

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 397**

51 Int. Cl.:

C07F 17/02 (2006.01)

C12Q 1/68 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.10.2014** **PCT/GB2014/053031**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.04.2015** **WO15052516**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.10.2014** **E 14784356 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.01.2018** **EP 3055317**

54 Título: **Compuestos de etiquetado y su uso en los ensayos**

30 Prioridad:

08.10.2013 GB 201317787
06.08.2014 GB 201413931

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
12.04.2018

73 Titular/es:

ATLAS GENETICS LIMITED (100.0%)
Derby Court Epsom Square, White Horse
Business Park
Trowbridge, Wiltshire BA14 0XG, GB

72 Inventor/es:

MARSH, BARRIE J.;
FROST, CHRISTOPHER G. y
SHARP, JONATHAN

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 663 397 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).

Compuestos de etiquetado y su uso en los ensayos**Descripción****5 CAMPO DE LA INVENCION**

[0001] La invención se refiere a compuestos marcados con ferrocenilo y al uso de tales compuestos en ensayos electroquímicos y métodos de detección electroquímica.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] La detección de ciertas moléculas biológicas juega un papel importante en muchos aspectos de la vida. Por ejemplo, en el campo de la medicina, existe una necesidad constante de detectar patógenos bacterianos o virales, o moléculas biológicas. Otros campos en los que los ensayos sensibles son esenciales incluyen las industrias de alimentos y bebidas. Un método de detección implica el uso de compuestos electroquímicamente activos. La aplicación de detección electroquímica tiene una serie de ventajas sobre otros métodos, como la detección fluorescente. La detección electroquímica tiene el potencial para niveles muy altos de sensibilidad y exhibe un rango dinámico lineal más amplio que la fluorescencia. Además, no es obligatorio que las muestras sean ópticamente claras. También hay menos interferencia de contaminantes de fondo (muchas muestras biológicas son auto fluorescentes).

[0003] El documento WO03/074731 describe marcadores electroquímicamente activos y métodos de exploración para un ácido nucleico. Los métodos implican poner en contacto una solución de ácido nucleico con una sonda de oligonucleótidos unida a un marcador electroquímicamente activo. Se provoca que la sonda se hibride al menos parcialmente con cualquier secuencia diana complementaria que pueda estar presente en la solución de ácido nucleico. Después de la degradación enzimática de la sonda de ácido nucleico, la información se determina electroquímicamente en relación con el marcador.

[0004] Hillier y col. (Bioelectrochemistry 63 (2004) 307-310) describe el uso de compuestos de urea de ferroceno como marcadores en métodos electroquímicos de pulso para la discriminación electroquímica entre un oligonucleótido marcado y un oligonucleótido marcado digerido con enzima.

[0005] El documento WO2005/005657 divulga marcadores y métodos electroquímicamente activos adicionales para detectar actividad de proteasa. Los métodos implican poner en contacto una solución de muestra con un sustrato de proteasa unido a un marcador electroquímicamente activo, proporcionando condiciones bajo las cuales cualquier proteasa presente en la muestra puede degradar el sustrato de proteasa. Después de la degradación, la información se determina electroquímicamente en relación con el marcador.

[0006] Los documentos WO2012/085591 y WO2013/190328 describen ciertos compuestos de diferrocenilo para uso como marcadores electroquímicos.

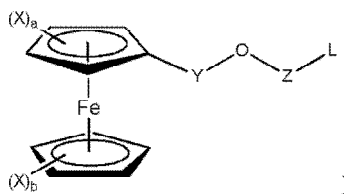
[0007] Existe una necesidad continua de desarrollar etiquetas que permitan la detección de la presencia de sustratos biológicos o indicadores, por ejemplo, ácidos nucleicos o aminoácidos, en bajas concentraciones. En particular, existe una necesidad continua de nuevas etiquetas con diferentes potenciales de oxidación y/o con diferentes propiedades químicas o físicas, ampliando así el rango de posibles ensayos disponibles y aumentando el alcance para el desarrollo de reacciones multiplex. Además, existe una necesidad de compuestos electroquímicamente activos que puedan usarse como controles internos en ensayos. Tales compuestos necesitan dar respuestas electroquímicas robustas y consistentes.

50 RESUMEN DE LA INVENCION

[0008] La presente invención proporciona nuevos compuestos de marcado de ferrocenilo, derivados funcionalizados de los compuestos y sustratos marcados con los compuestos. Se ha encontrado que los compuestos de esta invención son marcadores eficaces para uso en ensayos electroquímicos. También se ha encontrado que los compuestos de la invención dan respuestas electroquímicas robustas y consistentes con potenciales de oxidación entre -150 mV y 584 mV, por lo que pueden ser útiles como controles internos en ensayos. Cuando se usan como sondas en ensayos, los compuestos de la invención proporcionan alturas de pico consistentes y reproducibles. Además, los compuestos de la invención exhiben un amplio rango electroquímico, que permite un ajuste excelente para que una etiqueta de control interno esté en un área "limpia" del voltammograma, es decir, en un área separada de otros picos. Por lo tanto, los compuestos de la invención son muy útiles en ensayos multiplex.

[0009] Los compuestos y sustratos marcados de la invención pueden usarse en cualquier otra técnica electroquímica en la que sus características electroquímicas puedan utilizarse para obtener información sobre las etiquetas o su entorno.

[0010] La descripción generalmente se refiere a un compuesto que tiene la fórmula general I



donde:

cada sustituyente X se selecciona independientemente de halo, vinilo, alquilo, cicloalquilo, SiR_3 , SnR_3 , PR_2 , P(O)R_2 , SR, S(O)R, SO_2R , arilo, heteroarilo, CHO, CO_2R , CN y CF_3 ;

cada R se selecciona independientemente entre alquilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo;

Y es un espaciador;

Z es un espaciador;

L es un grupo enlazador;

a es 0, 1, 2, 3 o 4;

b es 0, 1, 2, 3, 4 o 5; y

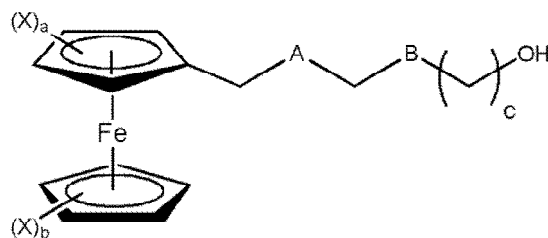
vinilo, alquilo, cicloalquilo, alquilenos, arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo no sustituido, OH, CN, flúor, cloro, bromo y yodo.

[0011] Los compuestos de marcado de la invención y los sustratos marcados derivados de los mismos ofrecen características que los hacen complementos útiles de los compuestos de marcado previamente conocidos, permitiendo un espectro más amplio de aplicaciones. Por ejemplo, los compuestos y sustratos marcados de la invención pueden ofrecer oportunidades adicionales para evitar condiciones bajo las cuales el potencial de medición puede verse comprometido por la interferencia con las impurezas que pueden estar presentes. Los compuestos y sustratos marcados de la invención también ofrecen diferentes valores de potencial electroquímico, permitiendo potencialmente una mayor flexibilidad en los ensayos múltiplex.

[0012] La actividad electroquímica de un marcador se modula principalmente por los sustituyentes en el grupo ferrocenilo. Por lo tanto, la elección de X, a y b puede permitir que el potencial electroquímico del compuesto se seleccione apropiadamente. Se puede lograr un ajuste más fino mediante la elección de Y y Z.

[0013] La invención se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. En particular, la invención proporciona los compuestos de las reivindicaciones 1 a 4, los derivados funcionalizados de la reivindicación 5, los sustratos etiquetados de las reivindicaciones 6 y 16, los kits de ensayo de las reivindicaciones 7 y 16, los usos de las reivindicaciones 8-9 y 16, los métodos de las reivindicaciones 10-16, y los ácidos nucleicos marcados de la reivindicación 17.

[0014] En una realización, la invención se refiere a un compuesto de fórmula IA



donde:

cada sustituyente X se selecciona independientemente de halo, vinilo, alquilo, cicloalquilo, SiR_3 , SnR_3 , PR_2 , P(O)R_2 , SR, S(O)R, SO_2R , arilo, heteroarilo, CHO, CO_2R , CN y CF_3 ;

cada R se selecciona independientemente entre alquilo, arilo, cicloalquilo o heteroarilo; A es O, B es CH_2 y c es

1, o

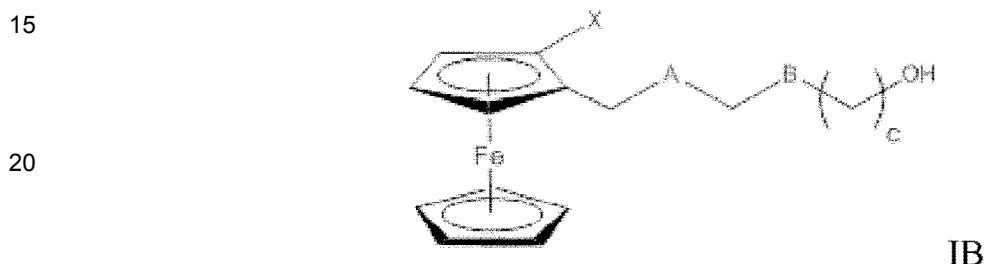
A es CH₂, B es O y c es 2

5 a es 1, 2, 3 o 4 y b es 0, 1, 2, 3, 4 o 5; o

a es 0, 1, 2, 3, 4 o 5 y b es 1, 2, 3, 4 o 5; y

10 vinilo, alquilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo no sustituido, OH, CN, flúor, cloro, bromo y yodo.

[0015] En otra realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula general IB



25 donde:

30 cada sustituyente X se selecciona independientemente de halo, vinilo, alquilo, cicloalquilo, SiR₃, SnR₃, PR₂, P(O)R₂, SR, S(O)R, SO₂R, arilo, heteroarilo, CHO, CO₂R, CN y CF₃;

35 cada R se selecciona independientemente entre alquilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo;

A es O, B es CH₂ y c es 1, o

40 A es CH₂, B es O y c es 2; y

vinilo, alquilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo no sustituido, OH, CN, flúor, cloro, bromo y yodo.

45 **[0016]** En los compuestos de la invención, el ferrocenilo puede tener solo un sustituyente X, tal que a + b = 1. El ferrocenilo puede no tener sustituyentes en el anillo de ciclopentadienilo distal, de modo que b es 0. El ferrocenilo puede tener solo un sustituyente en el anillo de ciclopentadienilo proximal, de manera que a es 1.

[0017] En una realización de los compuestos de la invención, cada X se puede seleccionar independientemente entre halo, vinilo, alquilo, cicloalquilo, SiR₃, SnR₃, P(O)R₂, SR, S(O)R, SO₂R, arilo, heteroarilo, CHO, CO₂R, CN y CF₃. En otra realización de los compuestos de la invención, cada X se puede seleccionar independientemente entre halo, vinilo, SR, S(O)R, alquilo, P(O)R₂, S(O)₂R, SiR₃. En una realización particular, cada X se selecciona independientemente de SR, S(O)R y S(O)₂R. En otra realización, a es 4, b es 5 y cada X es metilo.

50 **[0018]** En otra realización, la invención proporciona un compuesto seleccionado de:

3-(ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(nonametilferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

55 3-((1'-cloro)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-((2-terc-butiltio)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

60 3-((2-terc-butilsulfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-((2-terc-butilsulfonilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-((2-di-terc-butilfosfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

65 3-(2-tributilestannil-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-trimetilsililo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-tributilsililo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-trimetilestannilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-vinilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-yodo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

2-(3-ferrocenilpropoxi)etanol;

2-(3-(2-terc-butiltio)-ferrocenilpropoxi)etanol;

2-(3-(2-terc-butilsulfinilo)-ferrocenilpropoxi)etanol; y

2-(3-(2-terc-butilsulfonilo)-ferrocenilpropoxi)etanol.

[0019] Los compuestos de la invención son compuestos de marcado adecuados para formar sustratos marcados. La unión de los compuestos a un sustrato puede ser directa (por ejemplo, a través de L) o a través de un grupo de funcionalización, preferiblemente a través de un grupo fosoramidito. Por lo tanto, en una realización, la invención proporciona compuestos que son derivados funcionalizados de los compuestos de la invención. Preferiblemente, los derivados funcionalizados comprenden un resto de funcionalización seleccionado de grupos de éster succinimidilo, grupos fosoramidita, grupos maleimida, biotina y grupos azida. En una realización particular, el resto de funcionalización es un grupo fosoramidito.

[0020] En otra realización, la invención proporciona sustratos marcados con un compuesto de la invención. Los sustratos que pueden etiquetarse incluyen ácidos nucleicos, aminoácidos, polipéptidos, carbohidratos y derivados o análogos sintéticos de cualquiera de esas moléculas, siempre que el sustrato esté marcado en la posición 5' de un nucleótido cuando el sustrato sea un ácido nucleico. Otros sustratos que pueden etiquetarse incluyen partículas de látex/paramagnéticas.

[0021] En una realización preferida, el sustrato es un ácido nucleico. Preferiblemente, el ácido nucleico tiene una secuencia que es complementaria a una secuencia en un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. En una realización, el sustrato no es adenosina.

[0022] En otra realización preferida, el sustrato es un aminoácido, polipéptido o carbohidrato; o un ácido nucleico que comprende al menos 2 nucleótidos.

[0023] Se proporciona también un kit de ensayo para determinar la presencia de un objetivo de ensayo, en el que el kit de ensayo comprende un sustrato marcado de la invención.

[0024] Otra realización proporciona el uso de un compuesto de cualquiera de las realizaciones de la invención como una etiqueta en un ensayo electroquímico. En una realización particular, el ensayo es para detectar un sustrato marcado electroquímicamente, con la condición de que el sustrato esté marcado en la posición 5' de un nucleótido cuando el sustrato es un ácido nucleico. Más particularmente, el ensayo es para determinar la cantidad de un sustrato marcado electroquímicamente. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden encontrar uso en un método como se describe en el documento WO03/074731 o en un método como se describe en el documento WO2005/005657.

[0025] Otra realización proporciona un método para la fabricación de un derivado funcionalizado de un compuesto de la invención, que comprende hacer reaccionar un compuesto de la invención con un compuesto funcionalizante. En una realización particular, el compuesto de funcionalización comprende un grupo fosoramidito.

[0026] También se proporciona un método para la fabricación de un sustrato marcado que comprende hacer reaccionar un compuesto de cualquiera de las realizaciones de la invención con un sustrato para obtener un sustrato marcado, con la condición de que el sustrato esté marcado en la posición 5' de un nucleótido cuando el sustrato es un ácido nucleico.

[0027] Otra realización proporciona un método para detectar un ácido nucleico en una muestra que comprende poner en contacto un ácido nucleico con una sonda de ácido nucleico complementario en condiciones para permitir la hibridación entre la sonda y el ácido nucleico, en el que la sonda está marcada en la posición 5' de un nucleótido con un compuesto de cualquiera de las realizaciones de la invención. El método puede incluir la etapa adicional de medir la actividad electroquímica del compuesto que marca la sonda. Opcionalmente, el método comprende la etapa

de degradar selectivamente la sonda hibridada o no hibridada, antes de la etapa de medición. La degradación selectiva de una sonda hibridada puede efectuarse mediante una enzima de exonucleasa específica de doble cadena. La actividad electroquímica del compuesto de la invención puede ser dependiente cuantitativa o cualitativamente del grado de degradación de la sonda. Opcionalmente, el ácido nucleico se amplifica (por ejemplo, mediante PCR u otra técnica de amplificación de ácido nucleico) antes de ponerlo en contacto con la sonda.

[0028] Otra realización proporciona un método para detectar un sustrato etiquetado con un compuesto de cualquiera de las realizaciones de la invención, que comprende la etapa de medir la actividad electroquímica del compuesto, con la condición de que el sustrato esté marcado en la posición 5' de un nucleótido cuando el sustrato es un ácido nucleico. En una realización, se usa un dispositivo de ensayo que comprende al menos dos marcadores, comprendiendo cada etiqueta un compuesto o sustrato marcado de acuerdo con la invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0029]

La Figura 1 muestra los voltamogramas obtenidos a partir del ensayo de PCR múltiple descrito en el ejemplo 22 a continuación.

La Figura 2 muestra un gráfico que cataloga el uso de 3-(nonametilferrocenilmetoxi)propan-1-ol (ejemplo de compuesto 2) como una sonda en una serie de ensayos de detección, como se describe en el ejemplo 23,

[0030] El término "alquilo" se refiere a grupos alquilo de cadena lineal que tienen de 1 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono, y más preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono y grupos alquilo de cadena ramificada que tienen de 3 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 3 a 6 átomos de carbono. Los grupos alquilo ilustrativos incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo y *t*-butilo.

[0031] El término "cicloalquilo" se refiere a un anillo carbocíclico saturado o parcialmente saturado que tiene de 3 a 8 miembros de anillo, preferiblemente de 3 a 6 miembros de anillo. Uno o más miembros del anillo se pueden seleccionar de heteroátomos tales como oxígeno, azufre y nitrógeno. Los grupos cicloalquilo ilustrativos incluyen ciclohexilo, ciclopentilo, piperidinilo y morfolinilo.

[0032] El término "alquilenilo" se refiere a un radical alquilo bivalente de cadena lineal que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono, más preferiblemente que tiene de 1 a 4 átomos de carbono o un radical alquilo bivalente de cadena ramificada que tiene 2 a 6 átomos de carbono, preferiblemente 3 a 4 átomos de carbono.

[0033] El término "alquenilo" se refiere a grupos alquenilo de cadena lineal o ramificada que tienen de 2 a 6 átomos de carbono, más preferiblemente de 2 a 4 átomos de carbono. Los grupos alquenilo ilustrativos incluyen etenilo, propenilo y butenilo.

[0034] El término "arilo" se refiere a un anillo monocíclico o bicíclico aromático insaturado que tiene de 5 a 10 miembros de carbono. Los grupos arilo ilustrativos incluyen fenilo y naftalenilo.

[0035] El término "heteroarilo" se refiere a un sistema de anillo aromático monocíclico o bicíclico que tiene de 5 a 10 miembros de anillo y que contiene átomos de carbono y de 1 a 4 heteroátomos seleccionados independientemente de heteroátomos tales como oxígeno, azufre y nitrógeno. Los grupos heteroarilo ilustrativos incluyen furanilo, imidazolilo y tiazolilo.

[0036] "Halo" o "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.

[0037] El término "anillo de ciclopentadienilo proximal" se refiere al anillo de ciclopentadienilo al que se adjunta el grupo espaciador Y. El término "anillo de ciclopentadienilo distal" se refiere al anillo de ciclopentadienilo al que el grupo espaciador Y no está unido.

[0038] Con referencia a los sustituyentes, el término "independientemente" se refiere a la situación en la que cuando es posible más de un sustituyente, los sustituyentes pueden ser iguales o diferentes entre sí.

[0039] Salvo que lo contrario sea evidente a partir del contexto, debe entenderse que las referencias al término "sustrato" incluyen tanto sustratos de origen natural como sustratos sintéticos. Las referencias a carbohidratos, ácidos nucleicos, aminoácidos y polipéptidos deben entenderse que se refieren a carbohidratos, ácidos nucleicos, aminoácidos y polipéptidos naturales o sintéticos.

[0040] El término "polipéptido" se refiere a cualquier cadena de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos que comprenden dos o más residuos de aminoácidos, tales como un dipéptido o una proteína compleja.

[0041] El término "ácido nucleico" se refiere a una molécula que comprende uno o más residuos de ácido nucleico e incluye nucleótidos, nucleósidos, oligonucleótidos y polinucleótidos, e incluye ADN y ARN. El ácido nucleico puede comprender de 1 a 50 nucleótidos, más preferiblemente de 2 a 40 nucleótidos, especialmente de 15 a 35 nucleótidos, siendo especialmente preferidos de 18 a 30 nucleótidos. Para algunas aplicaciones, los sustratos de longitud más corta pueden ser útiles, por ejemplo, ácido nucleico con 1 a 14 nucleótidos, más preferiblemente de 2 a 10 nucleótidos. Los nucleótidos pueden seleccionarse entre nucleótidos de adenosina, timidina, guanosina, citidina o uridina. Cuando el ácido nucleico está unido a una etiqueta proporcionada aquí, preferiblemente está unido a través de un grupo unido al grupo ribosa o desoxirribosa de un nucleótido, por ejemplo en la posición 2', 3' o 5', tal como a través de un oxígeno o átomo de nitrógeno. Más preferiblemente, el ácido nucleico está unido en la posición 3' o 5' de un nucleótido, por ejemplo en la posición 5'. La secuencia de la porción de ácido nucleico del sustrato es preferiblemente tal que el sustrato puede hibridarse con una secuencia diana complementaria y así usarse como una sonda en una técnica de biología molecular, por ejemplo, una de las técnicas de detección de ácido nucleico descritas aquí.

[0042] El término "carbohidrato" se refiere a una molécula que comprende uno o más residuos sacáridos e incluye monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

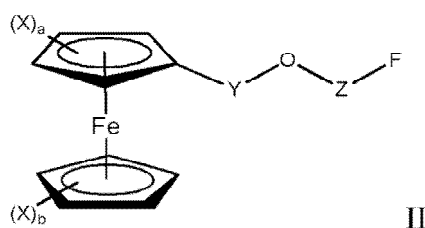
[0043] Los sustratos pueden ser nucleótidos únicos y aminoácidos únicos. En el caso de un ensayo que se basa en la escisión de un sustrato, por ejemplo, mediante una enzima, un único aminoácido o nucleótido se puede considerar como un sustrato porque, aunque carece de un enlace interno capaz de ser escindido por una enzima, tal enlace se puede formar a través de la unión de un marcador. En una realización, el sustrato no es adenosina.

[0044] Cuando en el presente documento se hace referencia a derivados de sustratos de origen natural, esos derivados pueden ser derivados de origen natural o derivados sintéticos del sustrato.

[0045] Se entenderá que las referencias al término "hibridar" en el contexto de ácidos nucleicos significan unión específica de un primer ácido nucleico a un segundo ácido nucleico de secuencia complementaria. También se entenderá que para que se produzca la hibridación, no se requiere que la complementariedad de las secuencias de ácido nucleico sea total. La hibridación incluye la unión complementaria que incluye el desajuste de la base en la medida en que dicha falta de coincidencia no reducirá materialmente la eficacia de los métodos descritos.

[0046] Un compuesto de la invención como se describió anteriormente se puede unir directamente a un sustrato, o después de la funcionalización del compuesto y/o después de la derivatización del sustrato.

[0047] Un aspecto de la divulgación se refiere generalmente a un derivado funcionalizado que es un compuesto de acuerdo con la fórmula II:



donde:

cada sustituyente X se selecciona independientemente de halo, vinilo, alquilo, cicloalquilo, SiR_3 , SnR_3 , PR_2 , P(O)R_2 , SR, S(O)R , SO_2R , arilo, heteroarilo, CHO, CO_2R , CN y CF_3 ;

cada R se selecciona independientemente entre alquilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo;

Y es un espaciador;

Z es un espaciador;

F es un grupo funcionalizador;

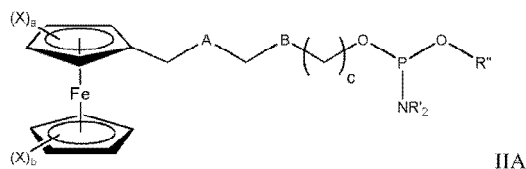
a es 0, 1, 2, 3 o 4;

b es 0, 1, 2, 3, 4 o 5; y

vinilo, alquilo, cicloalquilo, alqueno, arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo no sustituido, OH, CN, flúor, cloro, bromo y yodo.

[0048] F puede derivarse de L en los compuestos de fórmula I. Preferiblemente, F comprende un grupo de éster succinimidilo, grupo fosforamidita, grupo maleimida, biotina o grupo azida.

[0049] Preferiblemente, F es o comprende un grupo fosforamidito. El derivado funcionalizado puede, por lo tanto, ser un compuesto de acuerdo con la fórmula IIA:



donde:

cada sustituyente X se selecciona independientemente de halo, vinilo, alquilo, cicloalquilo, SiR_3 , SnR_3 , PR_2 , P(O)R_2 , SR, S(O)R , SO_2R , arilo, heteroarilo, CHO, CO_2R , CN y CF_3 ;

cada R se selecciona independientemente entre alquilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo;

A es O, B es CH_2 y c es 1, o

A es CH_2 , B es O y c es 2;

R' es alquilo;

R'' es alquilo;

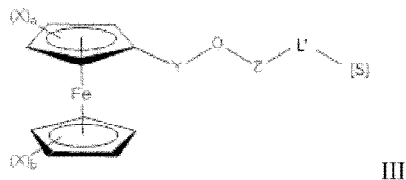
a es 0, 1, 2, 3 o 4;

b es 0, 1, 2, 3, 4 o 5; y

vinilo, alquilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo no sustituido, OH, CN, flúor, cloro, bromo y yodo.

[0050] Preferiblemente, R' es *i*-propilo y R'' es $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$. Los compuestos de fórmula IIA pueden formarse por funcionalización de un compuesto de fórmula IA con un compuesto funcionalizante que comprende un grupo fosforamidito. La funcionalización con fosforamidita es particularmente ventajosa para unir compuestos de la invención a ácidos nucleicos. La unión de grupos fosforamidita a ácidos nucleicos es bien conocida y una cuestión de rutina para los expertos en la técnica.

[0051] Los sustratos marcados de acuerdo con la invención pueden prepararse por reacción de un compuesto o derivado funcionalizado de la invención, con un sustrato. Por lo tanto, un sustrato marcado de acuerdo con la descripción puede ser de fórmula III



donde:

cada sustituyente X se selecciona independientemente de halo, vinilo, alquilo, cicloalquilo, SiR_3 , SnR_3 , PR_2 , P(O)R_2 , SR, S(O)R , SO_2R , arilo, heteroarilo, CHO, CO_2R , CN y CF_3 ;

cada R se selecciona independientemente entre alquilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo;

Y es un espaciador;

Z es un espaciador;

L' es el residuo de L o F como se describió anteriormente, después de que un compuesto o derivado funcionalizado de la invención se hace reaccionar con un sustrato;

a es 0, 1, 2, 3 o 4;

b es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

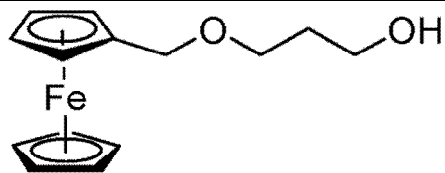
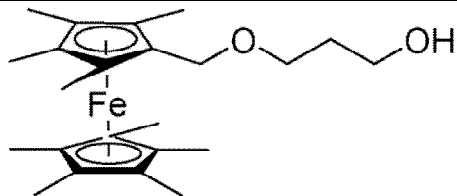
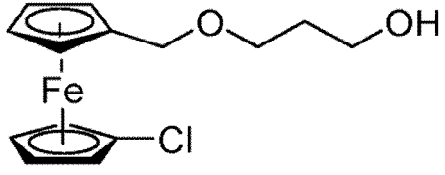
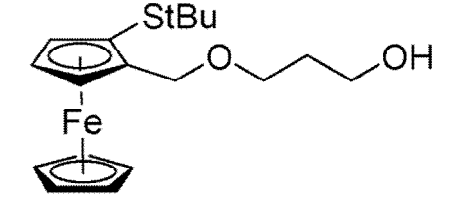
[S] es el residuo de un sustrato; y

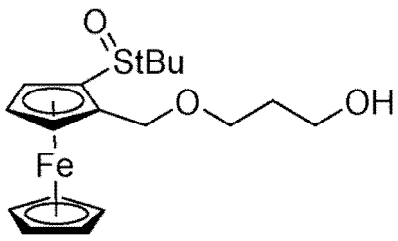
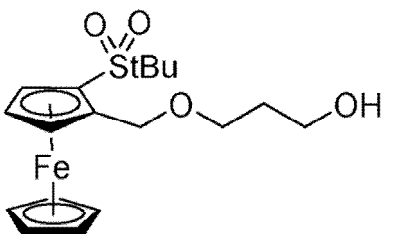
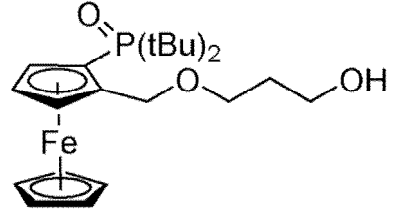
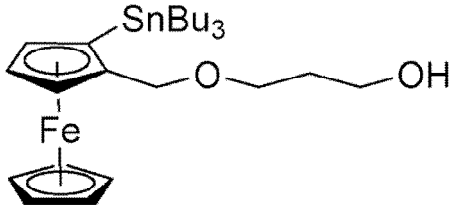
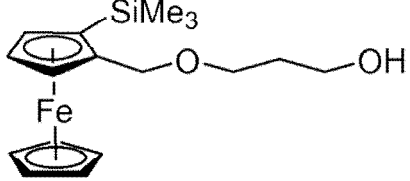
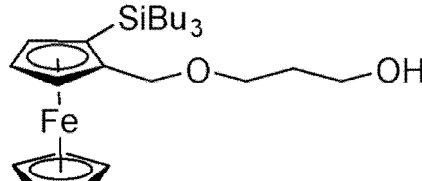
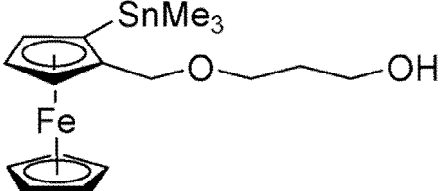
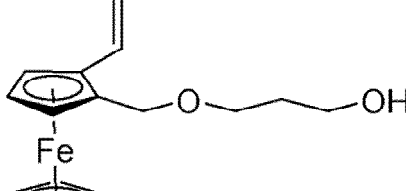
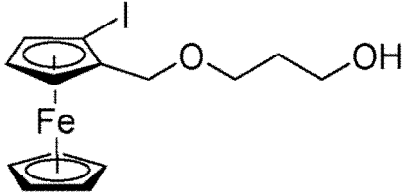
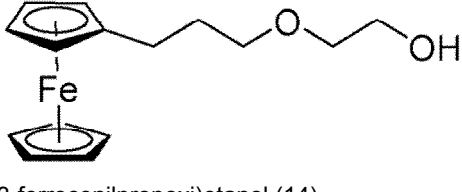
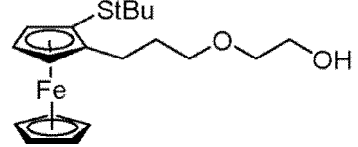
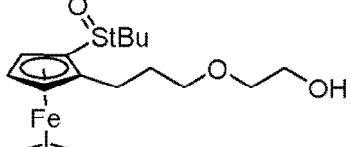
vinilo, alquilo, cicloalquilo, alquileno, arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo no sustituido, OH, CN, flúor, cloro, bromo y yodo.

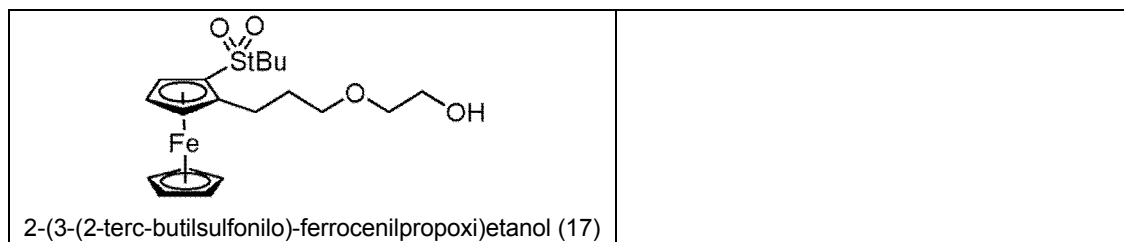
[0052] L' puede ser el residuo de L o F como se describe anteriormente, después de que un compuesto o derivado funcionalizado de la invención se reacciona con un sustrato. Preferiblemente, L' es el residuo de un grupo hidroxilo o un grupo fosforamidita. En una realización, [S] no es el residuo de un único nucleótido. En una realización, [S] es el residuo de un polipéptido, aminoácido o carbohidrato.

[0053] Los compuestos ilustrativos de la invención se muestran en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1: Compuestos ilustrativos de la invención

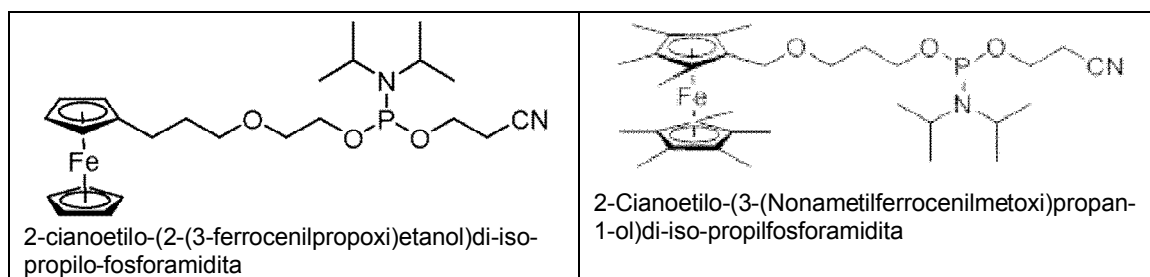
 3-(ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (1)	 3-(nonametilferrocenilmetoxi)propan-1-ol (2)
 3-((1'-cloro)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (3)	 3-((2-terc-butiltio)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (4)

5		
10	3-((2- <i>tert</i> -butylsulfinilo)-ferrocenylmethoxy)propan-1-ol (5)	3-((2- <i>tert</i> -butylsulfonilo)-ferrocenylmethoxy)propan-1-ol (6)
15		
20		3-(2-tributylstannilo-ferrocenylmethoxy)propan-1-ol (8)
25	3-((2-di- <i>tert</i> -butylfospinilo)-ferrocenylmethoxy)propan-1-ol (7)	
30		
35	2-trimethylsilylo-ferrocenylmethoxy)propan-1-ol (9)	3-(2-tributylsilylo-ferrocenylmethoxy)propan-1-ol (10)
40		
45	3-(2-trimethylstannilo-ferrocenylmethoxy)propan-1-ol (11)	3-(2-Vinilo-ferrocenylmethoxy)propan-1-ol (12)
50		
55	3-(2-yodo-ferrocenylmethoxy)propan-1-ol (13)	2-(3-ferrocenylpropoxy)ethanol (14)
60		
	2-(3-(2- <i>tert</i> -butiltio)-ferrocenylpropoxy)ethanol (15)	2-(3-(2- <i>tert</i> -butylsulfinilo)-ferrocenylpropoxy)ethanol (16)



[0054] Cualquiera de los compuestos en la Tabla 1 puede funcionalizarse mediante cualquier método adecuado, por ejemplo mediante fosforamidación. Los compuestos funcionalizados ilustrativos de la invención, funcionalizados con un grupo fosforamidito, se muestran en la Tabla 2 a continuación. La presente invención abarca sustratos marcados derivados de los compuestos en las tablas 1 y 2.

Tabla 2: Compuestos funcionalizados ilustrativos de la invención



Se cree que los compuestos de la invención, particularmente los que tienen sustituyentes que contienen azufre o que contienen fósforo en el resto ferrocenilo, y sus correspondientes derivados funcionalizados y sustratos marcados, serán útiles en ensayos en los que el potencial de medición será relativamente alto, por ejemplo, más de 400 mV, por ejemplo, más de 450 mV o incluso más de 500 mV. Los compuestos que tienen potenciales electroquímicos de al menos 450 mV, por ejemplo 500 mV o más, serán particularmente útiles para extender el rango de valores potenciales disponibles y, por lo tanto, por ejemplo, para proporcionar potencialmente ensayos múltiplex más efectivos. Se cree que los compuestos de la invención que tienen sustituyentes muy atrayentes de electrones en el resto ferrocenilo, por ejemplo, trifluorometilo o ciano, tienen ventajas similares en términos de ofrecer valores elevados de potencial electroquímico extendiendo así el rango de marcadores útiles y sustratos marcados. Los compuestos de la invención que son ricos en electrones, tales como el compuesto 2, son útiles para extender el rango de potenciales electroquímicos a bajos voltajes, por ejemplo a un voltaje <0 mV. Esto es particularmente ventajoso para ampliar el alcance de los ensayos múltiplex.

[0055] Adicionalmente, algunos compuestos de la invención, particularmente aquellos compuestos que llevan átomos de halógeno, y los sustratos etiquetados correspondientes ofrecen la ventaja de tener un pico de voltaje más estrecho, lo que es ventajoso al proporcionar la opción de utilizar un mayor número de etiquetas en un ensayo múltiplex, ya que los picos de medición más angostos producen brechas más amplias entre los picos, que pueden utilizarse si se desea incorporando etiquetas adicionales con potenciales que estarán dentro de las brechas.

[0056] La detección electroquímica se basa en la observación de que un marcador electroquímicamente activo exhibe diferentes características electroquímicas dependiendo de si está unido o no a un sustrato y de la naturaleza del sustrato. Por ejemplo, en el caso de una etiqueta electroquímica unida a un aminoácido, las características exhibidas dependerán no solo de la identidad del aminoácido sino también de si ese residuo de aminoácido se incorpora o no a un polipéptido, y de la longitud de cualquiera de tales polipéptidos. En circunstancias apropiadas, la actividad electroquímica de un marcador unido a un residuo de aminoácido puede cambiar en un grado detectable después de la pérdida de unión de uno o muy pocos residuos de aminoácidos.

[0057] El tamaño y las características de un sustrato al que está unido un marcador electroquímicamente activo influyen en las características observables del marcador electroquímico. Sin pretender imponer ninguna teoría, tal cambio en las características observables de la electroquímica puede producirse, por ejemplo, influyendo en la velocidad de migración del marcador por difusión o su velocidad de migración en respuesta a un campo eléctrico.

[0058] La actividad electroquímica de un marcador también puede estar influenciada por efectos estéricos que resultan de la presencia de la molécula a la que está unido. Por ejemplo, el impedimento estérico puede evitar que el marcador se acerque a un electrodo y acepte o done electrones.

[0059] Si el marcador está unido a un polipéptido, entonces la estructura secundaria del polipéptido (determinada en gran parte por la secuencia primaria) puede influir en las propiedades físicas del marcador. Por ejemplo, si el marcador está unido a un residuo de aminoácido en un polipéptido de manera que la estructura del polipéptido impide estéricamente el marcador electroquímicamente activo, entonces las señales observables por voltametría pueden reducirse. La digestión del polipéptido puede destruir o liberar elementos de estructura secundaria y así reducir o anular la influencia de la estructura peptídica en el marcador. Por consiguiente, la digestión del polipéptido da como resultado un cambio, habitualmente un aumento, en la señal electroquímica producida por el resto marcador. En un experimento de voltametría de pulso diferencial, la respuesta de corriente faradaica a un voltaje aplicado particular puede aumentar tras la digestión del péptido.

[0060] La información relacionada con el marcador electroquímicamente activo se puede obtener por voltametría o por un método amperimétrico. La voltametría de pulso diferencial es particularmente adecuada. Si se desea, la etapa de detección electroquímica se puede llevar a cabo usando uno o más electrodos cubiertos por una membrana que es capaz de excluir selectivamente las moléculas basándose en una o más características, por ejemplo, tamaño, carga o hidrofobicidad. Esto puede ayudar a eliminar la corriente de ruido de fondo que surge de, por ejemplo, especies cargadas en la solución.

[0061] De manera análoga, si un marcador está unido a un nucleótido, las características electroquímicas estarán influenciadas por si el nucleótido se incorpora o no en un ácido nucleico más complejo tal como un polinucleótido, en la longitud de ese ácido nucleico, y en la secuencia del ácido nucleico, especialmente en las proximidades del punto de unión.

[0062] La invención también proporciona un método para detectar un ácido nucleico (por ejemplo, ARN o ADN) en una muestra que comprende la etapa opcional de amplificar el ácido nucleico (por ejemplo, mediante PCR u otra técnica de amplificación de ácido nucleico) seguido del paso de poner en contacto el amplicón (o el ácido nucleico) con una sonda de ácido nucleico complementario en condiciones para permitir la hibridación entre la sonda y el amplicón (o el ácido nucleico), seguido de la etapa de degradación selectiva de la sonda hibridada o no hibridada (por ejemplo, mediante el uso de nucleasas de cadena simple o doble), donde dicha sonda se marca con un compuesto electroquímicamente activo de la invención y en donde el método proporciona la etapa de medir la actividad electroquímica del compuesto que marca la sonda en la que dicha actividad electroquímica es dependiente cuantitativa o cualitativamente en el grado de degradación de la sonda. Tal uso de marcadores electroquímicos en ensayos de hibridación de ácidos nucleicos viene descrito por Pearce et al. (2011) IEEE Trans Biomed Eng 58: 755-58.

[0063] La invención también proporciona un método para detectar un anticuerpo o derivado (que puede, por ejemplo, unirse al antígeno diana en un ensayo) con un compuesto electroquímicamente activo de la invención que comprende la etapa de medir la actividad electroquímica del compuesto. Este método se puede realizar cuantitativa o cualitativamente.

[0064] También se proporcionan métodos para diagnosticar o monitorizar una enfermedad en un sujeto que comprende el uso de un método de la invención en la detección de una proteasa o un inhibidor de proteasa asociado con dicha enfermedad en un tejido o fluido corporal del sujeto. Un sustrato para la proteasa puede marcarse de acuerdo con la invención. Los ejemplos de enfermedad que están asociados con la presencia de una proteasa o un inhibidor de proteasa en un tejido del sujeto incluyen la predisposición hereditaria a la tromboembolia causada por deficiencias en la antitrombina III en el suero sanguíneo. Los niveles elevados de catepsina en la matriz sérica o extracelular pueden ser indicativos de enfermedad de Alzheimer, cáncer o artritis. Preferiblemente, el tejido o fluido corporal del sujeto es suero, plasma, saliva, orina o cualquier otro tejido o fluido corporal del cual se puede obtener una muestra de manera conveniente y segura.

También se proporcionan métodos para diagnosticar una enfermedad en un sujeto que comprende usar un método de la invención para detectar un polipéptido asociado con dicha enfermedad en un tejido o fluido corporal del sujeto. También se proporcionan métodos para diagnosticar o monitorizar una enfermedad en un sujeto que comprende usar un método de la invención en la detección de una nucleasa o un inhibidor de nucleasa asociado con dicha enfermedad en un tejido o fluido corporal del sujeto.

También se proporciona el uso de un método de la invención para detectar una enfermedad en un sujeto. También se proporcionan métodos para detectar un microorganismo (en particular, un patógeno u otro organismo indeseable, por ejemplo un organismo de deterioro de los alimentos), que comprende usar un método de la invención. Un sustrato del microorganismo (o derivado del patógeno, por ejemplo, un amplicón de ácido nucleico producido usando una secuencia de ácido nucleico diana en el patógeno) puede marcarse de acuerdo con la invención. La detección del sustrato marcado puede usarse para indicar la detección del microorganismo. Preferiblemente, el microorganismo se selecciona del grupo que consiste en *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

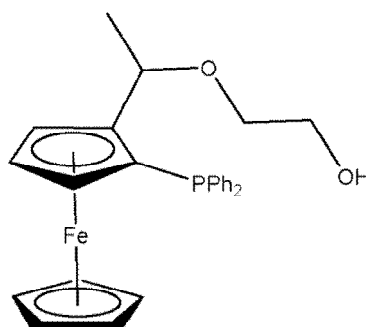
La invención también proporciona un ensayo que comprende una etapa que usa un sustrato marcado de la invención, opcionalmente en combinación con otros componentes de ensayo, por ejemplo un recipiente de muestra, un recipiente que comprende electrodos para detección electroquímica, enzimas para usar en el ensayo o patrones y controles. Dicho ensayo puede usar más de un sustrato marcado diferente de la invención. Si ese es el caso, la presencia de diferentes sustratos marcados puede detectarse diferencialmente etiquetándolos con etiquetas

electroquímicas de la invención que tienen diferentes características electroquímicas (por ejemplo, diferentes potenciales de oxidación) permitiendo así que el ensayo sea un ensayo múltiplex (por ejemplo, un dúplex) en el que diferentes sustratos pueden ser discriminados cuando están presentes en el mismo recipiente de muestra. Los ensayos simples también están abarcados por la invención.

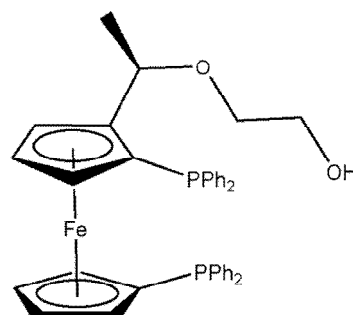
Como se ilustra en los ejemplos, la incorporación de uno o más sustituyentes en los grupos ferrocenilo se puede usar para obtener compuestos con características electroquímicas modificadas para uso en ensayos. Además, la invención proporciona una gama de compuestos de los que se pueden seleccionar dos o más para uso en reacciones múltiples y ensayos.

La unión de un compuesto o un derivado funcionalizado de la invención a un sustrato puede realizarse mediante cualquier enlace adecuado, típicamente mediante unión a una cadena lateral del sustrato. Se pueden usar grupos protectores de hidroxilo convencionales, por ejemplo los descritos por T.W. Greene y P.G.M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry" John Wiley and Sons, 4ª Edición, 2006. Un grupo protector de hidroxilo común adecuado para su uso en la presente invención es un éter de metilo; las condiciones de desprotección pueden comprender reflujo en HBr acuoso al 48% durante 1-24 horas, o agitando con tribromuro de borano en diclorometano durante 1-24 horas. Alternativamente, un grupo hidroxilo puede estar protegido como un éter de bencilo; las condiciones de desprotección pueden comprender hidrogenación con un catalizador de paladio bajo una atmósfera de hidrógeno. Se conocen varios métodos sintéticos en la técnica para la derivatización de sustratos. Por ejemplo, los residuos de lisina o lisina pueden derivatizarse por reacción con un éster de succinimido. Para la derivatización de otros aminoácidos y residuos de aminoácidos, se pueden usar otros métodos sintéticos conocidos. Por ejemplo, puede usarse un reactivo de maleimida para derivatizar residuos de cisteína o cisteína. Se puede usar un éster de N-hidroxisuccinimida para derivatizar el extremo amino o el grupo amino de la cadena lateral de un polipéptido o un aminoácido. Los métodos de derivatización adecuados para ácidos nucleicos también son bien conocidos, por ejemplo, usando un resto de fosoramidita.

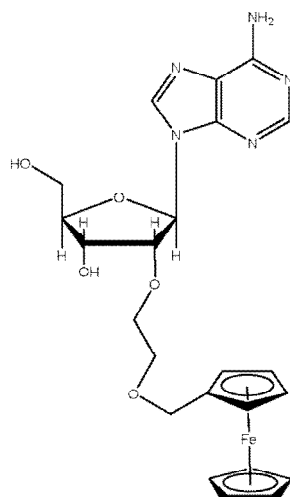
Un compuesto de la invención se puede unir a un sustrato mediante el uso de cualquier grupo funcionalizador que facilite la unión de un compuesto marcador a un sustrato. Los grupos de funcionalización adecuados incluyen grupos de éster succinimido, grupos fosoramidita, grupos maleimida, grupos biotina y azida. La unión de un compuesto de la invención a un polipéptido, por ejemplo a través de cisteína o lisina, puede realizarse en algunos casos mediante la incubación del polipéptido y el compuesto de la invención juntos a temperatura ambiente en una solución de tampón apropiada. Cuando la etiqueta se une ventajosamente a cisteína o lisina pero la secuencia de sustrato no contiene cisteína o lisina en una posición adecuada, la secuencia puede, si se desea, mutar para añadir uno o más residuos de cisteína o lisina como un residuo adicional o como una sustitución por otro residuo. Un método alternativo para la unión a polipéptidos incluye la biotinilación de los marcadores y el uso de proteínas comerciales estreptavidinadas (o viceversa). A modo de ejemplo, el sustrato puede biotinilarse mediante cualquier técnica estándar, por ejemplo, mediante el uso de un kit de biotinilación disponible comercialmente. El sustrato biotinilado se unirá a estreptavidina o compuestos conjugados con avidina tales como anticuerpos, que están disponibles comercialmente y ampliamente. En una realización, el compuesto de fórmula I no es



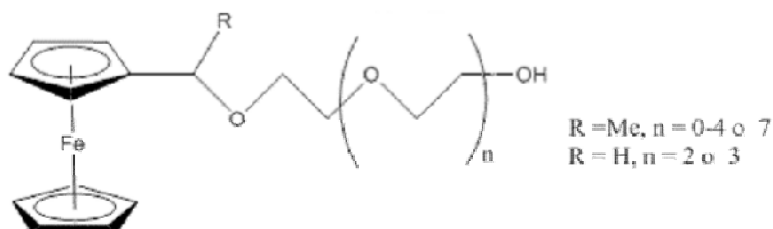
[0065] En una realización, el compuesto de fórmula I no es



[0066] En una realización, la invención no incluye



[0067] En una realización, el compuesto de fórmula I no es ninguno de



[0068] En una realización de los compuestos de la invención, Z no es $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$. En una realización de los compuestos de la invención, Y no es $-\text{CH}(\text{Me})-$. En una realización, X no es PPH_2 .

EJEMPLOS

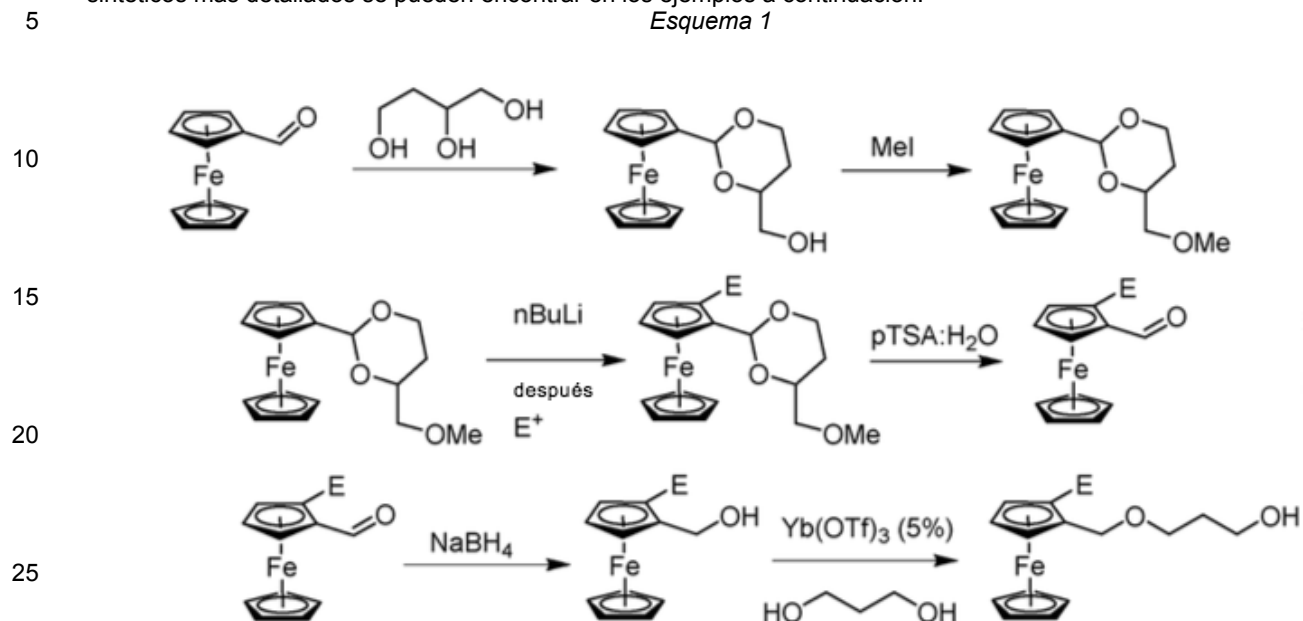
[0069] Los compuestos de la invención se pueden preparar de acuerdo con los procedimientos de los siguientes esquemas y ejemplos, usando materiales apropiados. Además, utilizando los procedimientos descritos en la presente memoria, un experto en la técnica puede preparar fácilmente compuestos adicionales que caen dentro del alcance de la presente invención. El lector comprenderá fácilmente que las variaciones conocidas de las condiciones y procesos de los siguientes procedimientos preparativos pueden usarse para preparar estos compuestos. Por lo tanto, la invención no debe interpretarse como limitada a los compuestos ilustrados en los ejemplos.

[0070] Las siguientes abreviaturas se han usado en los ejemplos:

DMSO	Dimetilsulfóxido
THF	Tetrahidrofurano
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
PCR	reacción en cadena de la polimerasa
pTSA	ácido <i>p</i> -toluenosulfónico
Tf	trifluorometanosulfonato
eq	equivalente(s)
TLC	cromatografía de capa fina
sab	saturado
HRMS	espectrometría de masas de alta resolución
ESI	ionización por electrospray

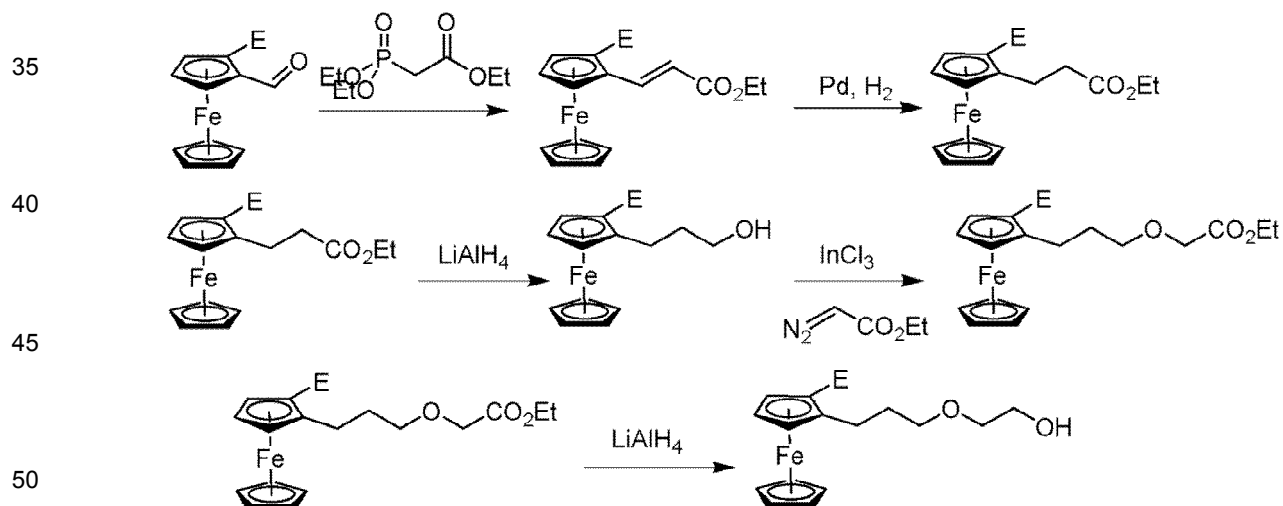
[0071] Los compuestos de acuerdo con la fórmula general I y II pueden prepararse usando métodos sintéticos convencionales, por ejemplo, pero sin limitación, las rutas descritas en los esquemas a continuación. Procedimientos sintéticos más detallados se pueden encontrar en los ejemplos a continuación.

Esquema 1



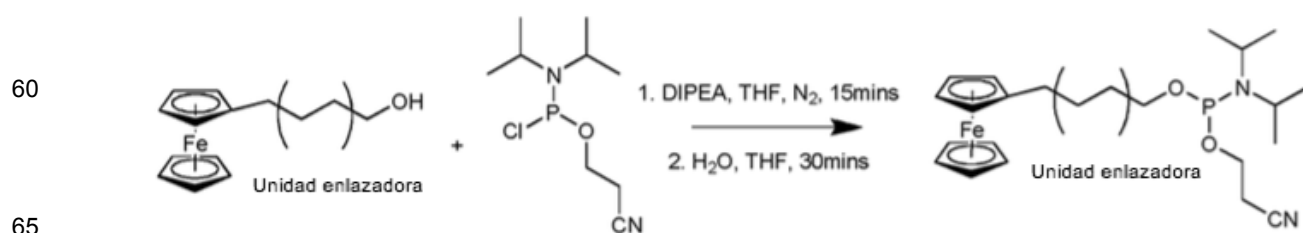
[0072] E⁺ es cualquier electrófilo adecuado útil para la sustitución de un grupo ferrocenilo.

Esquema 2



[0073] El esquema 3 ilustra el procedimiento sintético general para unir un grupo funcional de fosoramidita a un grupo conector hidroxilo.

Esquema 3



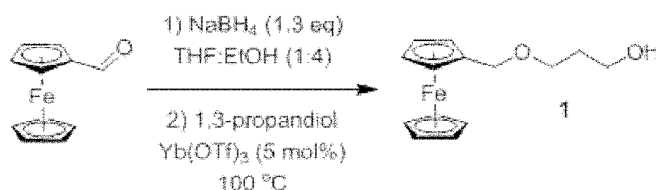
[0074] El derivado de ferrocenilo mostrado como material de partida en el esquema de reacción anterior es ilustrativo, y puede reemplazarse por un equivalente molar de cualquiera de los compuestos de la invención.

Determinación del potencial electroquímico

[0075] Los valores de potencial electroquímico mencionados a continuación se midieron usando una pila electroquímica que incluye electrólito de fondo y una solución acuosa de cloruro de sodio de 100 mM, usando un electrodo de trabajo de carbono impreso, un contraelectrodo de carbono impreso y un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata, todo con conectores plateados. Los electrodos se basaron en tinta y se imprimieron en serigrafía sobre un sustrato de polímero (por ejemplo Mylar®) seguido de curado térmico. A modo de ilustración, la muestra puede prepararse del siguiente modo: se prepara una solución madre de 0,01 M del compuesto de ferrocenilo en DMSO (1 cm³). Esto se diluye adicionalmente a 14 μM en tampón. Luego se aplica una alícuota de 20 μL de esta solución de 14 μM al electrodo impreso en la pantalla para ejecutar el escaneo electroquímico. Una forma ilustrativa de célula adecuada se describe y se muestra esquemáticamente en WO2012/085591.

Ejemplo 1: Preparación de 3-(ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (1)

[0076]

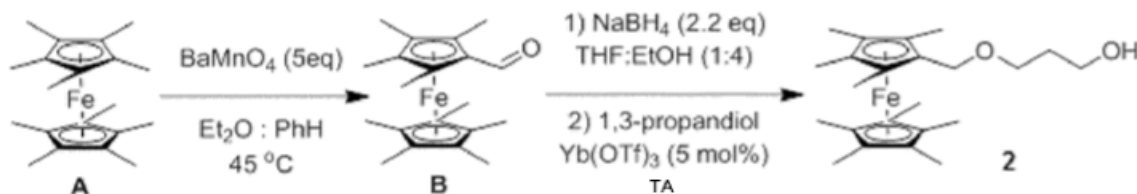


[0077] Se añadió carboxaldehído de ferroceno a un matraz de fondo redondo equipado con una barra agitadora magnética (535 mg, 2,5 mmol, 1 eq). El matraz se cargó después con etanol (4 cm³) y THF (1 cm³). La solución roja se trató luego con borohidruro de sodio (123 mg, 3,2 mmol, 1,3 eq). El matraz se selló luego y se colocó en una atmósfera de nitrógeno. Después de 30 minutos, la solución cambió de color a naranja y el análisis de TLC indicó el consumo total del material de partida. El matraz se concentró luego a ~90% del volumen original al vacío. El residuo naranja oscuro se recogió luego en EtOAc (15 cm³) y NaHCO₃ (15 cm³). La mezcla bifásica se transfirió a un embudo de separación, la capa acuosa se separó y luego se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³), los lavados orgánicos combinados se secaron luego sobre MgSO₄, se filtraron y luego se concentraron a vacío para dar un color amarillo sólido. El metanol de ferroceno se recogió luego en 1,3-propanodiol (5 cm³), la solución amarilla se trató luego con triflato de iterbio (III) (77 mg, 0,125 mmol, 5% en moles). El matraz se selló luego y se calentó a 100 °C. Después de calentarse durante 10 minutos, el análisis de TLC indicó el consumo total del material de partida. El matraz se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con H₂O (20 cm³) y EtOAc (20 cm³). La capa orgánica se separó luego y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Las capas orgánicas combinadas se lavaron a continuación con H₂O (20 cm³) y salmuera (saturada) (20 cm³), luego se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y luego se concentraron al vacío para dar un sólido naranja. La purificación se llevó a cabo luego por cromatografía en gel de sílice eluyendo con *n*-Hex 1:1 EtOAc para dar el producto deseado 3-(ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (1) como un polvo naranja (514 mg, 74%).

[0078] ¹H RMN (250 MHz, CDCl₃); δ_H: 4,24 (s, 4H), 4,11 (s, 6H), 3,65 (t, 2H, J = 5,4 Hz), 3,54 (t, 2H J = 5,4 Hz), 3,65 (t, 2H J = 5,4 Hz), 2,52 (br s, 1H), 1,7 (quin 2H, J = 5,6 Hz); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃); δ_C: 83,6, 77,3, 71,5, 69,4, 69,3, 69,2, 68,7, 32,0; HRMS (ESI μTOF) calculado para C₁₄H₁₈FeO₂Na m/z 297,0553 encontrado 297,0560 (m/z + Na⁺); Potencial electroquímico: 181 mV.

Ejemplo 2: Preparación de 3-(nonametilferrocenilmetoxi)propan-1-ol (2)

[0079]



Carboxaldehído de nonametilferroceno (B)

[0080] Se colocó decametilferroceno (A) (4,80 g, 14,7 mmol) en un matraz de fondo redondo equipado con una barra agitadora magnética. A continuación, se añadió al matraz manganato de bario recién molido y recién molido (18,77 g, 73,6 mmol, 5 eq). Los sólidos se suspendieron entonces en una mezcla de benceno seco (20 cm³) y éter dietílico seco (20 cm³). El matraz se selló luego y se colocó en una atmósfera de nitrógeno. La suspensión azul oscura se soncó luego durante 45 minutos. Después de este tiempo, el matraz se retiró del sonicador y se calentó a 45°C durante 16 horas. Después de este tiempo, la suspensión espesa oscura se filtró a través de una almohadilla de celite y los sólidos se lavaron con EtOAc (250 cm³) hasta que los lavados se aclararon. La solución roja se concentró luego al vacío para dar un sólido rojo. La purificación por cromatografía en sílice eluyendo con 5% de EtOAc: *n*Hex + 2% de TEA dio el producto carboxaldehído de nonametilferroceno (**B**) como un sólido cristalino rojo oscuro (1,19 g, 23%).

[0081] ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ_H: 9,91 (s, 1H), 1,92 (s, 6H), 1,71 (s, 6H), 1,59 (s, 15H), ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ_C: 195,6, 86,0, 82,7, 80,6, 78,3, 72,5, 9,3, 9,3, 8,9, HRMS (ESI μTOF) calculado para C₂₀H₂₉FeO m/z 341,1484 encontrado 341,1485 (m/z + H).

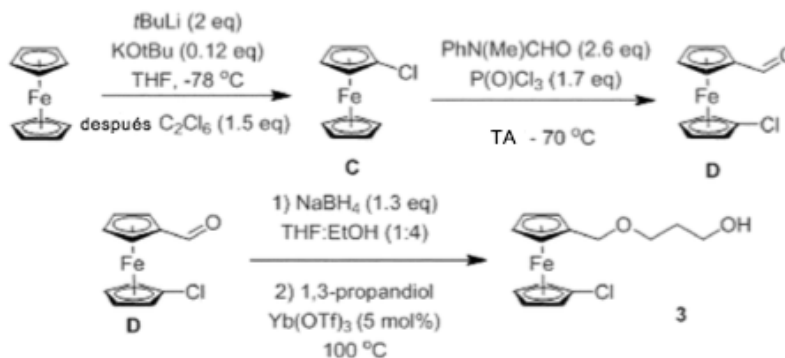
3-(Nonametilferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**2**)

[0082] El carboxaldehído de nonametilferroceno (**B**) (3,43 g, 10,08 mmol, 1 eq) se colocó en un matraz de fondo redondo equipado con una barra agitadora magnética. El matraz luego se cargó con etanol (44 cm³) y 1,4-dioxano (11 cm³), la solución roja se trató luego con borohidruro sódico (820 mg, 22,18 mmol, 2,2 eq). El matraz se selló luego, se colocó en una atmósfera de argón y se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de este tiempo, el análisis de TLC indicó el consumo total del material de partida. La solución naranja se concentró a vacío hasta aproximadamente el 90% del volumen original. El sólido naranja se dividió entre H₂O (50 cm³) y CH₂Cl₂ (50 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con CH₂Cl₂ (3 x 15 cm³). Los extractos orgánicos combinados se combinaron a continuación, se lavaron con salmuera (saturada) (50 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un sólido naranja. El alcohol bruto se suspendió luego en 1,3-propanodiol (50 cm³), CH₂Cl₂ (10 cm³) para dar una solución roja. La solución se trató luego con triflato de iterbio (III) (334 mg, 0,54 mmol, 5% en moles). El matraz se selló luego y se colocó en atmósfera de nitrógeno. Después de agitarse durante 30 minutos a temperatura ambiente, el análisis de TLC mostró el consumo total del material de partida. La reacción se diluyó a continuación con H₂O (150 cm³) y CH₂Cl₂ (100 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 15 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron entonces con H₂O (3 x 50 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite naranja. Purificación por cromatografía de sílice eluyendo con 10% de EtOAc: *n*Hex + 2% de TEA para dar el producto deseado 3-(Nonametilferrocenilmetiloxi)propan-1-ol (**2**) como un polvo amarillo 3.16 g, 78%.

[0083] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H: 4,31 (s, 2H), 3,71 (s, 2H), 3,52 (t, 2H, *J* = 5,7 Hz), 2,18 (s, 2H), 1,85 (s, 6H), 1,70 (s, 22 H), ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ_C: 83,6, 77,3, 71,5, 69,4, 69,3, 69,2, 68,7, 32,0; HRMS (ESI μTOF) calculado para C₂₃H₃₆FeO₂Na m/z 423,1962 encontrado 423,1955 (m/z + Na⁺); Potencial electroquímico: -151 mV.

Ejemplo 3: Preparación de 3-((1'-cloro)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**3**)

[0084]



[0085] El cloroferroceno (**C**) se preparó a partir de ferroceno usando un procedimiento modificado de J. Organomet. Chem., 1996, 512, 219-224, usando hexacloroetano como reactivo de cloración.

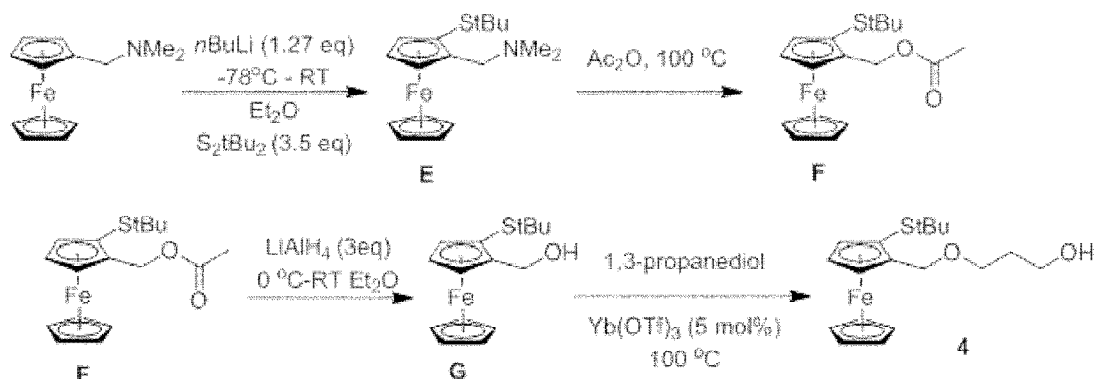
[0086] El 1'-cloroferrocenocarboxaldehído (**D**) se preparó a partir de cloroferroceno, usando el procedimiento de Coll. Checoslovak. Chemm. Commun., 1987, 52, 174-181, como una mezcla 4:1 del regioisómero deseado.

[00887] El 1'-cloroferrocenocarboxaldehído (**D**) (426 mg, 1,7 mmol, 1 eq) se colocó en un matraz de fondo redondo equipado con barra agitadora magnética y se disolvió en etanol (4 cm³) y THF (1 cm³). La solución roja se trató a continuación con borohidruro de sodio (83 mg, 2,2 mmol, 1,3 eq), el matraz se selló y se colocó en una atmósfera de nitrógeno. Después de 30 minutos, la solución se volvió anaranjada y el análisis de TLC indicó el consumo total del material de partida. El matraz se concentró luego a ~90% del volumen original al vacío. El residuo naranja oscuro se recogió en EtOAc (15 cm³) y NaHCO₃ (sat) (15 cm³). La mezcla bifásica se transfirió a un embudo de separación, la capa acuosa se separó y luego se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los lavados orgánicos combinados se combinaron luego se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y luego se concentraron a vacío para dar un aceite naranja/amarillo. El metanol de ferroceno se recogió luego en 1,3-propanodiol (3 cm³), la solución amarilla se trató luego con triflato de iterbio (III) (56 mg, 0,09 mmol, 5% en moles). El matraz se selló luego y se calentó a 100°C, después de calentarlo durante 10 minutos, el análisis por TLC indicó el consumo total del material de partida. El matraz se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con H₂O (10 cm³) y EtOAc (10 cm³). La capa orgánica se separó luego y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Las capas orgánicas combinadas se lavaron a continuación con H₂O (20 cm³) y salmuera (saturada) (20 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y a continuación se concentraron a vacío para dar un aceite marrón. La purificación se llevó a cabo luego por cromatografía en gel de sílice eluyendo con 25% de EtOAc: *n*Hex para dar el producto deseado 3-((1'-cloro)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**3**) como un aceite naranja (297 mg, 57%) como una mezcla 4:1 de regioisómeros.

[00888] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H (mayor) 4,26 (t, *J* = 1,9 Hz, 2H), 4,19-4,13 (m, 4H), 4,03 (t, *J* = 1,9 Hz, 2H), 3,78 (t, *J* = 1,9 Hz, 2H), 3,69 (s, 2H), 3,46 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H), 1,73 - 1,65 (m, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C (mayor) 93,3, 86,2, 71,5, 71,0, 69,6, 69,3, 69,0, 67,2, 62,0, 33,1; HRMS (ESI μTOF) calculado para C₁₄H₁₇ClFeO₂Na *m/z* 331,0164 encontrado 331,0144 (*m/z* + Na⁺); Potencial electroquímico: 352 mV.

Ejemplo 4: Preparación de 3-((2-*terc*-butiltio)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**4**)

[0089]



[0090] Se preparó 1-[(dimetilamino)metilo]-2-(*tert*-butiltio)-ferroceno (**E**) usando el procedimiento de Organomet., 1988, 7, 1297-1302.

1-[(Acetoxi)metilo]-2-(*terc*-butiltio)-ferroceno (**F**)

[0091] Se disolvió 1-[(dimetilamino)metilo]-2-(*tert*-butiltio)-ferroceno (**E**) (1,21 g, 3,49 mmol) en anhídrido acético (10 cm³). La solución marrón se calentó a reflujo durante 1 hora; TLC en este momento indicó el consumo total del material de partida. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente, la solución se concentró al vacío hasta aproximadamente el 90% del volumen original. El aceite marrón resultante se recogió luego en EtOAc (25 cm³) y se lavó con NaHCO₃ (saturado) (20 cm³) y salmuera (saturada) (20 cm³). La solución marrón se secó luego sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para dar 1-[(acetoxi)metilo]-2-(*terc*-butiltio)-ferroceno (**F**) como un aceite naranja/marrón (1,12 g, 93%) sin necesidad de una mayor purificación.

[0092] ¹H RMN (250 MHz, C₆D₆) δ_H 5,37 (d, *J* = 1,43 Hz, 2H), 4,51 (dd, *J* = 2,6, 1,4 Hz, 1H), 4,44 (dd, *J* = 2,6, 1,4 Hz, 1H), 4,07 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 4,07 (s, 5H), 1,82 (s, 3H), 1,33 (s, 9H).

2-*terc*-butiltio ferroceno metanol (**G**)

[0093] A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (369 mg, 9,71 mmol) en Et₂O (15 cm³) a 0°C se añadió 1-[(Acetoxi)metilo]-2-(*terc*-butiltio)-ferroceno (**F**) (1,12 g, 3,23 mmol) gota a gota mediante una jeringa.

[0094] Una vez que se completó la adición, la suspensión se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos. Después de este tiempo, el matraz se enfrió a 0°C y luego se sofocó mediante la adición

secuencial de H₂O (369 µl), seguido de NaOH al 15% (ac) (369 µl) y H₂O (1,1 cm³). La suspensión se dejó luego calentar a temperatura ambiente, se agitó durante 10 minutos, se filtró y se concentró a vacío para dar 2-*tert*-butiltio ferroceno metanol (**G**) como un sólido naranja (790 mg, 80%) sin la necesidad de purificación adicional.

5 **[0095]** ¹H RMN (250 MHz, C₆D₆) δ_H 4,64 (s, 2H), 4,41 (dd, *J* = 2,4, 1,5 Hz, 1H), 4,32 (dd, *J* = 2,4, 1,5 Hz, 1H), 4,17 (s, 5H), 4,08 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 1,28 (s, 9H).

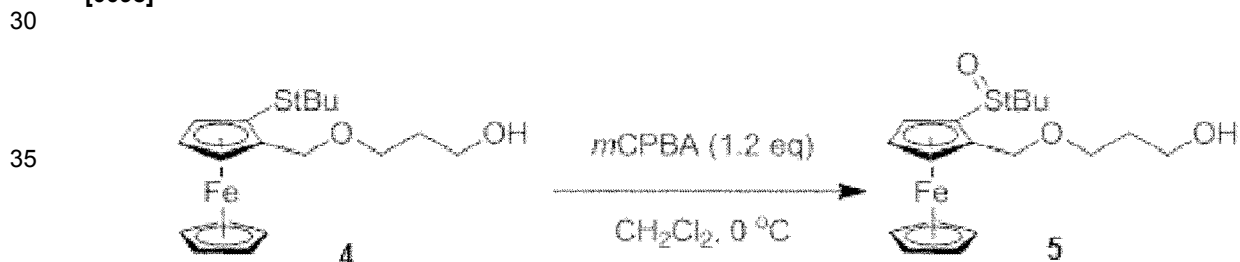
3-((2-*tert*-butiltio)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**4**).

10 **[0096]** El 2-*tert*-butiltio ferroceno metanol (**G**) (778 mg, 2, 5 mmol) se colocó en un matraz de fondo redondo equipado con una barra agitadora magnética, y luego se suspendió en 1,3-propandiol (10 cm³). La suspensión amarilla se trató luego con triflato de iterbio (III) (79 mg, 0,125 mmol, 5% en moles), el matraz se selló, se colocó en una atmósfera de nitrógeno y después se calentó a 100°C. Después de 10 minutos, el análisis de TLC indicó el consumo total del material de partida. La solución marrón se dejó enfriar a temperatura ambiente, luego se diluyó con H₂O (20 cm³) y EtOAc (20 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 10 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (sat) (2 x 10 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite naranja. Purificación por cromatografía de sílice eluyendo con 20% de EtOAc: *n*-Hex para dar el producto deseado 3-((2-*tert*-butiltio)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**4**) como un aceite naranja (899 mg, 99 %).

20 **[0097]** ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,55 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 4,42 (dd, *J* = 2,5, 1,4 Hz, 1H), 4,40 (dd, *J* = 2,6, 1,6, 1H), 4,32 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 4,14 (s, 5H), 4,09 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 3,73 (q, *J* = 5,8 Hz, 2H), 3,57 (qt, *J* = 9,0, 5,8 Hz, 2H), 2,10 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 1,74 (p, *J* = 5,8 Hz, 2H), 1,32 (s, 9H). ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 88,6, 77,7, 77,5, 71,0, 70,7, 70,2, 69,5, 68,4, 62,0, 45,7, 33,2, 31,4.; HRMS (ESI µTOF) calculado para C₁₈H₂₆FeO₂SNa *m/z* 385,0918 encontrado 385,0900 (*m/z* + Na⁺); Potencial electroquímico: 352 mV.

Ejemplo 5 : Preparación de 3-((2-*tert*-butilsulfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**5**)

[0098]

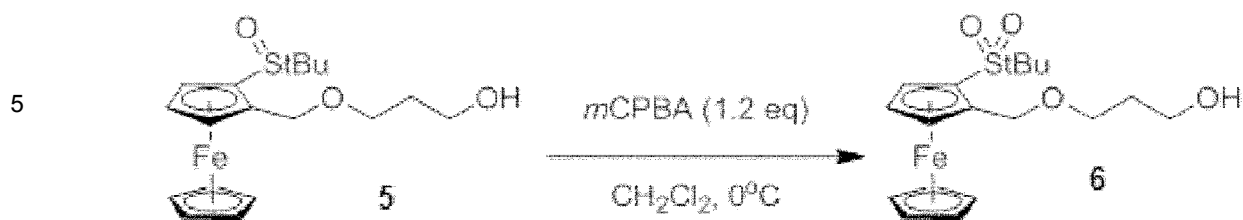


40 **[0099]** El 3-((2-*tert*-butiltio)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**4**) (459 mg, 1.2 mmol, 1 eq) se disolvió en CH₂Cl₂ (10 cm³), el matraz se colocó bajo una atmósfera de nitrógeno y se enfrió a 0°C. Una vez que se añadió ácido 3-cloroperbenzoico frío (258 mg, 1,5 mmol, 1,2 eq) en una porción. La solución se agitó luego a 0°C durante 15 minutos. Después de este tiempo, el análisis de TLC indicó el consumo total del material de partida. La reacción se sofocó luego mediante la adición de NaHCO₃ (sat) (15 cm³) y se agitó vigorosamente durante 5 minutos. Después de este tiempo, la capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 5 cm³). Los orgánicos combinados se lavaron a continuación con salmuera (saturada) (10 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite marrón oscuro. La purificación por cromatografía en sílice eluyendo con EtOAc dio el producto deseado 3-((2-*tert*-butilsulfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**5**) en forma de sólido naranja amorfo (349 mg, 77%).

50 **[0100]** ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,82 (dd, *J* = 2,6, 1,5 Hz, 1H), 4,38 (s, 5H), 4,34-4,22 (m, 2H), 4,18 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H), 4,11 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 3,77 (q, *J* = 5,5 Hz, 2H), 3,55 (ddd, *J* = 9,0, 5,5, 5,5 Hz, 1H), 3,46 (ddd, *J* = 9,0, 5,5, 5,5 Hz, 1H), 2,59 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H), 1,79 (p, *J* = 5,5 Hz, 2H), 1,19 (s, 8H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 88,7, 87,1, 72,0, 71,4, 69,7, 69,4, 68,0, 66,9, 61,1, 55,8, 33,4, 23,4; HRMS (ESI µTOF) calculado para C₁₈H₂₆FeO₃SNa *m/z* 401,08497 encontrado 401,0838 (*m/z* + Na⁺); Potencial electroquímico: 474 mV.

Ejemplo 6: Preparación de 3-((2-*tert*-butilsulfonyl)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**6**)

60 **[0101]**

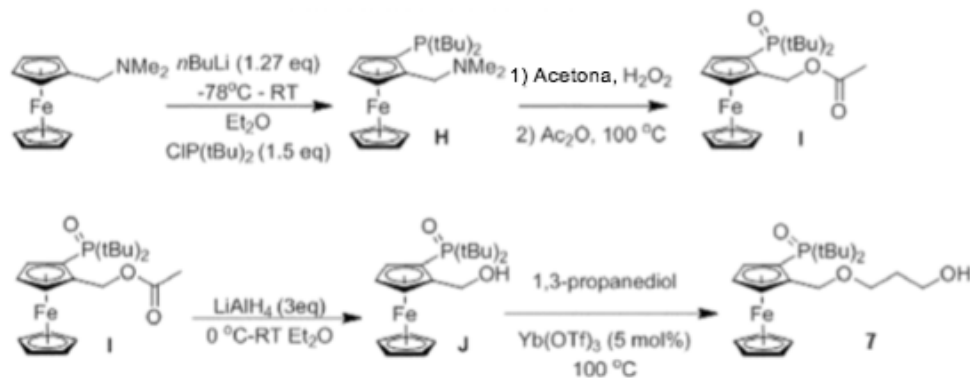


[0102] El 3-((2-*tert*-butilsulfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**5**) (349 mg, 0,92 mmol, 1 eq) se disolvió en CH_2Cl_2 (10 cm^3), el matraz se colocó bajo una atmósfera de nitrógeno y se enfrió a 0°C. Una vez frío, se añadió ácido 3-cloroperbenzoico (190 mg, 1,1 mmol, 1,2 eq) en una porción. La solución se agitó luego a 0°C durante 30 minutos. Después de este tiempo, el análisis de TLC indicó el consumo total del material de partida. La reacción se sofocó luego mediante la adición de NaHCO_3 (sat) (15 cm^3) y se agitó vigorosamente durante 5 minutos. Después de este tiempo, la capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 5 cm^3). Los orgánicos combinados se lavaron a continuación con salmuera (saturada) (10 cm^3), se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite marrón oscuro. La purificación por cromatografía de sílice eluyendo con EtOAc al 40%: *n*-Hex dio el producto deseado 3-((2-*tert*-butilsulfonyl)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**6**) como un sólido amarillo (256 mg, 70%).

[0103] ^1H RMN (300 MHz, C_6D_6) δ_{H} 4,77 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,58 (dd, $J = 2,5, 1,6$ Hz, 1H), 4,46 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,40 (s, 5H), 4,36 (dd, $J = 2,5, 1,6$ Hz, 1H), 4,03 (t, $J = 2,5$ Hz, 1H), 3,71 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H), 3,61-3,50 (m, 2H), 2,05 (s, 1H), 1,77 - 1,68 (m, 2H), 1,27 (s, 9H); ^{13}C RMN (75 MHz, C_6D_6) δ_{C} 86,7, 82,9, 73,7, 73,2, 72,1, 70,4, 70,1, 67,5, 61,7, 59,2, 33,2, 23,9; HRMS (ESI μTOF) calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{FeO}_4\text{SNa}$ m/z 418,0833 encontrado 418,0824 ($m/z + \text{H}$); Potencial electroquímico: 584 mV.

Ejemplo 7: Preparación de 3-((2-*di-tert*-butilfosfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**7**)

[0104]



[0105] Se preparó 1-[(dimetilamino)metilo]-2-(*t*-*di-tert*-butilfosfonilo)-ferroceno (**H**) adaptando el procedimiento de Organomet., 1988, 7, 1297-1302, con *di-tert*-butilclorofosfina como el electrófilo.

1-[(Acetoxi)metilo]-2-(*di-tert*-butilfosfinilo)-ferroceno (**I**)

[0106] El 1-[(dimetilamino)metilo]-2-(*t*-*di-tert*-butilfosfonilo)-ferroceno (**H**) (4,82 g, 12,5 mmol, 1 eq) se colocó en un matraz de fondo redondo con una barra agitadora magnética, y disuelta en acetona (30 cm^3). La solución naranja se enfrió luego a 0°C. Una vez fría, la solución se trató con H_2O_2 (50% en peso) (812 μl , 14,3 mmol, 1,15 eq) gota a gota durante un período de 2 minutos. Una vez que se completó la adición, el matraz se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de agitarse durante 15 minutos, la reacción se completó. El matraz se volvió a enfriar a 0°C y luego se inactivó mediante la adición de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (sat) (30 cm^3). La solución se diluyó adicionalmente con EtOAc (50 cm^3), la capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 30 cm^3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron a continuación con salmuera (sat) (30 cm^3), se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite rojo espeso. Este aceite rojo se recogió en anhídrido acético (30 cm^3), luego se calentó a 100°C durante 2 horas. Después de este tiempo, la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente, la solución marrón se concentró luego a aproximadamente el 90% del volumen original. El aceite marrón resultante se recogió luego en EtOAc (50 cm^3). La solución se lavó luego con 2M NaOH (20 cm^3), H_2O (2 X 20 cm^3) y salmuera (saturada) (50 cm^3). La capa orgánica se secó luego sobre MgSO_4 , se filtró y luego se concentró a vacío.

para dar un aceite marrón. La purificación por cromatografía de alúmina básica, eluyendo con EtOAc dio el producto deseado 1-[(acetoxi)metilo]-2-(di-*tert*-butilfosfinilo)-ferroceno (I) como un aceite rojo (2,30 g, 44%). ^1H RMN (300 MHz, C_6D_6) δ_{H} 5,87 (d, $J = 12,3$ Hz, 1H), 5,62 (d, $J = 12,3$ Hz, 1H), 4,58-4,47 (m, 1H), 4,19-4,06 (m, 6H), 3,80 (br s, 1H), 1,85 (s, 3H), 1,48 (d, $J^{\text{P-H}} = 16,7$ Hz, 9H), 1,21 (d, $J^{\text{P-H}} = 16,7$ Hz, 9H); $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (122 MHz, C_6D_6) δ_{P} 58,59; ^{13}C RMN (75 MHz, C_6D_6) δ_{C} 170,5, 72,5, 71,3, 62,4, 60,4, 42,2, 41,4, 38,0, 37,3, 37,2, 36,5, 27,7, 27,0, 26,9, 21,1, 14,6.; HRMS (ESI μTOF) calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{FeO}_3\text{PNa}$ m/z 441,1257 encontrado 441,1265 ($m/z + \text{Na}^+$).

Metanol 2-(di-*tert*-Butilo-fosfinilo)-ferroceno (J)

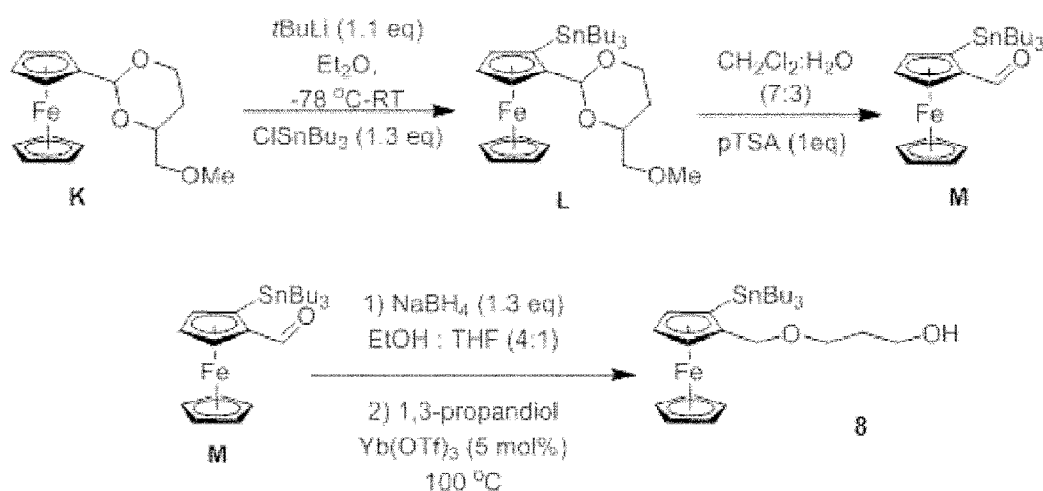
[0107] A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (628 mg, 16,5 mmol, 3 eq) en éter dietílico seco (10 cm^3) bajo nitrógeno a 0°C , se añadió el 2-di-*tert*-butilfosfinilo-acetoxi metilo ferroceno (I) (2,30 g, 5,5 mmol, 1 eq) en éter dietílico seco (10 cm^3) gota a gota a través de una jeringa durante un período de 2 minutos. Una vez que se completó la adición, el matraz se calentó a reflujo durante la noche. Después de este tiempo, el matraz se enfrió luego a 0°C y la reacción se inactivó luego mediante la adición secuencial de H_2O (628 μl), NaOH al 15% (ac) (628 μl) y H_2O (1,88 cm^3). La suspensión espesa de naranja se dejó agitar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Los sólidos se eliminaron después por filtración y luego se lavaron con Et_2O hasta que los lavados se aclararon. La solución naranja se concentró a continuación a vacío para dar el producto deseado metanol 2-(di-*tert*-Butilo-fosfinilo)-ferroceno (J) como un polvo naranja (2,03 g, 99%) sin la necesidad de purificación adicional. ^1H RMN (300 MHz, C_6D_6) δ_{H} 6,84 (brs, 1H), 4,69 (dd, $J = 13,0, 3,4$ Hz, 1H), 4,49 (dd, $J = 13,0, 8,4$ Hz, 1H), 4,23 (s, 5H), 4,19-4,13 (m, 1H), 4,04 (dd, $J = 4,3, 2,3$ Hz, 1H), 3,77 (brs, 1H), 1,45 (d, $J = 13,8$ Hz, 10H), 0,99 (d, $J = 13,8$ Hz, 9H), $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (122 MHz, C_6D_6) δ_{P} 62,27; ^{13}C RMN (75 MHz, C_6D_6) δ_{C} 98,3, 72,7, 72,6, 72,5, 72,3, 71,3, 70,2, 70,1, 60,7, 38,2, 37,3, 36,9, 36,1, 27,2, 26,7.; HRMS (ESI μTOF) calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{FeO}_2\text{P}$ m/z 377,2349 encontrado 377,2301 ($m/z + \text{H}$).

3-((2-di-*tert*-butilfosfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (7)

[0108] El metanol 2-di-*tert*-butilo-fosfinilo-ferroceno (J) (376 mg, 1 mmol, 1 eq) se suspendió en 1,3-propanodiol (5 cm^3). La suspensión se trató con triflato de iterbio (III) (31 mg, 0,05 mmol, 5% en moles). El matraz se selló y luego se calentó a 100°C durante 15 minutos. El matraz se dejó enfriar a temperatura ambiente y la solución se diluyó con H_2O (15 cm^3) y EtOAc (30 cm^3). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm^3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron luego con H_2O (3 x 5 cm^3) y salmuera (sat) (10 cm^3). Los extractos orgánicos combinados se secaron luego sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite marrón. La purificación por cromatografía de alúmina básica eluyendo con EtOAc dio el producto deseado 3-((2-di-*tert*-butilfosfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (7) como un aceite naranja (157 mg, 36%). ^1H RMN (300 MHz, C_6D_6) δ_{H} 5,47 (brs, 1H), 4,77 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 4,6-4,52 (m, 2H), 4,21-4,13 (m, 7H), 4,03-3,84 (m, 3H), 3,81 (brs, 1H), 2,09-1,95 (m, 2H), 1,47 (d, $J = 13,6$ Hz, 9H), 1,05 (d, $J = 13,6$ Hz, 9H), $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (122 MHz, C_6D_6) δ_{H} 60,53, ^{13}C RMN (75 MHz, C_6D_6) δ_{H} 92,2, 72,9, 72,8, 72,4, 72,2, 72,2, 71,4, 71,3, 71,0, 71,0, 70,9, 69,1, 68,8, 59,4, 38,1, 37,3, 37,1, 36,3, 33,8, 27,5, 27,1 ; HRMS (ESI μTOF) calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{FeO}_3\text{PNa}$ m/z 457,1639 encontrado 457,1626 ($m/z + \text{Na}^+$); Potencial electroquímico: 419 mV.

Ejemplo 8: Preparación de 3-(2-tributilestannilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (8)

[0109]



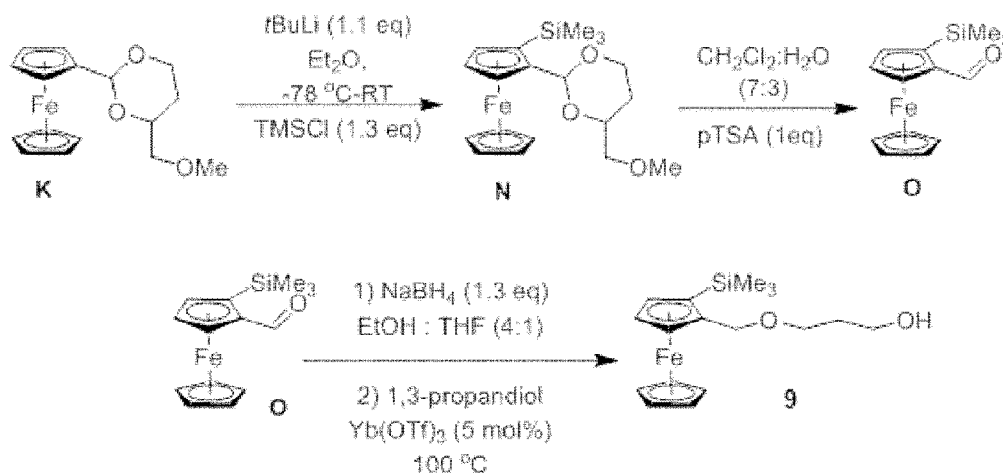
[0110] Se prepararon (*rac*)-4-(metoximetilo)-2-ferrocenilo-1,3-dioxano (K), (*rac*)-4-(metoximetilo)-2-(α -(tributilestannilo)-ferroceno)-1,3-dioxano (L) y 2-tributilestannilo ferroceno carboxaldehído (M) de acuerdo con los

procedimientos en J. Org. Chem., 1997, 62, 6733 - 6745. Se disolvió 2-tributylestannilo ferroceno carboxaldehído (M) (447 mg, 0,88 mmol, 1 eq) en una mezcla de EtOH: THF (4:1) (5 cm³). La solución roja se trató después con borohidruro sódico (42 mg, 1,1 mmol, 1,3 eq) y la solución roja se agitó luego a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de este tiempo, la solución ahora naranja se trató con H₂O (10 cm³) y se diluyó con EtOAc (10 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron después con salmuera (saturada) (10 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar el alcohol deseado en forma de un aceite naranja. El aceite se suspendió en 1,3-propanodiol (3 cm³), luego se trató con triflato de iterbio (III) (27 mg, 0,044 mmol, 5% en moles). El matraz se selló, luego se calentó a 100°C durante 10 minutos. El matraz luego se enfrió a temperatura ambiente y la solución se diluyó con H₂O (10 cm³) y EtOAc (10 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron entonces con salmuera (sat) (25 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía en sílice eluyendo con 20% de EtOAc: *n*-Hex dio el producto deseado 3-(2-tributylestannilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (8) como un aceite naranja (280 mg, 57%)

[0112] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,43-4,33 (m, 2H), 4,28 (t, *J* = 2,3 Hz, 1H), 4,18-4,09 (m, 7H), 3,70 (q, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,58 (ddd, *J* = 9,1, 5,6, 5,5 Hz, 1H), 3,49 (ddd, *J* = 9,1, 5,6, 5,5 Hz, 1H), 1,81-1,73 (m, 6H), 1,63-1,46 (m, 6H), 1,31-1,25 (m8H), 1,07 (t, *J* = 7,3 Hz, 9H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 89,9, 76,1, 72,7, 71,4, 71,2, 69,4, 69,2, 61,9, 33,1, 30,1, 28,3, 14,3, 11,2.; ¹¹⁵Sn {¹H} RMN (112 MHz, C₆D₆) δ_{Sn} -20,71. HRMS (ESI μTOF) calculado para C₂₆H₄₈FeO₂SnNa *m/z* 587,1610 encontrado 587,1607 (*m/z* + Na⁺); Potencial electroquímico: 303 mV.

Ejemplo 9: Preparación de 3-(2-trimetilsililo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (9)

[0113]



[0114] Se prepararon (*rac*)-4-(metoximetilo)-2-ferrocenilo-1,3-dioxano (**K**), (*rac*)-4-(metoximetilo)-2-(α-(trimetilsililo)-ferroceno)-1,3-dioxano (**N**) y 2-trimetilsililo ferroceno carboxaldehído (**O**) de acuerdo con los procedimientos en J. Org. Chem., 1997, 62, 6733 - 6745.

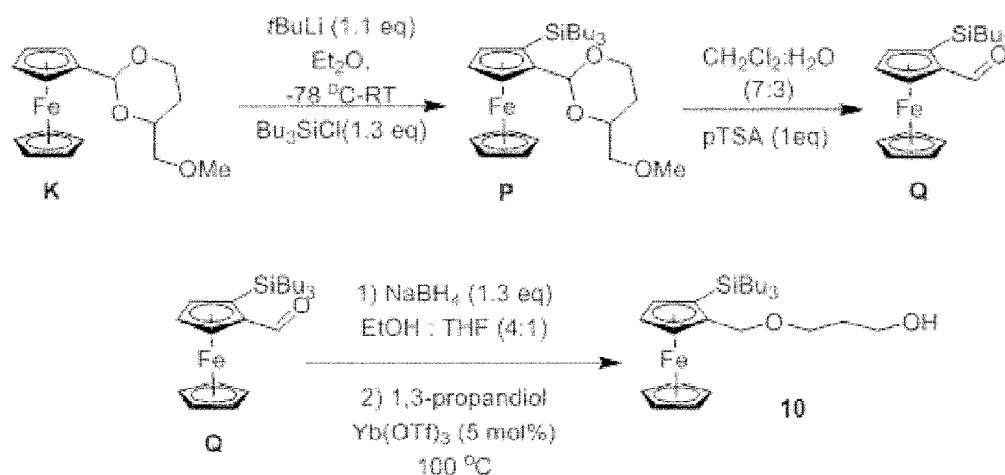
[0115] Se disolvió 2-trimetilsililo ferroceno carboxaldehído (**O**) (266 mg, 0,93 mmol, 1 eq) en una mezcla de EtOH: THF (4:1) (5 cm³). La solución roja se trató entonces con borohidruro de sodio (44 mg, 1,2 mmol, 1,3 eq) y luego se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de este tiempo, la solución ahora naranja se trató con H₂O (10 cm³) y se diluyó con EtOAc (10 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron después con salmuera (saturada) (10 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar el alcohol deseado en forma de un aceite naranja. El aceite se suspendió en 1,3-propanodiol (3 cm³), luego se trató con triflato de iterbio (III) (28 mg, 0,046 mmol, 5% en moles). El matraz se selló y luego se calentó a 100°C durante 2 minutos. El matraz se enfrió luego a temperatura ambiente, la solución se diluyó con H₂O (10 cm³) y EtOAc (10 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron entonces con salmuera (sat) (25 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía de sílice eluyendo con 20% de EtOAc: *n*-Hex dio el producto deseado como un aceite naranja (124 mg, 38%).

[0116] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,29 (d, *J* = 11,2 Hz, 1H), 4,15 (dd, *J* = 2,3, 1,3 Hz, 1H), 4,05 (t, *J* = 2,3 Hz, 1H), 3,94-3,88 (m, 7H), 3,54 (q, *J* = 6,1 Hz, 2H), 3,41-3,26 (m, 2H), 1,67 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 1,62-1,51 (m, 2H), 0,28 (s, 9H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 88,2, 74,7, 73,0, 71,6, 69,8, 69,3, 68,4, 68,3, 61,0, 32,3, 0,0.; HRMS (ESI μTOF)

calculado para $C_{17}H_{26}FeO_2SiNa$ m/z 369,0949 encontrado 369,0954 ($m/z + Na^+$); Potencial electroquímico: 248 mV.

Ejemplo 10: Preparación de 3-(2-tributilsililo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (10)

[0117]



[0118] Se preparó (rac)-4-(metoximetilo)-2-ferrocenilo-1,3-dioxano (K) de acuerdo con los procedimientos en J. Org. Chem., 1997, 62, 6733-6745.

[0119] Se preparó (rac)-4-(metoximetilo)-2-(α -(tributilsililo)-ferrocenilo)-1,3-dioxano (P) mediante el procedimiento en J. Org. Chem., 1997, 62, 6733-6745 usando tributilsilicloruro como electrófilo.

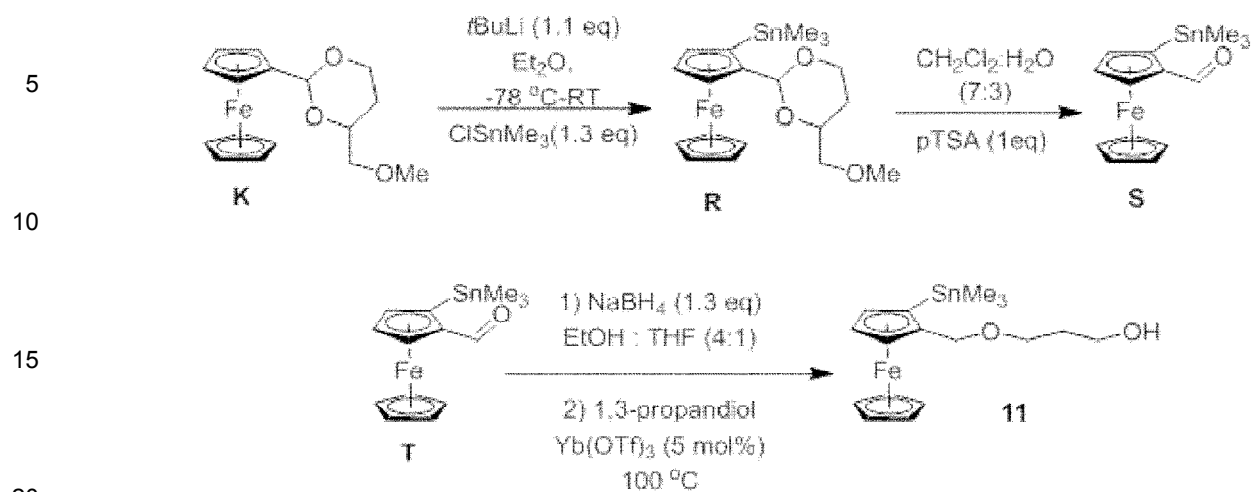
[0120] Se preparó 2-tributilsililo ferroceno carboxaldehído (Q) adaptando el procedimiento en J. Org. Chem., 1997, 62, 6733 - 6745.

[0121] Se disolvió 2-tributilsililo ferroceno carboxaldehído (Q) (461 mg, 1,12 mmol, 1 eq) en una mezcla de $EtOH:THF$ (4:1) (5 cm^3). La solución roja se trató luego con borohidruro de sodio (55 mg, 1,46 mmol, 1,3 eq) y la solución roja se agitó luego a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de este tiempo, la solución ahora naranja se trató con H_2O (10 cm^3) y se diluyó con $EtOAc$ (10 cm^3). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con $EtOAc$ (3 x 5 cm^3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron después con salmuera (saturada) (10 cm^3), se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron a vacío para dar el alcohol deseado en forma de un aceite naranja. El aceite se suspendió en 1,3-propanodiol (3 cm^3), luego se trató con triflato de iterbio (III) (35 mg, 0,056 mmol, 5% en moles). El matraz se selló y luego se calentó a $100\text{ }^{\circ}C$ durante 20 minutos. El matraz se enfrió luego a temperatura ambiente, la solución se diluyó con H_2O (10 cm^3) y $EtOAc$ (10 cm^3). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con $EtOAc$ (3 x 5 cm^3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron entonces con salmuera (sat) (25 cm^3), se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía en sílice eluyendo con 20% de $EtOAc: n\text{-Hex}$ proporcionó el producto deseado 3-(2-tributilsililo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (10) como un aceite naranja (71 mg, 13%).

[0122] 1H RMN (300 MHz, C_6D_6) δ_H 4,46 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,34 (dd, $J = 2,3, 1,2$ Hz, 1H), 4,23 (t, $J = 2,3$ Hz, 1H), 4,21-4,05 (m, 7H), 3,72 (q, $J = 5,5$ Hz, 2H), 3,63-3,44 (m, 2H), 1,84 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 1,80-1,70 (m, 2H), 1,61-1,54 (m, 12H), 1,10-1,01 (m, 15H); ^{13}C RMN (75 MHz, C_6D_6) δ_C 88,8, 75,9, 73,7, 71,0, 70,9, 70,5, 69,5, 69,4, 61,9, 33,2, 27,7, 27,3, 14,5.; HRMS (ESI μTOF) calculado para $C_{26}H_{44}FeO_2NaSi$ m/z 495,2357 encontrado 495,2381 ($m/z + Na^+$); Potencial electroquímico: 361 mV.

Ejemplo 11: Preparación de 3-(2-trimetilstannilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (11)

[0123]



[0124] (*rac*)-4-(metoximetilo)-2-ferrocenilo-1,3-dioxano (K), se preparó de acuerdo con los procedimientos en J. Org. Chem., 1997, 62, 6733-6745.

[0125] Se preparó (*rac*)-4-(metoximetilo)-2-(α -(trimetilestannilo)-ferrocenilo)-1,3-dioxano (R) mediante el procedimiento en J. Org. Chem., 1997, 62, 6733-6745 usando trimetiltincloruro como electrófilo.

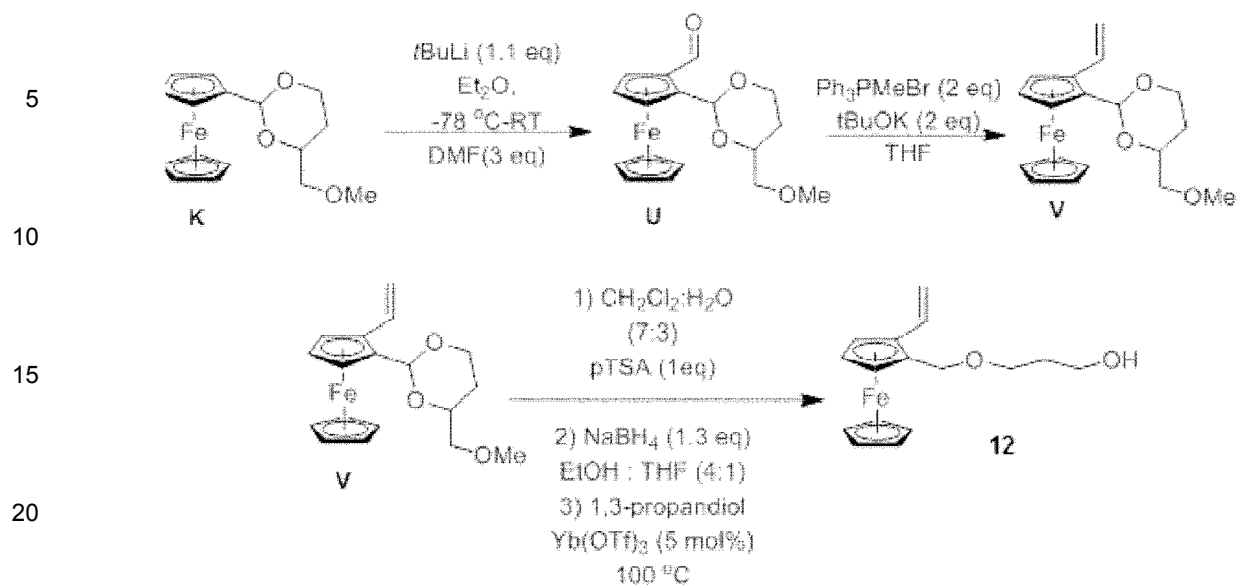
[0126] Se preparó 2-trimetilestannilo ferroceno carboxaldehído (T) mediante la adaptación del procedimiento en J. Org. Chem., 1997, 62, 6733-6745.

[0127] Se disolvió 2-trimetilestannilo ferroceno carboxaldehído (T) (356 mg, 1,12 mmol, 1 eq) en una mezcla de EtOH: THF (4:1) (5 cm³). La solución roja se trató después con borohidruro de sodio (45 mg, 1,2 mmol, 1,3 eq) y la solución roja se agitó luego a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de este tiempo, la solución ahora naranja se trató con H₂O (10 cm³) y se diluyó con EtOAc (10 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron a continuación con salmuera (saturada) (10 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar el alcohol deseado en forma de un aceite naranja. El aceite se suspendió en 1,3-propanodiol (3 cm³), luego se trató con triflato de iterbio (III) (29 mg, 0.048 mmol, 5% en moles). El matraz se selló y luego se calentó a 100°C durante 20 minutos. El matraz se enfrió luego a temperatura ambiente, la solución se diluyó con H₂O (10 cm³) y EtOAc (10 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron entonces con salmuera (sat) (25 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía en sílice que eluye con 20% de EtOAc: *n*-Hex dio el producto deseado 3-(2-trimetilestannilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (11) como un aceite naranja (190 mg, 48%)

[0128] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,16-4,10 (m, 2H), 4,05 (t, *J* = 2,3 Hz, 1H), 3,92-3,86 (m, 6H), 3,85 (dd, *J* = 2,2, 1,1 Hz, 1H), 3,45 (dd, *J* = 11,3, 5,6 Hz, 2H), 3,27 (ddt *J* = 20,7, 9,1, 5,6 Hz, 2H), 1,54-1,45 (2H, m), 0,21 (ss, 9H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 90,1, 75,8, 72,7, 71,1, 70,9, 70,7, 69,1, 61,7, 33,1, -7,8; ¹¹⁵Sn{¹H} RMN (112 MHz, C₆D₆) δ_{Sn} -9,03. HRMS (ESI μ TOF) calculado para C₁₇H₂₆FeO₂NaSn *m/z* 461,0201 encontrado 461,0221 (*m/z* + Na⁺); Potencial electroquímico: 207 mV.

Ejemplo 12: Preparación de 3-(2-vinilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (12)

[0129]



[0130] *(rac)*-4-(metoximetilo)-2-ferrocenilo-1,3-dioxano (**K**) y *(rac)*-4-(metoximetilo)-2-(α -formilo-ferrocenilo)-1,3-dioxano (**U**) se prepararon de acuerdo con los procedimientos en J. Org. Chem., 1997, 62, 6733-6745.

(rac)-4-(metoximetilo)-2-(α -vinilo-ferrocenilo)-1,3-dioxano (**V**)

[0131] *(rac)*-4-(metoximetilo)-2-(α -formilo-ferrocenilo)-1,3-dioxano (**U**) (4 81 mg, 1.4 mmol, 1 eq) se disolvió en THF seco (15 cm³) y luego se trató con bromuro de metiltrifenilfosfonio (999 mg, 2.8 mmol, 2 eq) y *tert*-butóxido de potasio (313 mg, 2.8 mmol, 2 eq). La mezcla se agitó luego a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición de H₂O (10 cm³). La capa orgánica se separó luego y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se secaron a continuación sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite naranja. Purificación por cromatografía de sílice eluyendo con 20% de EtOAc: *n*-Hex para dar el producto deseado *(rac)*-4-(metoximetilo)-2-(α -vinilo-ferrocenilo)-1,3-dioxano (**V**) como un aceite naranja (137 mg, 29%).

[0132] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ _H 6.80 (dd, *J* = 17,6, 10,9 Hz, 1H), 5,42 (dd, *J* = 17,6, 1,8 Hz, 1H), 5,35 (s, 1H), 5,08 (dd, *J* = 10,9, 1,8 Hz, 1H), 4,57 (dd, *J* = 2,4, 1,5 Hz, 1H), 4,25 (dd, *J* = 2,4, 1,5 Hz, 1H), 4,06 (s, 5H), 3,94 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H), 3,88 (ddd, *J* = 11,5, 5,5, 1,2 Hz, 1H), 3,42 (ddd, *J* = 10,1, 11,5, 2,6 Hz, 1H), 3,25 (dd, *J* = 10,1, 5,5 Hz, 1H), 3,09 - 3,03 (m, 4H), 1,65 - 1,46 (m, 1H), 1,03 - 0,92 (m, 1H). ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ _C 134,7, 112,4, 100,5, 85,4, 82,8, 76,7, 76,2, 70,8, 69,1, 68,1, 67,1, 66,90, 59,4, 28,8; HRMS (ESI μ TOF) calculado para C₁₈H₁₂₂FeO₃Na *m/z* 365,0816 encontrado 365,0818 (*m/z* + Na⁺).

3-(2-Vinilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**12**)

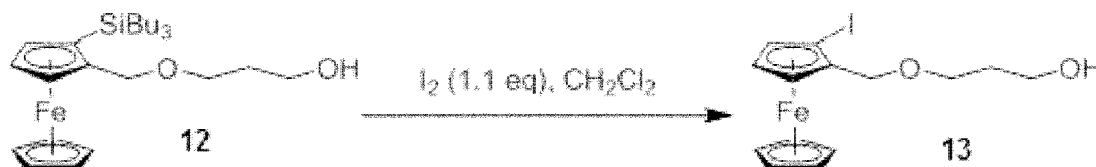
[0133] El *(rac)*-4-(metoximetilo)-2-(α -vinilo-ferrocenilo)-1,3-dioxano (**V**) (137 mg, 0,4 mmol, 1 eq) se colocó en un tubo Schlenk con monohidrato de ácido *para*-toluenosulfónico (200 mg, 1 mmol, 2,5 eq). El matraz se selló y luego se evacuó y se volvió a llenar con argón cuatro veces. El matraz se cargó entonces con CH₂Cl₂ (7 cm³) y H₂O (3 cm³). La mezcla bifásica se agitó luego vigorosamente durante 18 horas. Después de este tiempo, la capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con CH₂Cl₂ (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron entonces con H₂O (10 cm³), luego se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar el aldehído como un aceite rojo. Esto se recogió en EtOH: THF (4:1) (5 cm³) y se trató con borohidruro de sodio (27 mg, 0,48 mmol, 1,2 eq). La solución roja se agitó luego a temperatura ambiente durante 30 minutos. En este punto, la solución naranja se trató con NaHCO₃ (sat) (10 cm³) y luego se diluyó con EtOAc (10 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron entonces con H₂O (10 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y luego se concentraron a vacío para dar el alcohol objetivo como un aceite naranja. Esto luego se disolvió en 1,3-propanodiol (3 cm³), la solución se trató con triflato de iterbio (III) (12 mg, 0,02 mmol, 5% en moles). El matraz se selló y luego se calentó a 100°C durante 15 minutos. El matraz luego se dejó enfriar a temperatura ambiente, luego la solución marrón se diluyó con EtOAc (10 cm³) y H₂O (10 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los orgánicos combinados se lavaron con H₂O (25 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía de sílice eluyendo con 40% de EtOAc: *n*-Hex para dar el producto deseado 3-(2-vinilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (**12**) como un aceite naranja (3 mg, 2,5%).

[0134] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ _H 6,47 (dd, *J* = 17,5, 10,9 Hz, 1H), 5,39 (dd, *J* = 17,5, 1,7 Hz, 1H), 5,05 (dd, *J* =

10,9, 1,7 Hz, 1H), 4,42-4,29 (m, 2H), 4,08-3,91 (m, 6H), 3,87 (s, 5H), 3,54 (dd, $J = 11,2, 5,5$ Hz, 2H), 3,41-3,28 (m, 2H), 1,70 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 1,53 (dt, $J = 7,6, 5,8$ Hz, 2H); ^{13}C RMN (75 MHz, C_6D_6) δ_{C} 133,7, 112,7, 82,9, 82,3, 71,5, 70,3, 69,1, 68,4, 68,2, 67,1, 64,7, 61,9, 33,1; HRMS (ESI μTOF) calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{FeO}_2\text{Na}$ m/z 323,0630 encontrado 323,0646 ($m/z + \text{Na}^+$); Potencial electroquímico: 220 mV.

Ejemplo 13: Preparación de 3-(2-yodo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (13)

[0135]

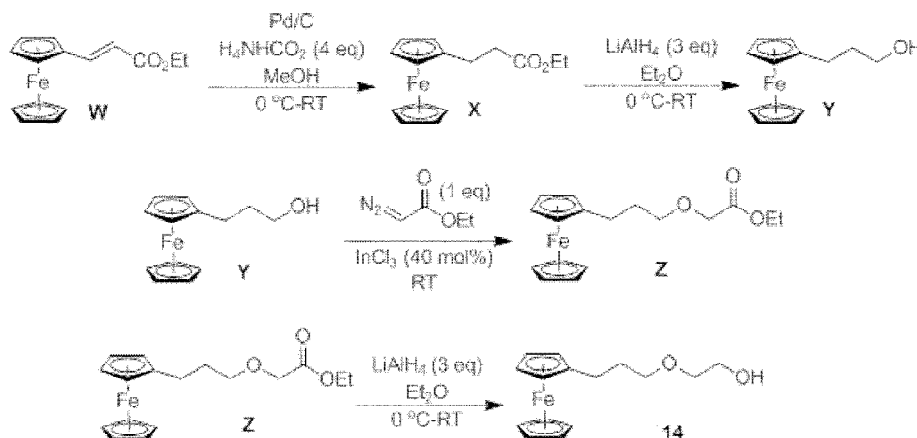


[0136] Se disolvió 3-(2-tributilsililo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (12) (265 mg, 0,47 mmol, 1 eq) en CH_2Cl_2 (2,5 cm^3) y luego se trató con yodo (130 mg, 0,51 mmol, 1,1 eq). La solución de color marrón oscuro se agitó luego a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición de tiosulfato sódico (saturado) (5 cm^3). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con CH_2Cl_2 (3 x 5 cm^3). Los extractos orgánicos combinados se secaron a continuación sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía en sílice eluyendo con 30% de EtOAc: *n*-Hex para dar el producto deseado 3-(2-yodo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol (13) como un aceite naranja (15 mg, 8%).

[0137] ^1H RMN (300 MHz, C_6D_6) δ_{H} 4,36-4,28 (m, 2H), 4,19 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 4,14 (dd, $J = 2,5, 1,3$ Hz, 1H), 4,01 (s, 5H), 3,91 (t, $J = 2,5$ Hz, 1H), 3,71 (dd, $J = 10,6, 5,3$ Hz, 2H), 3,61-3,47 (m, 2H), 1,76-1,65 (m, 2H); ^{13}C RMN (75 MHz, C_6D_6) δ_{C} 85,8, 75,6, 72,1, 69,7, 69,7, 69,6, 6 8,9, 61,9, 45,3, 33,1, 32,3, 23,4, 14,7; HRMS (ESI μTOF) calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{FeO}_2\text{Na}$ m/z 422,9520 encontrado 422,9538 ($m/z + \text{Na}^+$); Potencial electroquímico: 355 mV.

Ejemplo 14: Preparación de 2-(3-ferrocenilpropoxi)etanol (14)

[0138]



[0139] Se preparó acrilato de etilo-3-ferrocenilo (W) de acuerdo con el procedimiento en Tetrahedron, 2009, 65, 672-676.

Propanoato de etilo-3-ferrocenilo (X)

[0140] Se disolvió el acrilato de etilo-3-ferrocenilo (W) (7,43 g, 23,3 mmol, 1 eq) en MeOH (125 cm^3) y se enfrió a 0°C. Una vez frío, el paladio sobre carbón (10% en peso) (1,5 g) y formiato de amonio (5,87 g, 93,2 mmol, 4 eq) se añadieron secuencialmente. La suspensión negra se dejó calentar a temperatura ambiente y luego se agitó durante 1 hora. La suspensión se filtró a través de Celite, y los sólidos se lavaron con MeOH (100 cm^3). La solución naranja se concentró a continuación al vacío para dar un sólido naranja, que luego se recogió en EtOAc (100 cm^3) y NaHCO_3 (50 cm^3). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 50 cm^3). Los extractos orgánicos combinados se secaron a continuación sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío para dar el producto deseado etilo-3-ferrocenilo-propanoato (X) como un aceite naranja (4,86 g, 73%) sin la necesidad de

una purificación adicional.

[0141] ^1H RMN (250 MHz, CDCl_3); δ_{H} : 4,2 (d, $J = 7,0$, 2H), 4,09 (s, 2H), 4,02 (s, 7H), 2,93-2,87 (m, 2H), 2,54-2,49 (m, 2H), 2,52 (1H, br s), 1,37 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3); δ_{C} : 170,5, 77,5, 77,0, 76,6, 69,8, 61,3, 34,8, 23,2, 15,3.

Propanol de ferroceno (Y)

[0142] A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (1,94 g, 51 mmol, 3 eq) en Et_2O seco (120 cm^3) a 0°C se añadió propanoato de etilo-3-ferrocenilo (**X**) (4,86 g, 17 mmol, 1 eq) en Et_2O seco (30 cm^3) gota a gota durante un período de 25 minutos. Una vez que se completó la adición, la suspensión se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. Después de este tiempo, el matraz se enfrió a 0°C y la reacción se inactivó mediante la adición secuencial gota a gota de H_2O (1,9 cm^3), NaOH al 15% (ac) (1,9 cm^3) y H_2O (5,7 cm^3). La suspensión amarilla se dejó luego calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 10 minutos. La suspensión se filtró y los sólidos se lavaron con Et_2O (75 cm^3) hasta que el lavado se hizo transparente. La solución naranja se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró a vacío para dar propanol de ferroceno (**Y**) como un aceite naranja (4,19 g, 99%) sin la necesidad de una purificación adicional.

[0143] ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3); δ_{H} : 4,19 (s, 9H), 3,65 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,55 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,70 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3); δ_{C} : 77,8, 77,6, 77,4, 76,9, 63,4, 38,5, 29,4.

Etilo 2-ferrocenothoxiacetate (Z)

[0144] El propanol de ferroceno (**Y**) (1,93 g, 7,9 mmol, 1 eq) se colocó en un matraz de fondo redondo y se trató con diazoacetato de etilo (552 ml, 5,26 mmol, 0,66 eq) y cloruro de indio (III) (464 mg, 2,1 mmol, 40% en moles). La suspensión se dejó agitar a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 16 horas. Después de este tiempo, la suspensión se diluyó con EtOAc (25 cm^3) y H_2O (25 cm^3). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 20 cm^3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (saturada) (50 cm^3), se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía en sílice eluyendo con 15% de EtOAc : *n*-Hex dio el producto deseado 2-ferrocetoxiacetato de etilo (**Z**) en forma de un aceite naranja (993 mg, 57%).

[0145] ^1H RMN (300 MHz, C_6D_6) δ_{H} 4,11-4,06 (m, 8H), 4,04-3,98 (m, 5H), 3,94 (s, 2H), 2,50 (dd, $J = 8,7$, 6,8 Hz, 2H), 1,94-1,80 (m, 2H), 1,00 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz, C_6D_6) δ_{C} 170,5, 89,2, 71,6, 69,2, 68,9, 68,3, 67,9, 60,6, 32,0, 26,6, 14,5.

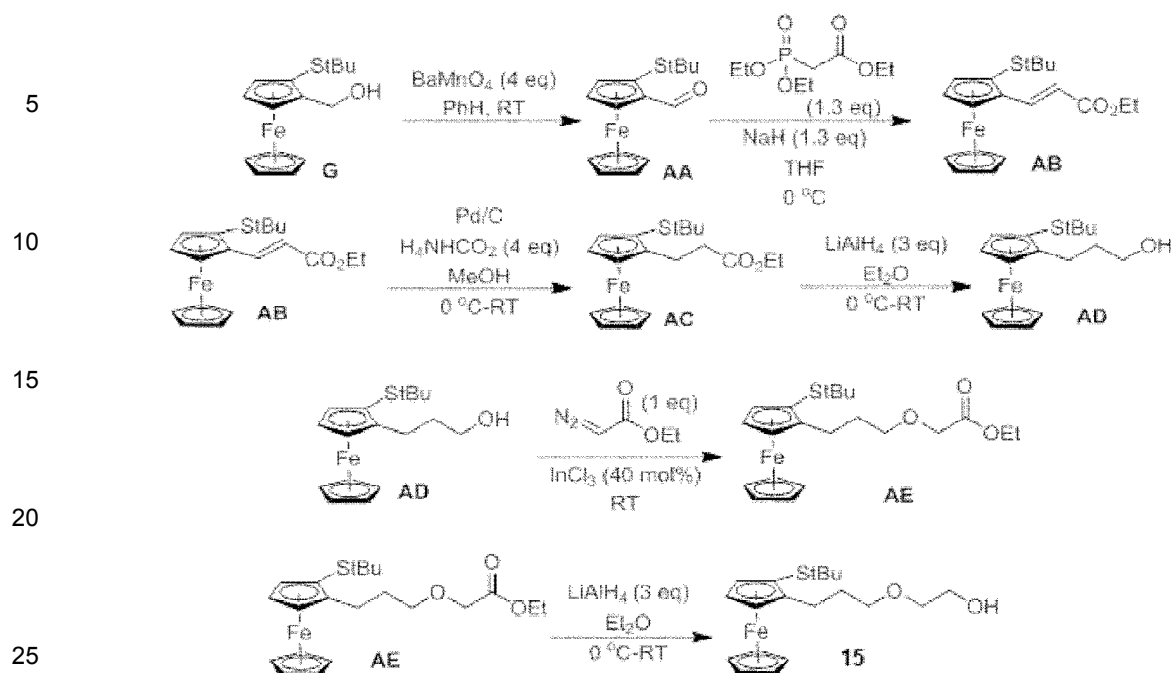
2-(3-ferrocenilpropoxi)etanol (14)

[0146] A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (343 mg, 9 mmol, 3 eq) en Et_2O seco (10 cm^3) a 0°C se añadió el 2-ferrocetoxiacetato de etilo (**Z**) (993 mg, 3 mmol, 1 eq.) en Et_2O seco (5 cm^3) gota a gota durante un período de 5 minutos. La suspensión se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos. Después de este tiempo, el matraz se enfrió a 0°C y la reacción se inactivó mediante la adición secuencial gota a gota de H_2O (343 ml), NaOH al 15% (ac) (343 ml) y H_2O (1,2 cm^3). La suspensión amarilla se dejó luego calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 10 minutos. La suspensión se filtró y los sólidos se lavaron con Et_2O (25 cm^3) hasta que los lavados se aclararon. La solución naranja se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró a vacío para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía en sílice eluyendo con 20% de EtOAc : *n*-Hex dio el producto deseado 2-(3-ferrocenilpropoxi)etanol como un aceite naranja (739 mg, 85%).

[0147] ^1H RMN (300 MHz, C_6D_6) δ_{H} 3,90 (s, 5H), 3,85 (s, 4H), 3,47-3,35 (m, 2H), 3,11 (dd, $J = 10,4$, 5,4 Hz, 4H), 2,29-2,14 (m, 2H), 1,67-1,47 (m, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz, C_6D_6) δ_{C} 89,1, 72,6, 71,1, 69,2, 68,8, 67,9, 62,3, 31,9, 26,8; HRMS (ESI μTOF) calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{FeO}_2$ m/z 289,1553 encontrado 289,0987 ($m/z + \text{H}$); Potencial electroquímico: 114 mV.

Ejemplo 15: Preparación de 2-(3-(2-terc-butiltio)-ferrocenilpropoxi)etanol (15)

[0148]



2-*tert*-butiltio-ferroceno carboxaldehído (AA)

[0149] El 2-*tert*-butiltio ferroceno metanol (G) (741 mg, 2,4 mmol, 1 eq) se colocó en un tubo Schlenk con manganato de bario (2,49 g, 9,7 mmol, 4 eq). El matraz se selló, luego se evacuó y se rellenoó con argón cuatro veces. El matraz se cargó luego con benceno (15 cm³). La suspensión resultante de color azul oscuro se agitó luego a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de este tiempo, la suspensión se filtró a través de Celite y los sólidos se lavaron con Et_2O (25 cm³) hasta que los lavados se aclararon. La solución roja resultante se concentró a vacío para dar el aldehído deseado 2-*tert*-butiltio-ferroceno carboxaldehído (**AA**) como un aceite rojo (668 mg, 92%) sin la necesidad de una purificación adicional.

[0150] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_{H} 10,66 (s, 1H), 5,09-5,01 (m, 1H), 4,45 (dd, $J = 2,4, 1,7$ Hz, 1H), 4,19 (dd, $J = 2,4, 1,7$ Hz, 1H), 4,04 (s, 5 H), 1,14 (s, 9 H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_{C} 193,4, 82,3, 81,7, 81,1, 73,2, 71,5, 69,6, 45,9, 30,9; HRMS (ESI μ TOF) calculado para C₁₅H₁₈FeOSNa m/z 325,0325 encontrado 325,0325 (m/z + Na⁺)

Etilo-3-(2-*tert*-butiltio-ferrocenilo) acrilato (AB)

[0151] Se añadió fosfonacetato de trietilo (571 ml, 2,85 mmol, 1,3 eq) a una suspensión de hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite) (109 mg, 2,85 mmol, 1,3 eq) en THF seco (10 cm³) a 0 °C. gota a gota durante un período de 5 minutos. Una vez que se completó la adición, la solución se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos. Después de este tiempo, la solución se enfrió a 0 °C. Una vez frío, se añadió 2-*tert*-butiltio-ferroceno carboxaldehído (**AA**) (668 mg, 2,2 mmol, 1 eq) en THF seco (5 cm³) gota a gota durante un período de 5 minutos. Una vez que se completó la adición, el matraz se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos adicionales. Después de este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición de H₂O (20 cm³). La capa orgánica se separó luego y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron a continuación con salmuera (saturada) (10 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite rojo. La purificación por cromatografía sobre sílice eluyendo con EtOAc al 5%: *n*-Hex dio el producto deseado etilo-3-(2-*tert*-butiltio-ferrocenilo) acrilato (**AB**) como un aceite rojo (823 mg, 99%).

[0152] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_{H} 8,50 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 6,48 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 4,50 (dd, $J = 2,5, 1,4$ Hz, 1H), 4,44 (dd, $J = 2,5, 1,4$ Hz, 1H), 4,23 (qd, $J = 7,1, 2,2$ Hz, 2H), 4,16 (t, $J = 2,5$ Hz, 1H), 4,01 (s, 4H), 1,21 (s, 9H), 1,14 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_{C} 185,5, 167,2, 144,8, 116,4, 83,4, 79,9, 72,6, 71,7, 71,4, 67,3, 60,5, 51,1, 46,2, 40,4, 31,1, 20,3, 14,8, 10,0; HRMS (ESI μ TOF) calculado para C₁₉H₂₄FeO₂SNa m/z 395,0744 encontrado 395,0748 (m/z + Na⁺).

Propanoato etilo-3-(2-*tert*-butiltioferrocenilo) (AC)

[0153] El etilo-3-(2-*tert*-butiltio-ferrocenilo) acrilato (**AB**) (823 mg, 2,2 mmol, 1 eq) se disolvió en metanol (15 cm³) y se enfrió a 0 °C. Una vez frío, se añadieron paladio sobre carbón (10% en peso) (1 g) y formiato de amonio (831 mg,

13,2 mmol, 6 eq). La suspensión se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. Después de este tiempo, la suspensión se filtró a través de Celite y los sólidos se lavaron con metanol (25 cm³) hasta que los lavados se aclararon. La solución naranja se concentró entonces al vacío para dar un sólido naranja. Éste se repartió entre EtOAc (25 cm³) y NaHCO₃ (sat) (25 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar el material deseado Etilo-3-(2-*terc*-butiltioferrocenilo) propanoato (**AC**) como un aceite naranja (617 mg, 75%) sin la necesidad de purificación adicional.

[0154] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,42 (dd, *J* = 2,3, 1,4 Hz, 1H), 4,14-4,10 (m, 3H), 4,08 (s, 5H), 4,04 (t, *J* = 2,5 Hz, 1H), 3,17 (ddd, *J* = 15,4, 8,9, 6,7 Hz, 1H), 3,00 (ddd, *J* = 15,4, 8,9, 6,7 Hz, 1H), 2,79-2,60 (m, 2H), 1,26 (s, 9H), 1,09 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 173,1, 92,3, 77,3, 76,9, 70,7, 69,0, 68,4, 60,6, 45,9, 35,6, 31,4, 23,8, 14,7; HRMS (ESI μTOF) calculado para C₁₉H₂₆FeO₂SNa *m/z* 397,0900 encontrado 397,0917 (*m/z* + Na⁺).

Propanol 2-*terc*-butiltioferroceno (**AD**)

[0155] A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (188 mg, 4.9 mmol, 3 eq) en Et₂O seco (3,5 cm³) a 0°C se añadió propanoato etilo-3-(2-*terc*-butiltioferrocenilo) (**AC**) (617 mg, 16 mmol, 1 eq) en Et₂O seco (4 cm³) se añadió gota a gota durante un período de 2 minutos. Una vez que se completó la adición, la suspensión se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos. Después de este tiempo, el matraz se enfrió a 0°C y la reacción se inactivó mediante la adición secuencial gota a gota de H₂O (188 μl), NaOH al 15% (ac) (188 μl) y H₂O (546 μl). La suspensión amarilla se dejó luego calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 10 minutos. La suspensión se filtró y los sólidos se lavaron con Et₂O (15 cm³) hasta que el lavado se hizo transparente. La solución naranja se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para dar propanol de 2-*terc*-butiltioferroceno (**AD**) como un aceite naranja (381 mg, 66%) sin la necesidad de una purificación adicional.

[0156] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,45 (dd, *J* = 2,4, 1,4 Hz, 1H), 4,17-4,15 (m, 1 H), 4,14 (s, 5 H), 4,09 (t, *J* = 2,5 Hz, 1H), 3,56 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 2,79 (ddd, *J* = 14,9, 11,2, 5,6 Hz, 1H), 2,58 (ddd, *J* = 14,9, 11,2, 5,6 Hz, 1H), 1,97-1,71 (m, 2 H), 1,30 (s, 9 H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 93,5, 77,2, 76,7, 70,7, 69,1, 68,3, 63,2, 45,8, 34,0, 31,8, 24,8; HRMS (ESI μTOF) calculado para C₁₇H₂₄FeOSNa *m/z* 355,0794 encontrado 355,0780 (*m/z* + Na⁺).

Etilo 2-(2-*terc*-butiltioferroceno)etoxiacetato (**AE**)

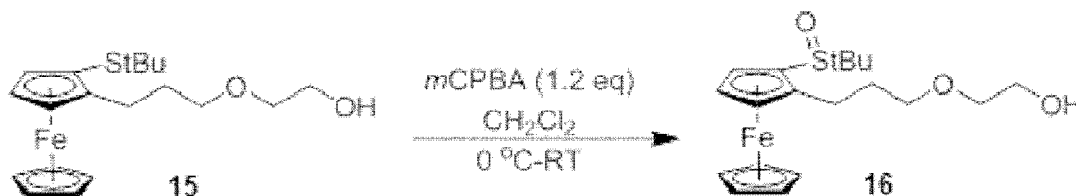
[0157] El 2-*terc*-butiltioferroceno propanol (**AD**) (483 mg, 1,29 mmol, 1 eq) se colocó en un matraz de fondo redondo y se trató con diazoacetato de etilo (552 ml, 5,26 mmol, 4 eq) y cloruro de indio (III) (114 mg, 0,52 mmol, 40% en moles). La suspensión se dejó agitar a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 16 horas. Después de este tiempo, la suspensión se diluyó con EtOAc (25 cm³) y H₂O (15 cm³). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 5 cm³). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (sat) (10 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron *en vacío* para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía en sílice eluyendo con 10% de EtOAc: *n*-Hex dio el producto deseado en forma de un aceite naranja (164 mg, 30%).

[0158] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,45 (dd, *J* = 2,5, 1,4 Hz, 1H), 4,19 (dd, *J* = 2,5, 1,4 Hz, 1H), 4,14 (s, 5H), 4,09-3,97 (m, 9H), 3,59 (td, *J* = 8,6, 2,3 Hz, 2H), 2,90 (ddd, *J* = 15,0, 11,1, 5,6 Hz 1H), 2,69 (ddd, *J* = 15,0, 11,1, 5,6 Hz 1H), 2,18-1,91 (m, 2H), 1,30 (s, 9H), 1,02 (t, *J* = 6,3 Hz, 3H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 170,6, 93,5, 77,2, 76,7, 72,2, 70,7, 69,2, 68,9, 68,3, 61,0, 60,7, 45,8, 31,5, 31,2, 25,0, 14,7, 14,6; HRMS (ESI μTOF) calculado para C₂₁H₃₀FeO₃SNa *m/z* 441,1162 encontrado 441,1179 (*m/z* + Na⁺).

2-(3-(2-*terc*-butiltio)-*f*-errocenilpropoxi)etanol (**15**)

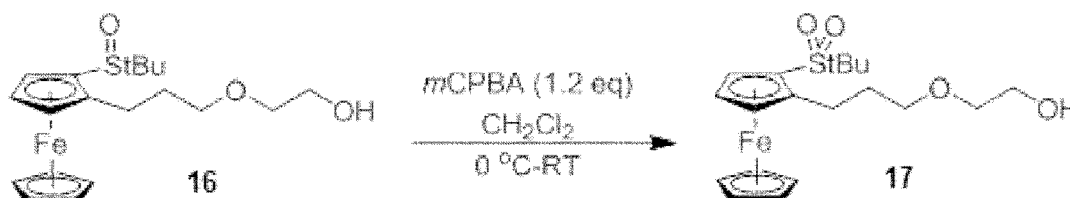
[0159] A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (44 mg, 1,17 mmol, 3 eq) en Et₂O seco (2 cm³) a 0°C se añadió el 2-(2-*terc*-butiltioferroceno) etoxiacetato de etilo (**AE**) (164 mg, 0,39 mmol, 1 eq) en Et₂O seco (1 cm³) gota a gota durante un período de 2 minutos. La suspensión se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos. Después de este tiempo, el matraz se enfrió a 0°C y la reacción se inactivó mediante la adición secuencial gota a gota de H₂O (44 ml), NaOH al 15% (ac) (44 ml) y H₂O (132 cm³). La suspensión amarilla se dejó luego calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 10 minutos. La suspensión se filtró y los sólidos se lavaron con Et₂O (10 cm³) hasta que los lavados se aclararon. La solución naranja se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía en sílice eluyendo con 20% de EtOAc: *n*-Hex dio el producto deseado 2-(3-(2-*terc*-butiltio)-ferrocenilpropoxi)etanol (**15**) como un aceite naranja (41 mg, 28%).

[0160] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,46 (dd, *J* = 2,6, 1,4 Hz, 1H), 4,19 (dd, *J* = 2,6, 1,4 Hz, 1H), 4,15 (s, 5H), 4,10 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 3,67 (dd, *J* = 9,7, 5,3 Hz, 2H), 3,43 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H), 3,37 (t, *J* = 6,5 Hz 2H), 2,81 (ddd, *J* = 14,9, 11,1, 5,7 Hz, 1H), 2,63 (ddd, *J* = 14,9, 11,1, 5,7 Hz, 1H), 2,13 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 2,09 -1,85 (m, 2H), 1,30 (s, 9H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 93,4, 77,2, 76,8, 72,8, 71,8, 70,7, 69,1, 68,3, 62,3, 45,8, 31,5, 31,2, 25,1; HRMS (ESI μTOF) calculado para C₁₉H₂₈FeO₂SNa *m/z* 399,1057 encontrado 399,1063 (*m/z* + Na⁺); Potencial electroquímico: 297 mV.

Ejemplo 16: Preparación de 2-(3-(2-*tert*-butilsulfinilo)-ferrocenilpropoxi)etanol (16)**[0161]**

[0162] El 2-(3-(2-*tert*-butiltio)-ferrocenilpropoxi)etanol (**15**) (40 mg, 0.11 mmol, 1 eq) se disolvió en CH₂Cl₂ (2 cm³), el matraz se colocó bajo nitrógeno ambiente y se enfrió a 0°C. Una vez que se añadió ácido 3-cloro-perbenzoico frío (22 mg, 0.127 mmol, 1,2 eq) en una porción. La solución se agitó luego a 0°C durante 15 minutos. Después de este tiempo, el análisis de TLC indicó el consumo total del material de partida. La reacción se sofocó luego mediante la adición de NaHCO₃ (sat) (5 cm³) y se agitó vigorosamente durante 5 minutos. Después de este tiempo, la capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 5 cm³). Los orgánicos combinados se lavaron a continuación con salmuera (saturada) (10 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite marrón oscuro. La purificación por cromatografía sobre sílice eluyendo con EtOAc dio el producto deseado 2-(3-(2-*tert*-per-ilsulfinilo)-ferrocenilpropoxi)etanol (**16**) como un sólido amarillo (12 mg, 29%).

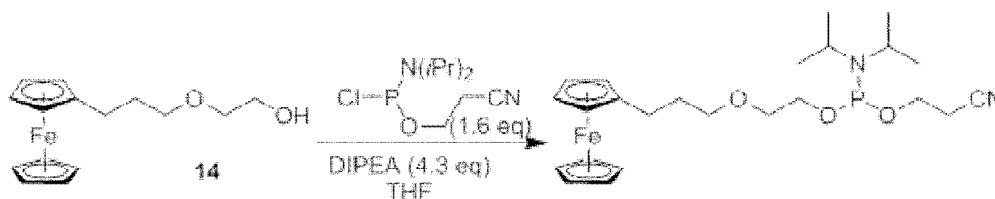
[0163] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,81 (s, 1 H), 4,41 (s, 5 H), 4,10 (t, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 4,07 (s, 1 H), 3,75 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H), 3,46 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H), 3,40 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H), 2,68 (ddd, *J* = 15,2, 11,5, 4,7 Hz 1H), 2,34 (ddd, *J* = 15,2, 11,5, 4,7 Hz 1H), 2,0 -1,91 (m, 1H), 1,90 -1,78 (m, 1H), 1,13 (s, 9H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 92,1, 88,0, 73,0, 71,4, 69,6, 68,6, 65,9, 62,3, 56,1, 30,6, 25,5, 23,4; HRMS (ESI μTOF) calculado para C₁₉H₂₈FeO₃SNa *m/z* 415,1006 encontrado 415,1010 (*m/z* + Na⁺); Potencial electroquímico: 397 mV.

Ejemplo 17: Preparación de 2-(3-(2-*tert*-butilsulfonilo)-ferrocenilpropoxi)etanol (17)**[0164]**

[0165] Se disolvió 2-(3-(2-*tert*-butilsulfinilo)-ferrocenilpropoxi)etanol (**16**) (12 mg, 0,03 mmol, 1 eq) en CH₂Cl₂ (1 cm³), se colocó en una atmósfera de nitrógeno y se enfrió a 0°C. Una vez frío, se añadió ácido 3-cloroperbenzoico (6,3 mg, 0,036 mmol, 1,2 eq) en una porción. La solución se agitó luego a 0°C durante 15 minutos. Después de este tiempo, el análisis de TLC indicó el consumo total del material de partida. La reacción se sofocó luego mediante la adición de NaHCO₃ (sat) (5 cm³) y se agitó vigorosamente durante 5 minutos. Después de este tiempo, la capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 5 cm³). Las capas orgánicas combinadas se lavaron a continuación con salmuera (saturada) (10 cm³), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para dar un aceite marrón oscuro. La purificación por cromatografía en sílice eluyendo con EtOAc dio el producto deseado 2-(3-(2-*tert*-butilsulfonilo)-ferrocenilpropoxi)etanol (**17**) como un aceite amarillo (4 mg, 33%).

[0166] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,58 (dd, *J* = 2,4, 1,6 Hz, 1H), 4,41 (s, 4H), 4,09 (dd, *J* = 2,4, 1,6 Hz, 1H), 4,01 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H), 3,65 (t, *J* = 4,5 Hz, 2H), 3,4-3,34 (m, 4H), 3,15 (ddd, *J* = 15,3, 11,9, 5,2 Hz 1H), 2,65 (ddd, *J* = 15,3, 11,9, 5,2, Hz 1H), 2,0-1,73 (m, 4 H), 1,23 (s, 9 H); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 101,9, 91,8, 88,7, 82,9, 75,7, 72,8, 72,7, 72,0, 71,5, 71,0, 69,3, 62,, 59,4, 36,2, 30,9, 24,7, 24,1, 24,0; HRMS (ESI μTOF) calculado para C₁₉H₂₈FeO₄SNa *m/z* 431,0955 encontrado 431,0954 (*m/z* + Na⁺); Potencial electroquímico: 489 mV.

Ejemplo 18: Preparación de 2-cianoetilo-(2-(3-ferrocenilpropoxi)etanol)diisopropilo-fosforamidita**[0167]**

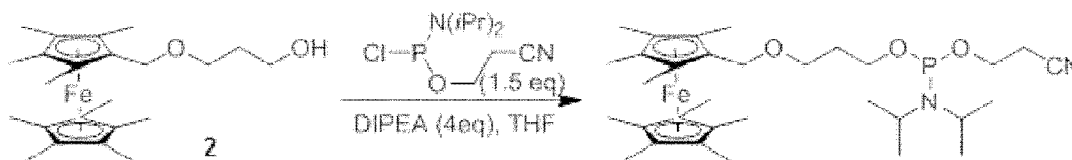


[0168] A un matraz de fondo redondo de 100 cm³ secado en horno equipado con un agitador magnético se añadió 2-(3-ferrocenilpropoxi)etanol (14) (753 mg, 2,6 mmol, 1 eq). El matraz se selló luego y se purgó con N₂. El polvo amarillo se disolvió a continuación en THF seco (25 cm³) para dar una solución naranja, que luego se trató inmediatamente con DIPEA (1,95 ml, 11,2 mmol, 4,3 eq). La 2-cianoetilo-N,N-diisopropilclorofosforamidita (1 g, 4,2 mmol, 1,6 eq) se añadió después a la solución 14 durante un período de 2 minutos. Una vez completa, la solución naranja se dejó agitar durante 10 minutos. Luego se añadió H₂O (200 ml) y la solución naranja se agitó durante otros 30 minutos bajo nitrógeno. La reacción se sofocó luego mediante la adición de EtOAc: TEA (1:1, 25 cm³). La mezcla se lavó luego con NaHCO₃ (saturado) (10 cm³) y salmuera (saturada) (10 cm³). La capa orgánica de color naranja se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y luego se concentró a vacío para dar un aceite amarillo. La purificación por cromatografía en sílice (ø5 X 10 cm³, carga húmeda de CH₂Cl₂) eluyendo con 10% de EtOAc: *n*-Hex + 1% de trietilamina bajo una corriente de salida de nitrógeno dio el producto deseado 2-cianoetilo-(2-(3-ferrocenilpropoxi)etanol)diisopropilfosforamidita como un aceite naranja (946 mg, 78%).

[0169] ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ_H 4,09 (s, 5H), 4,06-4,04 (m, 4H), 3,88-3,79 (m, 2H), 3,60 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H), 3,48 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H), 2,65 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 2,44 - 2,32 (m, 2H), 1,79 (dt, *J* = 14,1, 6,5 Hz, 2H), 1,19 (d, *J* = 6,8 Hz, 12H), ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ_C 117,7, 88,7, 70,9, 70,8, 70,7, 68,4, 68,0, 67,1, 62,8, 62,5, 58,6, 58,3, 43,1, 42,9, 31,0, 26,0, 24,7, 24,6, 24,5, 20,4, 20,3; ³¹P{¹H} RMN (122 MHz, CDCl₃) δ_P 149,18, HRMS (ESI μTOF) calculado para C₂₄H₃₇FeN₂O₃PNa *m/z* 511,1886 encontrado 511,1893 (*m/z* + Na⁺);

Ejemplo 19: 2-cianoetilo-(3-(Nonametilferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilo-fosforamidita

[0170]



[0171] A un matraz de fondo redondo de 100 cm³ secado en horno equipado con un agitador magnético se le añadió el 3-(nonametilferrocenilmetoxi)propan-1-ol (2) (1,12 g, 2,8 mmol, 1 eq). El matraz se selló luego y se purgó con N₂. El polvo amarillo se disolvió a continuación en THF seco (25 cm³) para dar una solución naranja, que luego se trató inmediatamente con DIPEA (1,95 ml, 11,2 mmol, 4 eq). A continuación, se añadió 2-cianoetilo-N,N-diisopropilclorofosforamidita (1 g, 4,2 mmol, 1,5 eq) a la solución 2 durante un período de 2 minutos. Una vez completa, la solución naranja se dejó agitar durante 10 minutos. Luego se añadió H₂O (200 ml) y la solución naranja se agitó durante otros 30 minutos bajo nitrógeno. La reacción se sofocó luego mediante la adición de EtOAc: TEA (1:1, 25 cm³). La mezcla se lavó luego con NaHCO₃ (saturado) (10 cm³) y salmuera (saturada) (10 cm³). La capa orgánica de color naranja se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y luego se concentró a vacío para dar un aceite amarillo. La purificación por cromatografía de sílice (ø5 X 10 cm³, carga húmeda de CH₂Cl₂) eluyendo con 10% de EtOAc: *n*-Hex + 1% de trietilamina bajo una corriente de salida de nitrógeno dio el producto deseado como un aceite naranja (995 mg, 59%).

[0172] ¹H RMN (300 MHz, C₆D₆) δ_H 4,43 (d, 1H, *J* = 11,3), 4,38 (d, 1H, *J* = 11,3), 3,99-3,75 (m, 2H), 3,72-3,56 (m, 4H), 3,52 - 3,33 (m, 2H), 2,0 -1,77 (m, 10H), 1,73 (s, 21H), 1,23 (t, *J* = 6,4, 6H); ³¹P{¹H} RMN (122 MHz, C₆D₆) δ_P 148,75 (s); ¹³C RMN (75 MHz, C₆D₆) δ_C 90,4, 80,4, 80,2, 79,2, 78,0, 71,9, 66,7, 66,5, 63,9, 61,3, 59,1, 47,2, 43,7, 43,6, 37,3, 32,7, 30,8, 25,1, 25,0, 25,0, 20,4, 16,6, 10,2, 10,1, 9,93.; HRMS (ESI μTOF) calculado para C₃₂H₅₃FeNO₃PNa *m/z* 623,3041 encontrado 623,3031 (*m/z* + Na⁺);

[0173] Los datos electroquímicos muestran que los compuestos de la invención proporcionan marcadores útiles electroquímicamente activos. Las etiquetas pueden usarse para proporcionar una señal electroquímica dentro de un rango deseado de valores. Pueden ser útiles como marcadores alternativos a otros compuestos de marcado con valores potenciales similares, por ejemplo, cuando esos otros compuestos de marcado tienen propiedades desfavorables en el ensayo en cuestión, por ejemplo, incompatibilidad con impurezas u otros componentes presentes en el ensayo o incompatibilidad con condiciones de medición, cualquiera de las cuales podría afectar la

sensibilidad de la medición. También, o en su lugar, se pueden usar con una o más etiquetas adicionales en un ensayo múltiple en el que hay más de una etiqueta para proporcionar dos o más determinaciones en una sola muestra, el uso de dos o más etiquetas con diferentes propiedades electroquímicas en esas circunstancias, se permite determinar la distinción efectiva entre mediciones relacionadas con la especie respectiva (por ejemplo, véase el Ejemplo 22). Los compuestos de la invención también proporcionan respuestas electroquímicas consistentes que los hacen útiles como controles internos en ensayos.

Ejemplo 20 - Unión de etiquetas a proteína

[0174] Las etiquetas de la invención se unen a un péptido a través de una amina libre de, por ejemplo, un residuo de lisina en el péptido. La unión puede llevarse a cabo mediante técnicas convencionales que incluyen la funcionalización del compuesto marcador para formar un éster NHS (N-hidroxisuccinimida) activo y la reacción del éster funcionalizado con el grupo amino libre del péptido.

Ejemplo 21-Unión de etiquetas a partículas

[0175] Una molécula de biotina se acopla a una etiqueta, por ejemplo, una etiqueta como se realiza en cualquiera de los ejemplos anteriores. La biotinylation se puede llevar a cabo en un sintetizador de oligonucleótidos automatizado o usando condiciones de laboratorio estándar por reacción de un marcador de fosforamida de ferrocenilo con ésteres de NHS de biotina.

[0176] Las partículas de estreptavidina paramagnética se lavan x 3 (tampón de fosfato) y se mezclan con marcador biotinilado, seguido de incubación durante 1 hora a temperatura ambiente con mezcla. Las partículas se lavan x 2 (tampón de fosfato) y se lavan x 1 (tampón de PCR). Se resuspenden en tampón final (tampón de PCR). Después de cada etapa de lavado, los sobrenadantes se prueban en busca de señal electroquímica y, si es necesario, se repite el lavado hasta que los sobrenadantes no muestran indicación de etiqueta electroquímica libre.

[0177] Estas partículas se analizan en un intervalo de concentraciones para validar que la señal electroquímica observada sea atribuible a la etiqueta acoplada a las partículas magnéticas, usando la captura magnética de las partículas y la resuspensión en un intervalo de volúmenes de tampón.

Ejemplo 22 - Ensayo de PCR múltiple

[0178] Los compuestos de ferroceno **2**, **14** y **6** se convirtieron en sus fosforamiditas correspondientes usando los procedimientos descritos en este documento. Dos etiquetas de ferroceno también se convirtieron en fosforamiditas, a saber, 6-(bis-metilo-ferrocenilo)amino)hexan-1-ol ('di-1') y 6-(bis((1'-cloroferrocenilo)1-metilferrocenilo)amino)hexan-1-ol ('di-2'). Utilizando metodologías estándar de acoplamiento en fase sólida, estas cinco fosforamiditas se acoplaron en el extremo 5' a cinco sondas de oligonucleótidos, cada una diseñada para detectar un gen específico. Las etiquetas y los objetivos de la sonda fueron los siguientes:

Etiqueta	Diana	Etiqueta	Diana
2	Control interno	di-1	Gen <i>C.trachomatis</i>
14	Gen de <i>S. aureus</i>	di-2	Gen <i>N.gonorrhoeae</i>
6	Gen <i>T.vaginalis</i>		

[0179] La PCR se realizó en diversas muestras usando cebadores diseñados para los cinco genes diana enumerados en esta tabla. Las amplificaciones separadas se combinaron para dar una mezcla de 5 plex, y las cinco sondas marcadas se añadieron luego a esta mezcla, junto con la exonucleasa T7. Esta mezcla se incubó y la detección se realizó esencialmente como se establece en Pearce et al. usando electrodos serigrafados.

[0180] La Figura 1 muestra seis voltammogramas superpuestos: tres realizados en muestras que contienen los diversos genes diana (control positivo) y tres realizados en muestras en blanco (control negativo):

Las tres muestras de control negativo no muestran picos visibles entre -0,5 y +0,7 voltios. Por el contrario, las tres muestras de control positivas muestran cada una cinco picos separados. De izquierda a derecha, estos picos corresponden a las etiquetas 2,14, di-1, di-2 y 6. Por lo tanto, las etiquetas de monoferroceno de la invención son útiles como marcadores en los ensayos de hibridación de ácidos nucleicos, incluidos los ensayos múltiple, y pueden ser usados también en combinación con etiquetas de diferroceno.

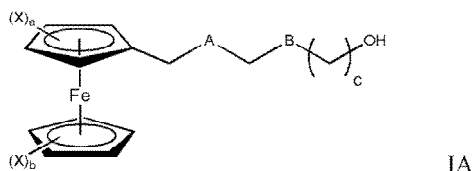
Ejemplo 23 - experimento de reproducibilidad

[0181] Se conjugó 3-(nonametilferrocenilmetoxi)propan-1-ol (compuesto de ejemplo 2) a un oligonucleótido utilizando condiciones estándar. La sonda resultante se utilizó a una concentración de 5 µM en 52 PCR diferentes amplificando 1000 copias de ADN. La detección electroquímica de la sonda produjo los datos actuales en la Figura 2.

[0182] Estos datos muestran que los compuestos de la invención dan señales electroquímicas consistentes y reproducibles. Esto hace que los compuestos de la invención sean particularmente útiles en ensayos, por ejemplo, como controles internos.

Reivindicaciones

1. Un compuesto de fórmula IA



donde:

cada sustituyente X se selecciona independientemente de halo, vinilo, alquilo, cicloalquilo, SiR_3 , SnR_3 , PR_2 , P(O)R_2 , SR, S(O)R , SO_2R , arilo, heteroarilo, CHO, CO_2R , CN y CF_3 ;

cada R se selecciona independientemente entre alquilo, arilo, cicloalquilo o heteroarilo;

A es O, B es CH_2 y c es 1, o

A es CH_2 , B es O y c es 2

a es 1, 2, 3 o 4 y b es 0, 1, 2, 3, 4 o 5; o

a es 0, 1, 2, 3, 4 o 5 y b es 1, 2, 3, 4 o 5; y

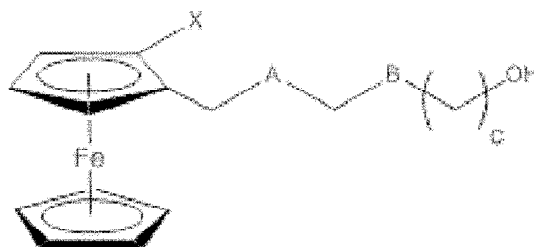
vinilo, alquilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo no sustituido, OH, CN, flúor, cloro, bromo y yodo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde

(i) $a + b = 1$; y/o

(ii) b es 0; y/o

(iii) el compuesto es un compuesto de acuerdo con la fórmula IB



y/o

(iv) cada X se selecciona independientemente de halo, vinilo, SR, S(O)R , alquilo, P(O)R_2 , $\text{S(O)}_2\text{R}$, SiR_3 , por ejemplo, cada X se selecciona independientemente de SR, S(O)R y $\text{S(O)}_2\text{R}$.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde a es 4, b es 5 y cada X es metilo.

4. Un compuesto seleccionado de

3-(ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(nonametilferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-((1'-cloro)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-((2-*terc*-butiltio)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-((2-*terc*-butilsulfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-((2-di-*terc*-butilfosfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-tributilestannilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-trimetilsililo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-tributilsililo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-trimetilestannilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-vinilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

3-(2-yodo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol;

2-(3-ferrocenilpropoxi)etanol;

2-(3-(2-*terc*-butiltio)-ferrocenilpropoxi)etanol;

2-(3-(2-*terc*-butilsulfinilo)-ferrocenilpropoxi)etanol; y

2-(3-(2-*terc*-butilsulfonilo)-ferrocenilpropoxi)etanol.

5. Un compuesto que es un derivado funcionalizado de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, opcionalmente en el que el derivado funcionalizado comprende un resto seleccionado de grupos éster de succinimidilo, grupos fosforamidita, grupos maleimida, grupos biotina y azida, por ejemplo, un grupo fosforamidita, por ejemplo, en el que el derivado funcionalizado se selecciona de:

2-cianoetilo-(3-(ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-(nonametilferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-((1'-cloro)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-((2-*terc*-butiltio)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-((2-*terc*-butilsulfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-((2-*terc*-butilsulfonilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-((2-di-*terc*-butilfosfinilo)-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-(2-tributilestannilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-(2-trimetilsililo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-(2-tributilsililo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-(2-trimetilestannilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-(2-vinilo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(3-(2-yodo-ferrocenilmetoxi)propan-1-ol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(2-(3-ferrocenilpropoxi)etanol)di-iso-propilfosforamidita
 2-cianoetilo-(2-(3-(2-*terc*-butiltio)-ferrocenilpropoxi)etanol)di-iso-propilfosforamidita;
 2-cianoetilo-(2-(3-(2-*terc*-butilsulfinilo)-ferrocenilpropoxi)etanol)di-iso-propilfosforamidita; y
 2-cianoetilo-(2-(3-(2-*terc*-butilsulfonilo)-ferrocenilpropoxi)etanol)di-iso-propilfosforamidita.

6. Un sustrato marcado con un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, con la condición de que el sustrato esté marcado en la posición 5' de un nucleótido cuando el sustrato es un ácido nucleico.

7. Un kit de ensayo para determinar la presencia de un objetivo de ensayo, en el que el kit de ensayo comprende el sustrato marcado de la reivindicación 6.

8. Uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, como una etiqueta en un ensayo electroquímico, opcionalmente en el que el ensayo es para detectar un sustrato electroquímicamente marcado y/o en el que el ensayo es para determinar la cantidad de un sustrato marcado electroquímicamente, proporcionado que el sustrato se marca electroquímicamente en la posición 5' de un nucleótido cuando el sustrato es un ácido nucleico.

9. Uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 o sustrato marcado de la reivindicación 6, como control interno en un ensayo electroquímico.

10. Un método para la fabricación de (i) un derivado funcionalizado de un compuesto de fórmula IA que comprende hacer reaccionar un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 con un compuesto funcionalizante, opcionalmente en el que el compuesto funcionalizante comprende un grupo fosforamidita, o (ii) un etiquetado, que comprende hacer reaccionar un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-5 con un sustrato para formar un sustrato marcado, con la condición de que el sustrato esté marcado en la posición 5' de un nucleótido cuando el sustrato es un ácido nucleico.

11. Un método para detectar un amplicón de ácido nucleico que comprende poner en contacto el ácido nucleico con una sonda de ácido nucleico complementaria marcada en la posición 5' de un nucleótido con un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en condiciones para permitir la hibridación entre la sonda y amplicón, seguido de la etapa de degradar selectivamente la sonda hibridada o no hibridada, en donde el método proporciona la etapa de medir la actividad electroquímica del compuesto que marca la sonda.

12. Un método para detectar un ácido nucleico que comprende la etapa de poner en contacto un ácido nucleico con una sonda de ácido nucleico complementario en condiciones para permitir la hibridación entre la sonda y el ácido nucleico, donde la sonda de ácido nucleico es un ácido nucleico marcado en la posición 5' de un nucleótido con un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, seguido de la etapa de degradar selectivamente la sonda hibridada o no hibridada y la etapa de medir la actividad electroquímica del compuesto, opcionalmente en donde dicha degradación se efectúa mediante una enzima de exonucleasa específica de doble cadena.

13. El método de la reivindicación 12, en el que (i) dicha actividad electroquímica es dependiente cuantitativa o cualitativamente del grado de degradación de la sonda y/o (ii) en donde el ácido nucleico se amplifica antes de ponerlo en contacto con la sonda.

14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 11-13 en el que se usa un dispositivo de ensayo que comprende al menos dos marcadores, comprendiendo cada etiqueta un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 o un sustrato marcado de acuerdo con la reivindicación 6.

15. Una forma de detectar un sustrato marcado con un compuesto, como se describe en la reivindicación 6, que comprende la etapa de medición de la actividad electroquímica del compuesto.
- 5 16. El sustrato marcado de la reivindicación 6, el kit de ensayo de la reivindicación 7, el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 8-9 o el método de la reivindicación 10(ii) o 15, donde el sustrato se selecciona de carbohidratos, ácidos nucleicos, aminoácidos y polipéptidos. opcionalmente en donde el sustrato es un ácido nucleico.
- 10 17. Los ácidos nucleicos se lavan en la posición 5' del nucleótido con un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, opcionalmente cuando el ácido nucleico es complementario de una secuencia de ácido nucleico en un patógeno, opcionalmente en donde el patógeno se selecciona de *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

FIGURA 1

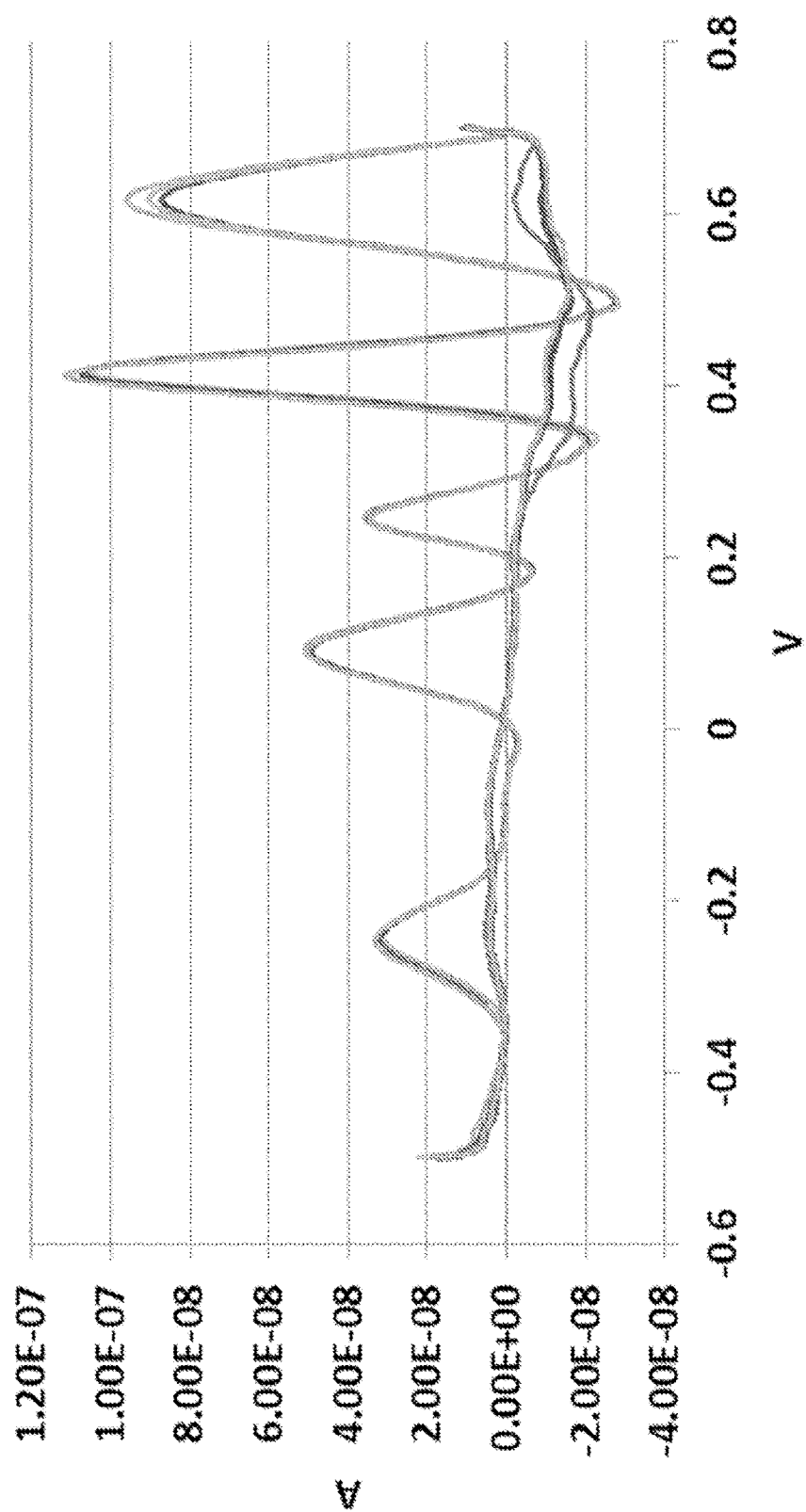


FIGURA 2

