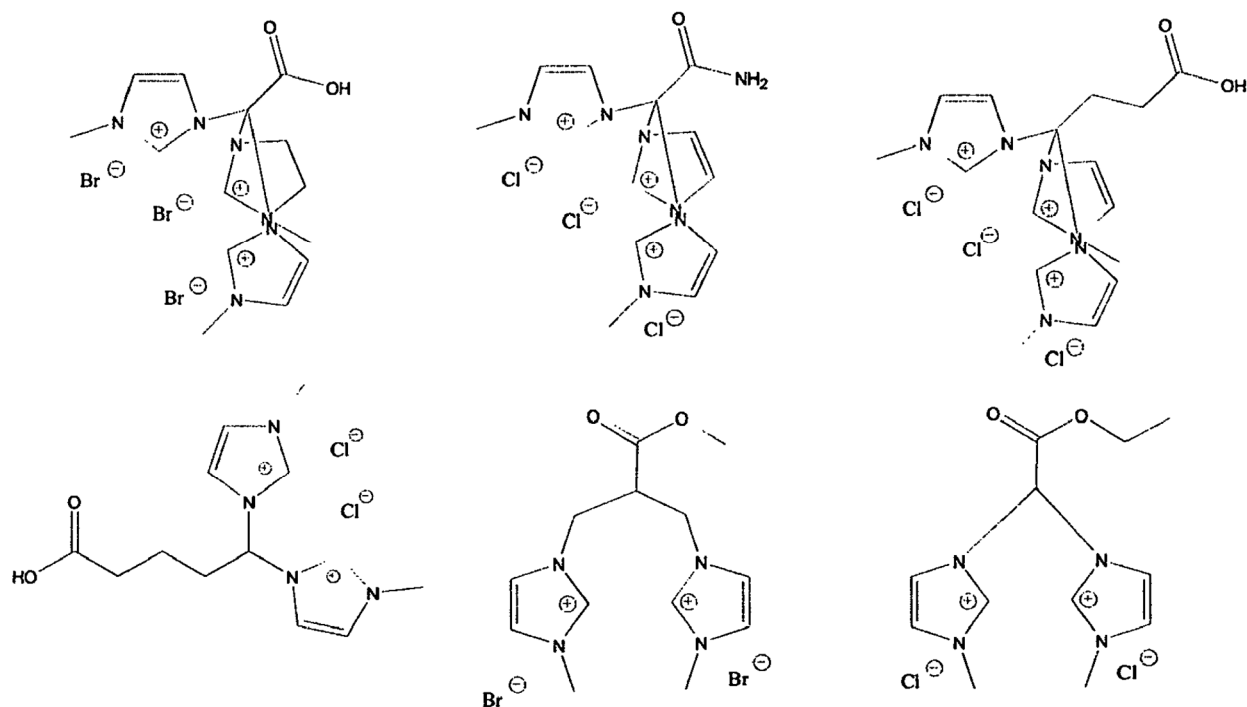
El anión X⁻ no está sujeto a ninguna limitación, es decir puede ser cualquier anión que garantice en general la carga neutra del complejo. En este caso pueden mencionarse preferentemente los halogenuros tales como fluoruro, cloruro y bromuro, pero también otros aniones monovalentes tales como nitratos, BF₄⁻, BPh₄⁻, PF₆⁻, SbF₆⁻ y Sb₂F₁₁⁻, así como aniones bivalentes o trivalentes tales como sulfatos, fosfatos.

Preferentemente, los restos R^1 , R^2 y dado el caso R^6 son iguales o diferentes y se seleccionan de entre el grupo constituido por los restos n-alquilo C_1-C_6 , preferentemente de entre el grupo constituido los restos n-alquilo C_1-C_3 . De manera especialmente preferida R^1 , R^2 y dado el caso R^6 son restos metilo.

De los índices b, l, m, n y dado el caso q, preferentemente n, m y dado el caso q son cero o 1 así como b y l son cero.

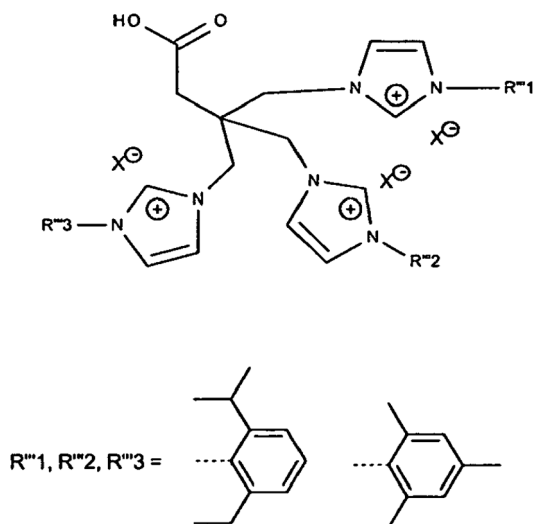
El resto R^3 , que representa el grupo funcional para un posterior acoplamiento con la respectiva biomolécula, se selecciona de entre $-NH_2$, $-COOH$, $-CONH_2$ y resto $-COOR''$, en el que R'' es un resto n-alquilo C_1-C_6 , preferentemente un resto metilo o etilo.

Representantes a modo de ejemplo de sales de imidazolio especialmente preferidas se ilustran a continuación en el esquema 1a.



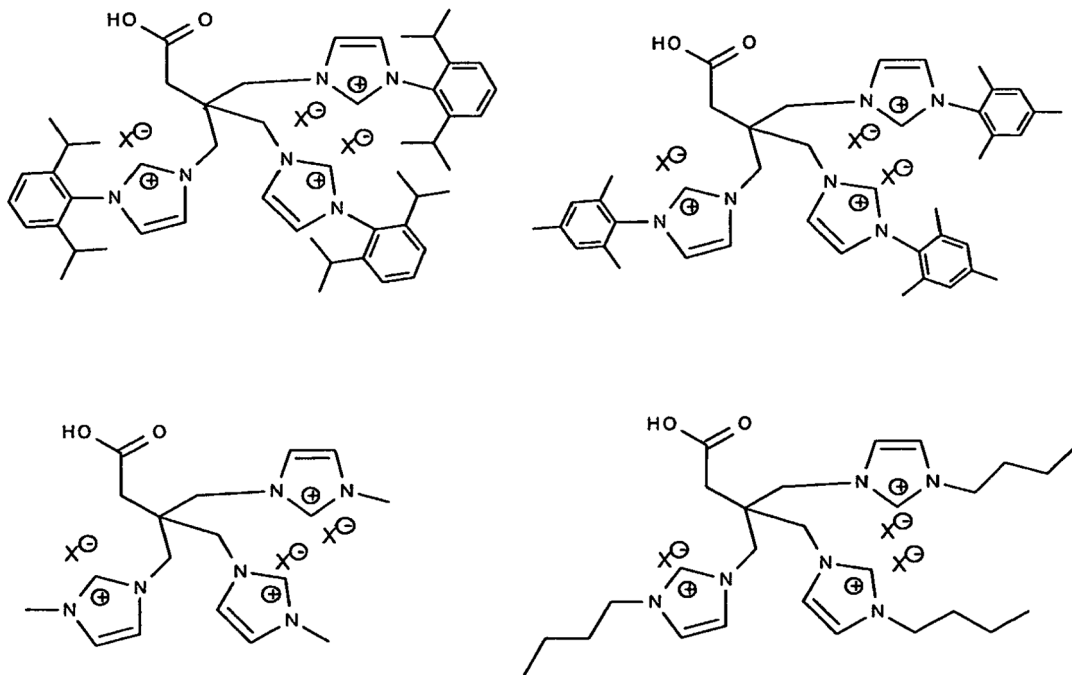
Esquema 1a

Un representante preferido adicional se ilustra en el esquema 1b.



Esquema 1b

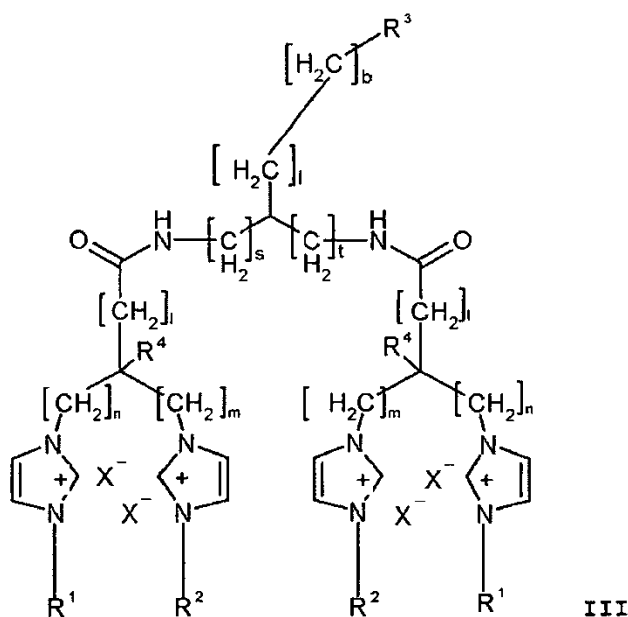
5 Los restos R^{'''1}, R^{'''2} y R^{'''3} según el esquema 1b son en cada caso iguales o diferentes y se seleccionan independientemente entre sí de entre 1-(2,6-di-isopropilfenilo), 1-(2,4,6-trimetilfenilo), metilo y n-butilo tal como se muestra en el esquema 1b. El anión X⁻ no está sujeto a ninguna limitación. Preferentemente, los restos R^{'''1}, R^{'''2} y R^{'''3} son iguales, es decir en el esquema 1c se muestran representantes especialmente preferidos de las sales de imidazolio del esquema 1b, siendo X⁻ preferentemente F⁻, Cl⁻ o Br⁻.



10

Esquema 1c

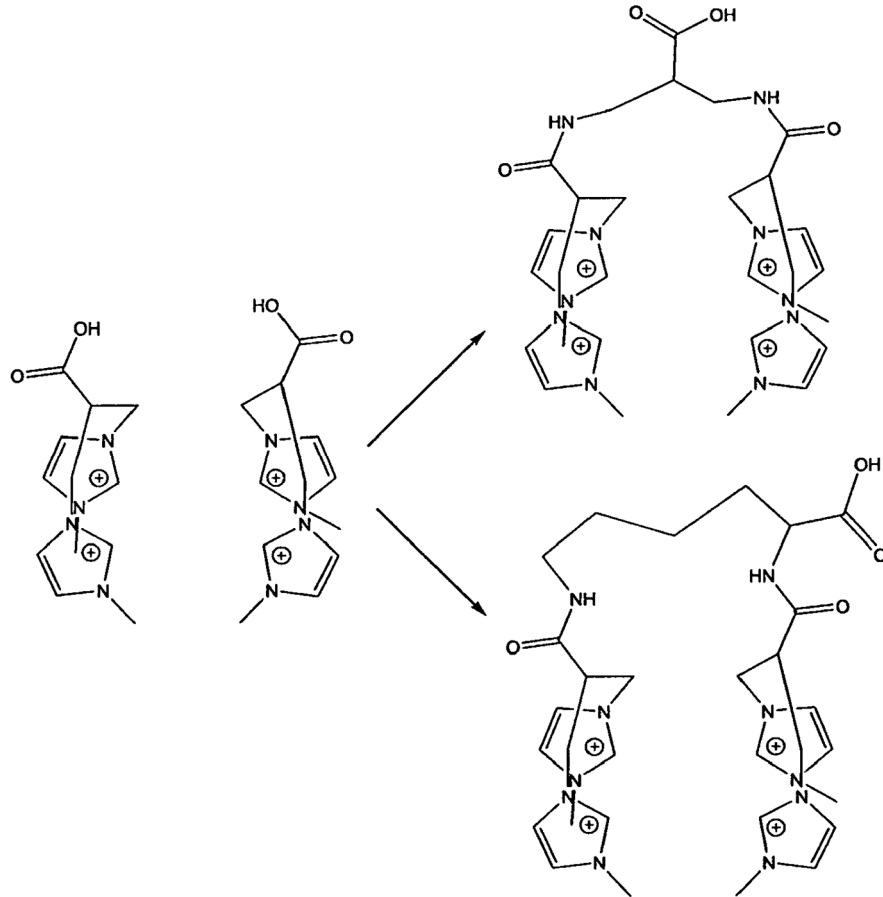
15 La combinación de dos bis-carbenos funcionalizados con una única unidad de tetrakis-carbeno es también objeto de la presente invención. La base para esto son las sales de imidazolio de fórmula general III, que a continuación se denominan sales de imidazolio con puente.



20 R¹ a R⁴ así como b, l, m, n presentan en las sales de imidazolio con puente el mismo significado que se mencionó anteriormente con respecto a las sales de imidazolio. Además, los índices s y t son iguales o diferentes y son en cada caso, independientemente entre sí, cero o un número entero de 1 a 3.

La representación de tales sales de imidazolio con puente tiene lugar preferentemente mediante el acoplamiento de dos unidades bidentadas por medio de un ligador [2+1]-funcional, tal como se representa a modo de ejemplo en el esquema 2.

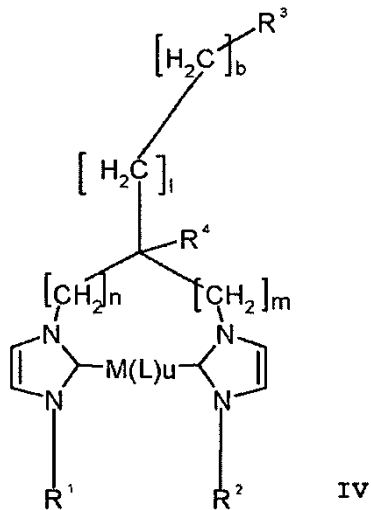
5



Esquema 2

10 Las sales de imidazolio y las sales de imidazolio con puente según la invención se transforman adicionalmente para dar complejos de carbeno N-heterocíclicos.

Por tanto, también son objeto de la invención complejos de carbeno-metal de fórmula general IV



15

en la que R^1 a R^4 y dado el caso R^6 y b, l, m, n y dado el caso q y r presentan el significado ya explicado con respecto a las sales de imidazolio y M es un metal del grupo 6 a 12 del sistema periódico, L es un ligando y u es un número entero de 1 a 4, en la que en el caso de $u = 2, 3$ o 4 los ligandos L son iguales o diferentes y varios ligandos L dado el caso forman entre sí un ligando quelante de dos o más dientes y en la que en el caso de $R^4 =$ anillo de imidazol de fórmula II, el anillo de imidazol se coordina igualmente con el metal M.

Preferentemente, el metal M se selecciona de entre el grupo constituido por los metales cobre, hierro, rutenio, níquel y paladio o del grupo de los metales tecnecio, renio y cobalto.

10 El ligando L se selecciona de entre el grupo constituido por

CO;

nitrilo;

15 isonitrilo;

nitrosilo;

20 ión halogenuro;

átomo de hidrógeno;

25 anión alquilo C_1-C_{12} , anión alilo, anión metalilo, anión bencilo, anión arilo C_6-C_{14} , anión alcoxilo C_1-C_{12} , anión ariloxilo C_6-C_{14} , anión heteroalquilo C_1-C_{12} , anión heteroarilo C_6-C_{14} , anión heteroalcoxilo C_1-C_{12} , anión heteroariloxilo C_6-C_{14} o anión heteroariloxilo C_6-C_{14} , que no está sustituido o está sustituido de igual o diferente manera con uno o varios restos alquilo C_1-C_{12} o restos heteroalquilo C_1-C_{12} , en el que los heteroátomos se seleccionan de entre el grupo de B, Al, Ga, In, N, P, As, Sb, Bi, Si, Ge, Sn, Pb, O, S, Se y Te y en el que los aniones no están sustituidos o están sustituidos total o parcialmente con uno o varios heteroátomos, iguales o diferentes, del mismo grupo en forma de grupo(s) funcional(es), siendo los sistemas cíclicos y aromáticos anillos de un miembro o anillos aislados o condensados de múltiples miembros;

amina primaria, secundaria, terciaria;

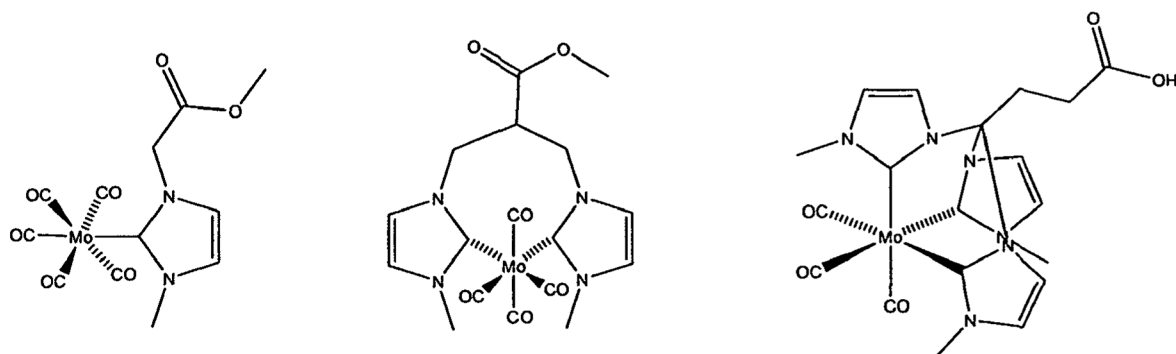
35 fosfano primario, secundario, terciario;

fosfito o carbeno primario, secundario, terciario.

40 El ligando L puede ser un ligando quelante. Preferentemente, el ligando L se selecciona de entre el grupo constituido por los iones halogenuro, en este sentido se prefieren especialmente bromuro o cloruro.

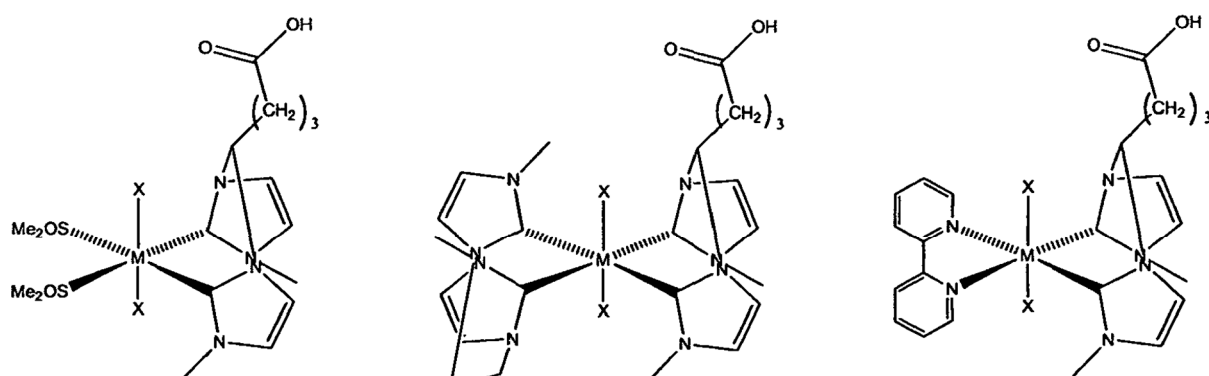
45 La unidad de metal de transición y carbeno permite su utilización para la detección cuantitativa a base de IR, UV-vis, espectroscopía de fluorescencia, ICP-MS o a base de métodos electroquímicos, dado el caso con ayuda de un indicador radiactivo. Puede denominarse unidad de detección. El grupo funcional R^3 permite el acoplamiento de la unidad de detección a la respectiva biomolécula. Mediante el cambio del metal y/o del coligando de metal (ligando L) puede variarse el tipo de detección o la posición de la señal de detección. Esto significa que la selección del tipo de detección está en manos del usuario y ya no es el factor limitante. El cambio de la posición de señal dentro del tipo de detección permite medir simultáneamente varios BAT, es decir, es factible de esta manera un análisis de varios analitos en una etapa.

50 En el esquema 3 se muestran a modo de ejemplo una serie de complejos de carbonilo de molibdeno-carbeno diferentes pero similares, cuya frecuencia de estiramiento A1 en el espectro IR varía en función del carácter dentado del ligando NHC funcionalizado [14].



Esquema 3

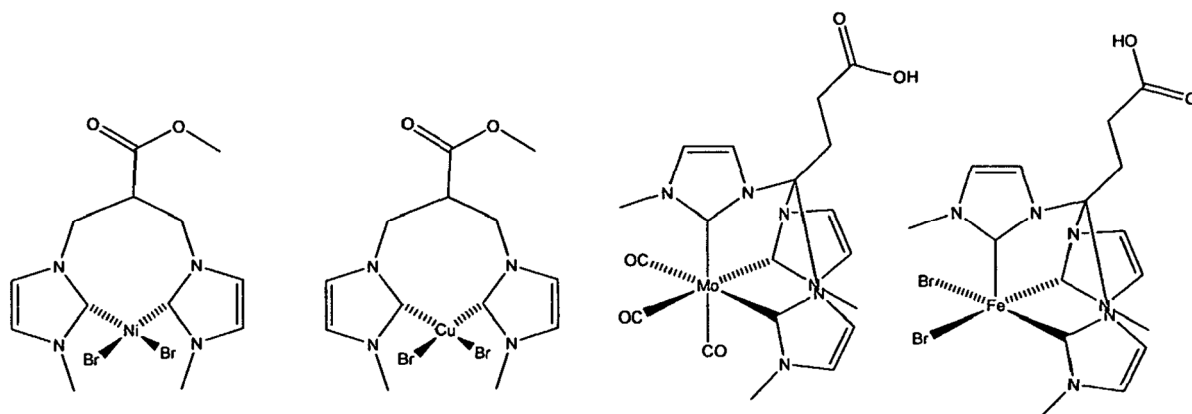
- 5 Para procedimientos de detección electroquímica se utilizan a menudo complejos de rutenio. En particular puede utilizarse el par redox Ru(II)/Ru(III) casi de manera tan generalizada como el par redox Fe(II)/Fe(III) de los ferrocenos. Este último sólo puede variarse moderadamente modificando los sustituyentes en el anillo de ciclopentadienilo. Esto es complicado desde el punto de vista de la síntesis y limitado en cuanto al desplazamiento real de la señal. A diferencia de esto, la modificación de los complejos de rutenio-NHC según la invención es sencilla. Una revisión sobre complejos de Fe y Ru se ofrece en el esquema 4.
- 10



M=Ru, Fe
X=Halógeno

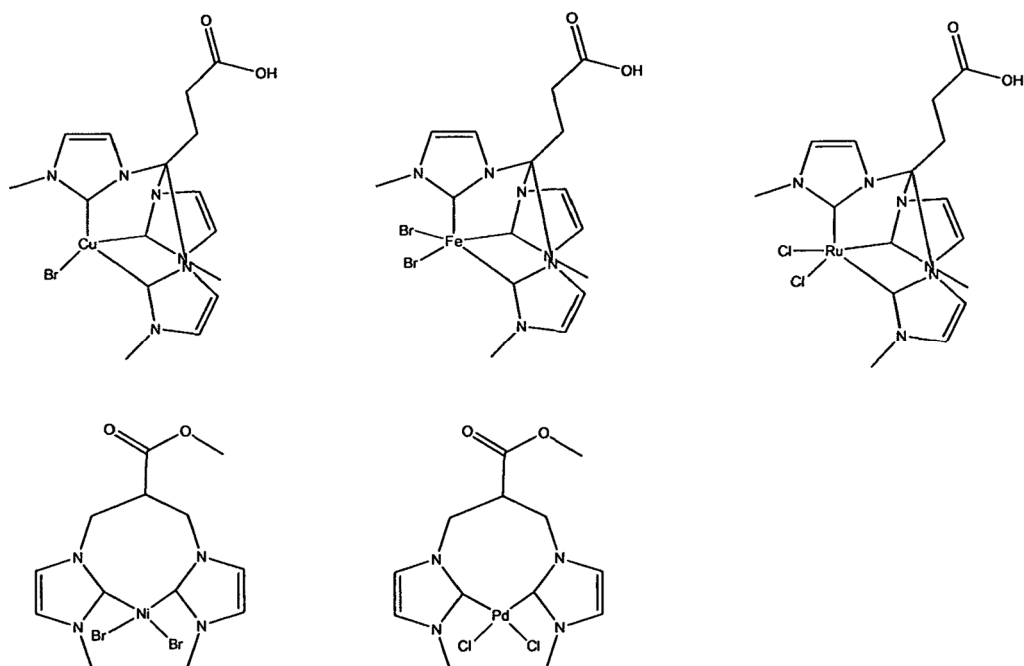
Esquema 4

- 15 Con respecto a la ICP-MS, puede aprovecharse una variación del átomo de metal para identificar cuantitativamente diferentes analitos. Mediante el aprovechamiento de los diferentes patrones de isótopos de metal puede tener lugar la medición simultánea de diferentes analitos sólo por medio de espectrometría de masas. Diferentes complejos de carbeno-metal que pueden utilizarse para ello se ilustran en el esquema 5.
- 20



Esquema 5

Complejos de carbeno-metal (BAT) especialmente preferidos que se utilizan según la invención se ilustran a continuación en el esquema 6.

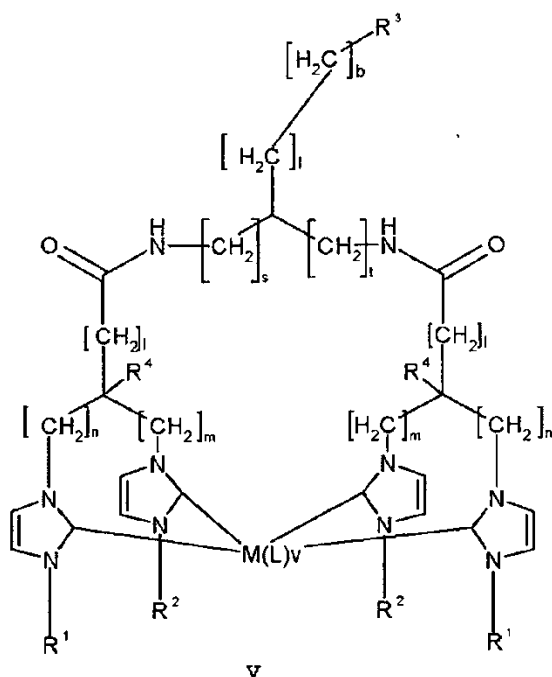


5

Esquema 6

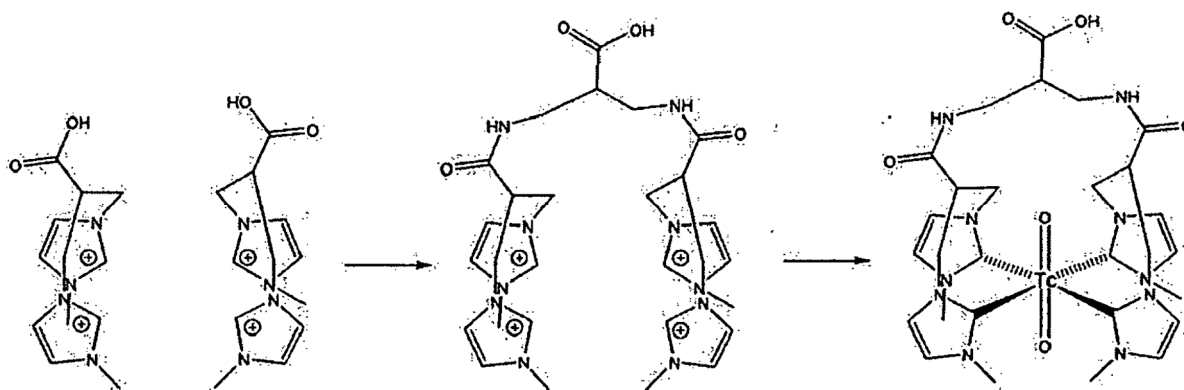
De manera correspondiente a las sales de imidazolio de fórmula general III mencionadas anteriormente, también son objeto de la presente invención complejos de carbeno-metal de fórmula general V.

10



15

en la que R^1 a R^3 y b, l, m y n así como M y L presentan el significado mencionado anteriormente, R^4 es hidrógeno y v es cero, 1 o 2. Se denominan complejos de carbeno-metal con puente o BAT combinatorios. Tales BAT combinatorios son más difíciles de generar debido a la carga positiva de los anillos de imidazolio individuales. Como solución, para la síntesis se utiliza preferentemente un enfoque secuencial, en el que se unen dos unidades bidentadas por medio de un ligador [2+1]-funcional para dar un ligando tetradentado, tal como se representó anteriormente en el esquema 2. Este agrupamiento se transforma a continuación para dar el complejo de carbeno-metal. El esquema 7 ofrece una visión general.



Esquema 7

5 En el sentido de la invención también pueden transformarse en primer lugar dos ligandos bidentados para dar un complejo de tetrakis-carbeno-metal y luego unir las dos unidades. Igualmente puede utilizarse una unidad de bis-carbeno funcionalizada y una no funcionalizada para la síntesis de este BAT.

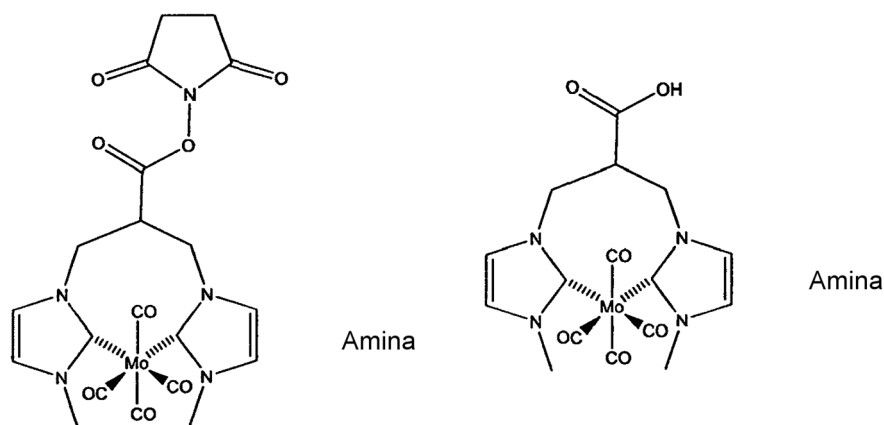
10 En un complejo de carbeno-metal con un ligando tetradentado tal como se representa finalmente en el esquema 7, el metal está encapsulado de manera hidrófoba. En esta forma es posible la transferencia a través de barreras hidrófobas tal como por ejemplo membranas celulares. Los complejos de carbeno-metal, es decir los complejos de carbeno-metal tanto sencillos como con puente, se utilizan como marcadores bioanalíticos para biomoléculas, estando unidos los complejos de metal a través del grupo funcional del resto R³ covalentemente a un grupo funcional correspondiente de la biomolécula, preferentemente un grupo hidroxilo, tiol o amino, de manera especialmente preferida a través de un grupo tiol o amino.

15 La biomolécula que va a analizarse en cada caso procede del grupo de proteínas, péptidos, hidratos de carbono, bases nucleicas (citosina, uracilo, timina, guanina, adenina, hipoxantina), ADN y ARN así como híbridos con participación de uno o varios miembros de este grupo.

20 Diferentes grupos funcionales de la biomolécula pueden activarse de manera dirigida modificando la unidad de ligador del BAT. Por unidad de ligador se entiende el agrupamiento [CH₂]_a-R_a-[CH₂]_b-R³. Preferentemente según la invención se activan funcionalidades amina tal como por ejemplo en el caso de lisina o el extremo N-terminal de péptidos. Para este último se utiliza por ejemplo un éster de N-succinimida como ligador. Para el acoplamiento a aminas pueden utilizarse por ejemplo grupos carbonilo como resto R³. Grupos funcionales adicionales que pueden activarse son grupos tiol, por ejemplo en las cadenas laterales de cisteína de péptidos, utilizándose como ligador por ejemplo N-succinimida o yodoacetamida. Para complejos de molibdeno se representan a modo de ejemplo en el

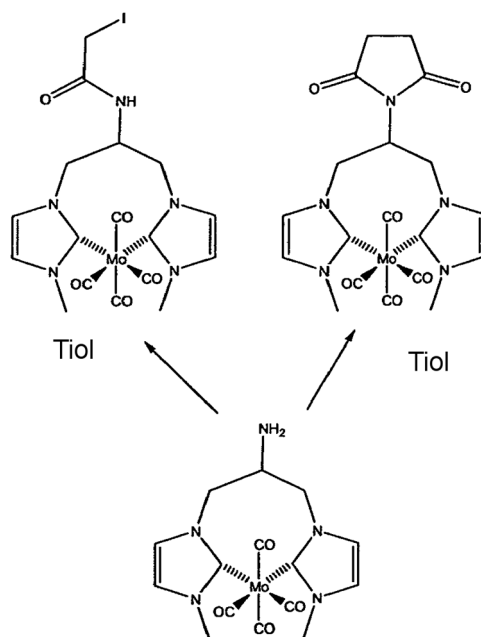
25 esquema 8 y 9 algunos de los complejos de carbeno-metal preferidos según la invención con grupos funcionales o

30 grupos funcionales modificados.



Esquema 8

35



Esquema 9

- 5 El enlace del respectivo complejo de carbeno-metal puede basarse por ejemplo en un ácido carboxílico o una amina como grupo funcional R^3 . El ácido carboxílico se hace reaccionar con N-succinamida. A continuación tiene lugar la reacción con un grupo tiol o amino de la respectiva biomolécula, lo que conduce a un enlace tioéter o amida. Un grupo amina como grupo funcional R^3 puede transformarse en yodoacetamida, lo que tras la reacción con un grupo tiol de la biomolécula conduce al tioéter. Igualmente puede hacerse reaccionar el grupo amina (R^3) con ácido succínico para dar succinimida, que de nuevo con un grupo tiol o amino de la biomolécula conduce a un enlace tioéter o amida. Preferentemente, la biomolécula está unida a través de un enlace tioéter o amida covalentemente al grupo funcional R^3 .

15 Para el acoplamiento a las biomoléculas puede utilizarse una estrategia de síntesis inversa, es decir en primer lugar se une una sal de imidazolio a la biomolécula y a continuación se introduce el metal en el precursor de carbeno. De esta manera puede generarse un amplio espectro de biomoléculas casi "marcadas previamente", decidiéndose posteriormente el método de detección mediante la selección del metal. Esto simplifica el aislamiento, la purificación así como la manipulación, dado que la selección del método de detección puede aplazarse hasta un momento directamente antes del verdadero análisis.

20 El procedimiento de la manera normal, es decir la generación del complejo de carbeno-metal y la posterior unión a la biomolécula es igualmente posible. Ambas maneras son viables. En los precursores de carbonilo de metal de transición, debido a su susceptibilidad al oxígeno, es más favorable generar en primer lugar los complejos de carbeno-metal y unirlos a continuación completamente coordinados a la biomolécula.

25 Los complejos de carbeno-metal se utilizan para el análisis de biomoléculas, analizándose éstas preferentemente como un todo o en partes. De manera especialmente preferida, los complejos de carbeno-metal unidos covalentemente a una biomolécula se utilizan para el transporte de metales, preferentemente tecnecio, renio o cobalto, a órganos diana específicos (radiomedicina). Para el transporte pueden utilizarse los complejos de bis- y tris-carbeno, es decir de carbeno sencillo,-metal así como los sistemas tetrakis, es decir los complejos de carbeno-metal con puente.

Bibliografía

- 35 [1] J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong, C. M. Whitehouse, *Science* 246 (1989) 64
 [2] L. A. Finney, T. V. O'Halloran, *Science* 300 (2003) 931.
 [3] M. Wang, W. Y. Feng, Y. L. Zhao, Z. F. Chai, *Mass Spectrom. Rev.* 29 (2009) 326.
 40 [4] J. Bettmer, N. Jakubowski, A. Prange, *Anal. Bioanal. Chem.* 386 (2006) 7.
 [5] A. Sanz-Medel, *Anal. Bioanal. Chem.* 391 (2008) 885.

- [6] S. Bomke, M. Sperling, U. Karst, Anal. Bioanal. Chem. (2010) doi: 10.107/s00216-010-3611-1
- [7] J. Szounar, Analyst 130 (2005) 442.
- 5 [8] N. Metzler-Nolte, Angew. Chem. 113 (2001) 1072.
- [9] C. J. Koehler, M. Strozynski, F. Kozielski, A. Treumann, B. Thiede, J. Proteome Res. 8 (2009) 4333.
- 10 [10] L. Dayon, A. Hainard, V. Liecker, N. Turck, K. Kuhn, D. F. Hochstrasser, P. R. Burkhard, J.-C. Sanchez, Anal. Chem. 80 (2008) 2921.
- [11] F. E. Hahn, M. Jahnke, Angew. Chem. Int. Ed. 47 (2008) 3122.
- [12] O. Kühl, Chem. Soc. Rev. 36 (2007) 592.
- 15 [13] a) C. J. Adams, M. I. Bruce, P. Duckworth, P. A. Humphrey, O. Kühl, E. R. T. Tiekink, W. R. Cullen, P. Braunstein, S. Coco Cea, B. W. Skelton, A. H. White; J. Organomet. Chem. 467, 1994, 251; b) C. J. Adams, M. I. Bruce, O. Kühl, B. W. Skelton, A. H. White; J. Organomet. Chem. 445, 1993, C6; c) O. Kühl, M.Sc. Thesis, Tübingen 1992.
- 20 [14] O. Kühl, Coord. Chem. Rev. 249, 2005, 693.
- [15] B. Seiwert, U. Karst, Anal. Bioanal. Chem. 390 (2008) 181.

25 A continuación se explica adicionalmente la invención mediante ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1: Dibromuro de 3,3'-(2-(metoxicarbonil)propan-1,3-diil)bis(1-metil-imidazol-2-ilideno):

30 Se disolvió N-metilimidazol (1,15 g, 14 mmol) en dioxano (15 ml) y se mezcló con propionato de metil-3-bromo-2-(bromometilo) (1,82 g, 7 mmol). Se calentó la disolución de reacción durante 6 horas con agitación hasta 60°C. Se concentró el disolvente a vacío y se obtuvo un polvo blanco, que se lavó con hexano. Rendimiento: 2,948 g; 99%.

35 ¹H-RMN (DMSO, ppm): δ: 3,63 (s, 3 H, OCH₃); 3,78 (quintete, ³J_{HH} = 6,3 Hz, 1 H, CH); 3,88 (s, 6 H, NCH₃); 4,54 (dd, ³J_{HH} = 6,5 Hz, ³J_{HH} = 1,4 Hz, 4 H, CH₂); 7,75 (dd, ³J_{HH} = 1,7 Hz, ⁴J_{HH} = 1,7 Hz, 2 H, H⁵); 7,79 (dd, ³J_{HH} = 1,7 Hz, ⁴J_{HH} = 1,7 Hz, 2 H, H⁴); 9,21 ppm (s, 2 H, H²)

40 ¹³C-RMN (DMSO, ppm): δ: 35,95 (NCH₃); 45,34 (CH₂); 47,13 (OCH₃); 52,72 (CH); 122,70 (C⁵); 123,79 (C⁴); 137,41 (C²); 169,95 (C=O).

Análisis elemental: Calculado para C₁₃H₂₀Br₂N₄O₂ (424,37 g·mol⁻¹): C 36,79 H 4,75 N 13,26; hallado: C 36,70 5,29 H 13,30 N

45 Ejemplo 2: Dibromuro de 3,3'-(2-(metoxicarbonil)propan-1,3-diil)bis(1-(2,4,6-trimetilfenil)-imidazol-2-ilideno)

Se disolvieron 2,4,6-trimetil-N-imidazol (0,996 g, 5,35 mmol) y propionato de metil-3-bromo-2-(bromometilo) (0,695 g, 2,67 mmol) en 15 ml de dioxano y se calentaron con agitación durante 8 horas hasta 70°C. Se eliminó el disolvente a vacío y se obtuvo un aceite amarillo oscuro viscoso. Rendimiento cuantitativo.

50 ¹H-RMN (DMSO, ppm): δ = 2,00 (s, 6 H, o-CH₃); 2,01 (s, 6 H, o-CH₃); 2,33 (s, 6 H, p-CH₃); 3,71 (s, 3 H, OCH₃); 7,15 (s, 4 H, Ar-H); 7,92 (dd, ³J_{HH} = 1,7 Hz, ⁴J_{HH} = 1,6 Hz, 1 H, H⁵); 7,96 (dd, ³J_{HH} = 1,8 Hz, ⁴J_{HH} = 1,7 Hz, 1 H, H⁵); 8,00 (dd, ³J_{HH} = 1,6 Hz, ⁴J_{HH} = 1,7 Hz, 1 H, H⁴); 8,04 (dd, ³J_{HH} = 1,8 Hz, ⁴J_{HH} = 1,7 Hz, 1 H, H⁴); 9,37 (dd, ⁴J_{HH} = 1,7 Hz, ⁴J_{HH} = 1,5 Hz, 1 H, H²); 9,55 (dd, ⁴J_{HH} = 1,5 Hz, ⁴J_{HH} = 1,3 Hz, 1 H, H²)

55 ¹³C-RMN (DMSO, ppm): δ: 16,82 (); 16,87 (); 20,58 (); 30,69 (); 44,81 (); 49,75 (); 52,33 (); 120,75 (); 123,19 (); 123,45 (); 124,09 (); -129,18 (); 129,24 (); 131,10 (); 131,26 (); 132,09 (); 133,46 (); 134,25 (); 134,34 (); 135,55 (); 138,17 (); 140,09 (); 140,29 (); 164,82 (C=O)

60 Ejemplo 3: Ácido 2,2,2-tris-N-metilimidazol-acético (Tris-COOH)

Se agitaron 2,0 g de ácido tribromoacético (6,73 mmol) con 1,6 ml de N-metilimidazol (20,20 mmol) en 20 ml de THF durante la noche en el matraz y a continuación se eliminó el disolvente a vacío. Rendimiento cuantitativo de un líquido iónico.

65

¹H-RMN (DMSO, ppm): δ: 3,64 (s, 9 H, CH₃), 6,87 (s, 3 H, H⁵), 7,09 (s, 3 H, H⁴), 7,55 (s, 3 H, H²), 7,70 (s, 1 H, COOH)

¹³C-RMN (DMSO, ppm): δ: 32,73 (CH₃), 120,45 (C⁵), 128,36 (C⁴), 137,86 (C²), no se detectaron átomos de carbono cuaternario.

Ejemplo 4: Amida del ácido 2,2,2-tris-N-metilimidazol-acético (Tris-CONH₂)

Se disolvieron 4,875 g (30 mmol) de 2,2,2-tricloroacetamida en 40 ml de THF y se añadieron 7,2 ml (90 mmol) de N-metilimidazol con agitación. Se agitó durante la noche y entonces se eliminó el disolvente a vacío. Rendimiento: 12,03 g; 98%.

¹H-RMN (DMSO, ppm): δ: 3,63 (s, 9 H, CH₃), 6,89 (s, 3 H, H⁵), 7,09 (s, 3 H, H⁴), 7,56 (s, 3 H, H²), 8,46 (s, 1 H, NH₂), 8,59 (s, 1 H, NH₂)

¹³C-RMN (DMSO, ppm): δ: 32,77 (CH₃), 93,20 (C), 120,52 (C⁵), 128,41 (C⁴), 137,92 (C²), 163,09 (C=O)

Ejemplo 5: Éster etílico del ácido 2,2-bis-N-metilimidazol-acético (Bis-CO₂Et)

Se agitaron 4,71 g de éster etílico del ácido dicloroacético (30 mmol) con 4,8 ml de N-metilimidazol (60 mmol) en 20 ml de THF durante la noche en el matraz y a continuación se eliminó el disolvente a vacío. Rendimiento cuantitativo de un líquido iónico.

¹H-RMN (DMSO, ppm): δ: 1,25 (t, ³J_{HH} = 7,1 Hz, 3 H, CH₃), 3,64 (s, 6 H, NCH₃), 4,28 (qt, ³J_{HH} = 7,1 Hz, 2 H, CH₂), 6,88 (s, 1 H, CH), 6,89 (s, 2 H, H⁵), 7,11 (s, 2 H, H⁴), 7,59 (s, 2 H, H²)

¹³C-RMN (DMSO, ppm): δ: 13,67 (CH₃), 32,79 (NCH₃), 63,47 (CH), 64,99 (CH₂), 120,50 (C⁵), 128,12 (C⁴), 137,80 (C²), 164,49 (C=O)

Ejemplo 6: [Ru(tris-COOH)(SOMe₂)Br₂]

Se hicieron reaccionar 287 mg de Tris-COOH (0,545 mmol) con 379 mg (1,64 mmol) de Ag₂O en 20 ml de CH₂Cl₂. A continuación se añadieron 264 mg (0,545 mmol) de [RuCl₂(DMSO)₄] y se agitó durante la noche. Se filtró el líquido verde generado eliminando el AgBr y se concentró a vacío. Tras la adición de hexano precipita un compuesto verde, estable al aire, que es soluble en agua y que se purificó con THF.

Rendimiento: 239 mg (0,374 mmol; 69%) [RuBr₂(DMSO)(Tris-COOH)].

MS (MALDI-tof): 642,359 [M⁺] (isótopos a 638,360; 640,351; 642,359; 644,359; 646,350; 648,363), 598,402 [M⁺ - CO₂], 517,600 [M⁺ - CO₂ - ⁸¹Br]

IR [cm⁻¹]: 1954,36 (C=O).

Análisis elemental para C₁₆H₂₂Br₂N₆O₃RuS (638,68): calculado C 30,09% H 3,47% N 13,22%; hallado C 29,52% H 3,50% N 12,67%

Ejemplo 7: [Mo(Bis-CO₂Et)(CO)₄]

Se disolvieron 328,1 mg (1,02 mmol) de Bis-CO₂Et en 20 ml de THF. Se añadieron 696,5 mg (3 mmol) de Ag₂O. Se agitó la suspensión durante la noche sin luz. Se añadieron 296 mg (1,02 mmol) de [Mo(CO)₄(NCMe₃)₂] y se agitó durante la noche. Tras la filtración se concentró el volumen a vacío. A -20°C se obtuvieron cristales incoloros.

Rendimiento: 191 mg (41%)

Ejemplo 8: [Mo(Tris-CONH₂)(CO)₃]

Se disolvieron 409 mg (1 mmol) de Tris-CONH₂ en 20 ml de CH₂Cl₂ y se añadieron 367 mg (1,5 mmol) de Ag₂O. Se agitó la suspensión durante la noche en oscuridad, a continuación se añadieron 290 mg (1 mmol) de [Mo(CO)₄(NCCH₃)₂]. Tras agitar durante la noche se filtró la suspensión y se concentró el volumen del filtrado a vacío. A -20°C se obtuvieron cristales incoloros.

Rendimiento: 269 mg (47%).

Ejemplo 9: Ácido ω,ω,ω -tris-(N-metilimidazolil)-butírico (0,25 THF)

Se agitan 994 mg (5,2 mmol) de ácido ω,ω,ω -triclolorobutírico y 1,24 ml (15,6 mmol) de N-metilimidazol en 25 ml de THF durante 15 horas. Se elimina el disolvente a vacío. El producto queda como un líquido iónico incoloro. Contiene 0,25 moléculas de THF por unidad de fórmula.

Rendimiento: 2,4 g

^1H -RMN (DMSO- d_6 , ppm): δ : 2,65 (m, 2H, β -CH $_2$), 3,04 (m, 2H, -CH $_2$), 3,64 (s, 9H, CH $_3$), 6,88 (s, 3H, H 4), 7,10 (s, 3H, H 5), 7,57 (s, 3H, H 2).

^{13}C -RMN (DMSO- d_6 , ppm): δ : 31,29 (C- β), 32,78 (CH $_3$), 49,54 (C-), 99,43 (C), 120,50 (C 4), 128,22 (C 5), 137,84 (C 2), 172,08 (C=O).

Ejemplo 10: Ácido ω,ω -bis-(N-metilimidazolil)-pentanoico

Se agitan 2 g (11,7 mmol) de ácido ω,ω -dicloropentanoico y 1,85 ml (23,4 mmol) de N-metilimidazol en 30 ml de THF durante 15 horas. Se elimina el disolvente a vacío. El producto queda como un líquido iónico incoloro. Rendimiento: 3,9 g

^1H -RMN (DMSO- d_6 , ppm): δ : 1,68 (p, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 7,4$ Hz, β -CH $_2$), 2,18 (m, 2H, γ -CH $_2$), 2,30 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 7,4$ Hz, -CH $_2$), 3,64 (s, 6H, CH $_3$), 6,34 (t, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5,9$ Hz, CH), 6,89 (s, 2H, H 4), 7,10 (d, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 1,0$ Hz, H 5), 7,59 (s, 2H, H 2).

^{13}C -RMN (DMSO- d_6 , ppm): δ : 20,95 (C- β), 32,26 (C- γ), 32,79 (CH $_3$), 42,14 (C- α), 74,52 (CH), 120,51 (C 4), 128,09 (C 5), 137,79 (C 2), 174,02 (C=O).

Ejemplo 11: [Ácido Fe(ω,ω,ω -tris-(N-metilimidazoliliden)-butírico)(PPh $_3$)Br $_2$]

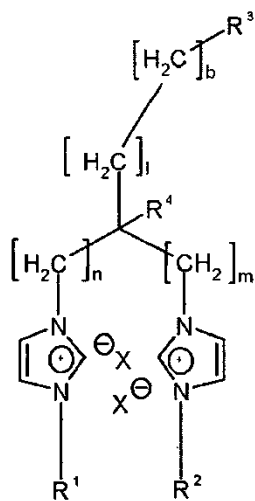
Se agitaron 623 mg (1,42 mmol) de ácido ω,ω,ω -tris-(N-metilimidazolil)-butírico y 598 mg (2,58 mmol) de Ag $_2$ O durante 16 horas en 30 ml de diclorometano. Entonces se añadieron 750 mg (1,42 mmol) de [Fe(DMSO) $_4$ Br $_2$] y 372 mg (1,42 mmol) de PPh $_3$. Tras 6 horas se filtró la suspensión, se concentró el filtrado a vacío y se añadió hexano. Se formó un sedimento rojizo, que se aisló y secó. Rendimiento: 1,04 g (1,28 mmol, 90%).

MS (MALDI-tof) 808 [M+]

^{31}P -RMN (DMSO- d_6 , ppm): δ : 7,88

REIVINDICACIONES

1. Sales de imidazolio de fórmula general I,



I

5

en la que b, l, m, n y dado el caso q son iguales o diferentes y son en cada caso, independientemente entre sí, cero o 1; y

10 X⁻ es un anión;

R¹ y R² son iguales o diferentes y de cadena abierta, ramificados o no ramificados o están presentes como componente de un anillo o sistema de anillos y se seleccionan de entre el grupo constituido por hidrógeno, resto n-alquilo C₁-C₁₂, resto alquilo ramificado C₃-C₁₂, resto cicloalquilo C₃-C₁₂, resto alquenilo C₂-C₁₂, resto arilalquilo C₇-C₂₀, resto arilo C₅-C₁₄,

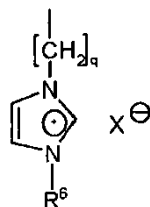
15

que, a su vez, está sustituido de la misma o diferente manera con uno o varios restos alquilo C₁-C₃ ramificados o no ramificados, siendo los sistemas cíclicos y aromáticos anillos de un miembro o anillos aislados o condensados de múltiples miembros o formando con el anillo de imidazol de la estructura según la fórmula I un sistema de anillos;

20

R³ se selecciona de entre el grupo constituido por -NH₂, -COOH, -CONH₂ y resto -COOR'', en el que R'' es un resto n-alquilo C₁-C₆;

25 R⁴ es hidrógeno o R⁵, siendo R⁵ un anillo de imidazol de fórmula II,



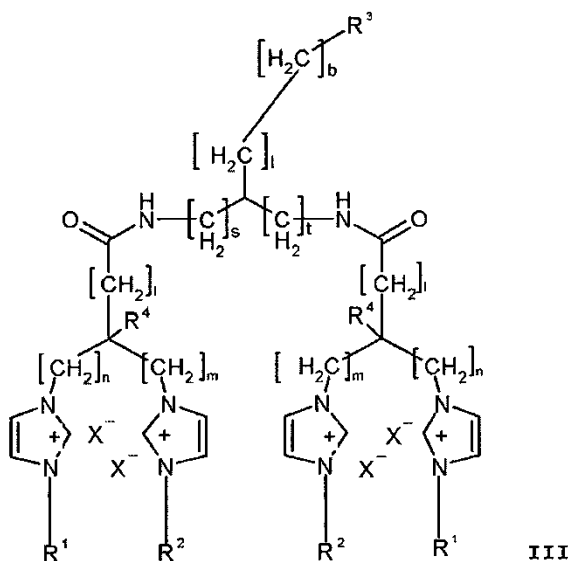
II

en la que q es cero o 1;

30

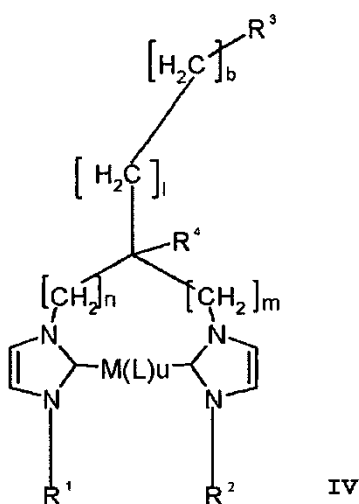
R⁶ es igual a o diferente de R¹ y R² y se selecciona de entre el mismo grupo que R¹, R².

2. Sales de imidazolio según la reivindicación 1, caracterizadas por que los restos R^1 , R^2 y dado el caso R^6 son iguales o diferentes y se seleccionan de entre el grupo constituido por los restos n-alquilo C_1-C_6 .
3. Sales de imidazolio según una de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizadas por que n, m y dado el caso q son cero o 1, así como b y l son cero.
4. Sales de imidazolio según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizadas por que R'' es un resto n-alquilo C_1-C_6 .
5. Sales de imidazolio según la fórmula general III,



- 15 en la que R^1 a R^4 , así como b, l, m, n presentan el significado mencionado en una de las reivindicaciones 1 a 4, así como s y t son iguales o diferentes y son en cada caso, independientemente entre sí, cero o un número entero de 1 a 3.

6. Complejos de carbeno-metal de fórmula general IV



- 20 en la que R^1 a R^4 y dado el caso R^6 y b, l, m, n y dado el caso q presentan el significado mencionado en una de las reivindicaciones 1 a 5 y M es un metal del grupo 6 a 12 del sistema periódico, L es un ligando y u es un número entero de 1 a 4, en la que en el caso de $u = 2, 3$ o 4 los ligandos L son iguales o diferentes y varios ligandos L dado el caso forman entre sí un ligando quelante de dos o más dientes, y en la que en el caso de $R^4 =$ anillo de imidazol de fórmula II, el anillo de imidazol se coordina igualmente con el metal M.
- 25

7. Complejos de carbeno-metal según una de las reivindicaciones 5 o 6, caracterizados por que el metal M se selecciona de entre el grupo constituido por los metales cobre, hierro, rutenio, níquel y paladio, o de entre el grupo constituido los metales tecnecio, renio y cobalto.

5 8. Complejos de carbeno-metal según una de las reivindicaciones 5 a 9, caracterizados por que L se selecciona de entre el grupo constituido por

CO;

10 nitrilo;

isonitrilo;

15 nitrosilo;

ión halogenuro;

átomo de hidrógeno;

20 anión alquilo C₁-C₁₂, anión alilo, anión metalilo, anión bencilo, anión arilo C₆-C₁₄, anión alcoxilo C₁-C₁₂, anión ariloxilo C₆-C₁₄, anión heteroalquilo C₁-C₁₂, anión heteroarilo C₆-C₁₄, anión heteroalcoxilo C₁-C₁₂, anión heteroariloxilo C₆-C₁₄ o anión heteroariloxilo C₆-C₁₄, que no está sustituido o está sustituido de igual o diferente manera con uno o varios restos alquilo C₁-C₁₂ o restos heteroalquilo C₁-C₁₂, en el que los heteroátomos se seleccionan de entre el grupo constituido por B, Al, Ga, In, N, P, As, Sb, Bi, Si, Ge, Sn, Pb, O, S, Se y Te, y en el que los aniones no están sustituidos o están sustituidos total o parcialmente con uno o varios heteroátomos, iguales o diferentes, del mismo grupo en forma de grupo(s) funcional(es), siendo los sistemas cíclicos y aromáticos anillos de un miembro o anillos aislados o condensados de múltiples miembros;

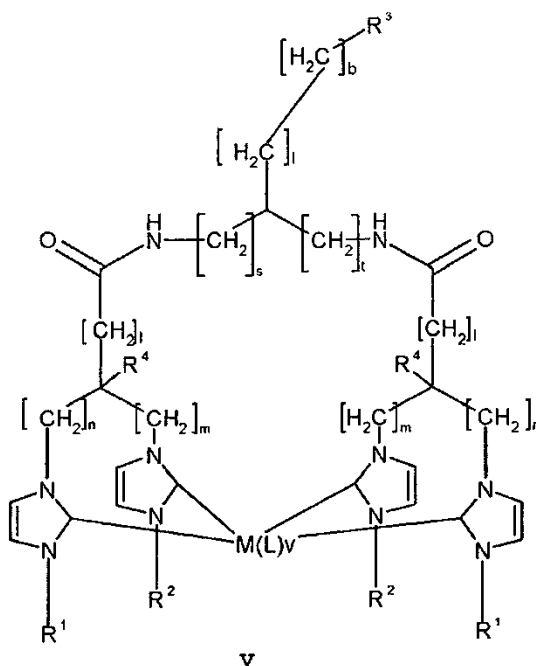
30 amina primaria, secundaria, terciaria;

fosfano primario, secundario, terciario;

fosfito o carbeno primario, secundario, terciario.

35 9. Complejos de carbeno-metal según una de las reivindicaciones 5 a 8, caracterizados por que L se selecciona de entre el grupo constituido por los iones halogenuro, preferentemente bromuro o cloruro.

10. Complejos de carbeno-metal de fórmula general V



40 en la que R¹ a R³ y b, l, m y n, así como M y L presentan el significado mencionado en una de las reivindicaciones 5

a 9, R⁴ es hidrógeno y v es cero, 1 o 2.

- 5 11. Complejos de carbeno-metal según las reivindicaciones 5 a 10 para su utilización como marcadores bioanalíticos para biomoléculas, en los que los complejos de metal están unidos a través del grupo funcional del resto R³ covalentemente a un grupo funcional correspondiente de la biomolécula, preferentemente un grupo hidroxilo, tiol o amino, de manera particularmente preferida a través de un grupo tiol o amino.
- 10 12. Complejos de carbeno-metal según la reivindicación 11 para su utilización como marcadores bioanalíticos para biomoléculas, en los que la biomolécula se selecciona de entre el grupo constituido por proteínas, péptidos, hidratos de carbono, bases nucleicas, ADN y ARN.
- 15 13. Complejos de carbeno-metal según una de las reivindicaciones 11 o 12 para su utilización como marcadores bioanalíticos para biomoléculas, en los que el enlace a la biomolécula es un enlace tioéter o amida.
- 20 14. Complejos de carbeno-metal según una de las reivindicaciones 11 a 13 para su utilización como marcadores bioanalíticos para biomoléculas, para el análisis de biomoléculas, en los que las biomoléculas se analizan como un todo o en partes.
- 15 15. Complejos de carbeno-metal unidos covalentemente a una biomolécula según una de las reivindicaciones 11 a 14 para su utilización como marcadores bioanalíticos para biomoléculas para el transporte de metales, preferentemente tecnecio, renio o cobalto, a órganos diana específicos.