

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 835 581**

51 Int. Cl.:

C07B 59/00 (2006.01)

A61K 51/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.08.2012** **E 15174234 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.09.2020** **EP 2955168**

54 Título: **Proceso para la preparación de complejos de ⁶⁸Ga**

30 Prioridad:

12.08.2011 IT FI20110180

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.06.2021

73 Titular/es:

**ADVANCED ACCELERATOR APPLICATIONS
INTERNATIONAL S.A. (100.0%)
4, rue Tour de l'île
1204 Geneva, CH**

72 Inventor/es:

**FUGAZZA, LORENZA;
FILANNINO, AZZURRA y
MARIANI, MAURIZIO FRANCO**

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 835 581 T3

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

DESCRIPCIÓN

Proceso para la preparación de complejos de ^{68}Ga

5 **Sector de la técnica**

La invención trata de procesos para preparar complejos que contienen isótopos, en particular, complejos útiles como radiomarcadores que contienen el isótopo ^{68}Ga .

10 **Estado de la técnica**

A pesar de los alentadores resultados de estudios clínicos recientes que usan un marcador radiactivo marcado con ^{68}Ga para la técnica TEP (Tomografía por Emisión de Positrones) de diagnóstico por imagen *in vivo*, el corto periodo de semidesintegración del isótopo (68 minutos), que no permite una distribución de largo alcance, junto con la necesidad de una "radiofarmacia de producción" equipada para el proceso de marcaje, aún impiden sus usos generalizados en la rutina de la medicina nuclear.

El marcaje con Ga-68 se lleva a cabo formando un complejo del metal radiactivo con un quelante adecuado en un medio de reacción en el que se introduce la dosis radiactiva de ^{68}Ga procedente de la elución del generador de ^{68}Ga , la cantidad de molécula a marcar (denominada molécula funcionalizada con quelante o precursora en la solicitud de los solicitantes) y un tampón adecuado para garantizar el pH óptimo para la formación del complejo.

El denominado generador de ^{68}Ga es una resina disponible en el comercio y que contiene germanio, a partir del cual, el ^{68}Ga deseado se forma de manera natural mediante la desintegración del germanio; por tanto, la elución de la resina, en las condiciones de pH apropiadas y en presencia de una molécula funcionalizada con quelante permite la formación del complejo deseado que contiene ^{68}Ga ; dependiendo de la molécula funcionalizada con quelante seleccionada, puede ser necesario calentar a 75-90 °C.

Los principales límites para el éxito del marcaje los proporciona el hecho que el pH adecuado tiene que mantenerse constante y por la competición de las impurezas metálicas con el Ga-68 durante el proceso de la formación del complejo.

En vista de lo dicho anteriormente, la investigación de un tampón adecuado, capaz de garantizar un pH convencional es, obviamente, un tema objeto de continuas investigaciones por parte de los expertos en el marcaje con ^{68}Ga , y aún abierto.

Dicho tampón debería ser atóxico, capaz de tamponar en el intervalo de pH de 3,5-5,0, no debería competir con los iones de galio y preferentemente debería tener una débil capacidad para formar complejos con metales.

Entre los diferentes tampones publicados, los que se usan principalmente hasta ahora son HEPES (derivado del ácido sulfónico) o tampones acetato; sin embargo, estos solo permiten trabajar en un intervalo de pH definido estrictamente (publicación de Velikyan *et al.*, Bioconjugate Chem, 2008, 19, 569-573) y puede que ya no conserven la capacidad de tamponamiento requerida cuando la acidez del eluato varíe ligeramente.

Por ejemplo, incluso un leve aumento del volumen del eluato procedente del generador provoca que el pH cambie a valores que dañan la formación del complejo, dando como resultado una gran cantidad de Ga-68 libre. Esto produce un riesgo de incumplimiento que hace obligatoria la purificación final. Además, no se dispone de datos toxicológicos sobre el tampón HEPES: la purificación final tiene que realizarse también a fin de eliminar, o al menos reducir, el HEPES antes de la administración del producto radiofarmacéutico. Otros tampones se han propuesto recientemente (documento WO 2010/092114) como solución eficaz para la formación de complejos con Ga-68, por ejemplo, tampones lactato, tartrato y carbonato. Estos tampones comprenden al menos dos funciones de coordinación del Ga-68 que superan el prejuicio de que podrían interferir con el marcaje. En cualquier caso, su uso se ha probado con éxito con fracciones reducidas y purificadas del eluato del generador, sin omitir el tratamiento de premarcaje de la solución de Ga-68.

Un segundo límite importante es la competición de impurezas metálicas, principalmente cationes trivalentes y bivalentes procedentes tanto de la fase estacionaria como de la desintegración del Ga-68 (Zn). Estos metales, así como el Ga-68, se unen a la molécula funcionalizada por quelante, reduciendo el número de moléculas realmente disponibles para el marcaje. Esto puede dar como resultado una formación incompleta de complejo de Ga-68, reduciendo la pureza radioquímica final de la preparación. En la técnica anterior, algunas veces el Ga-68 que no ha formado complejos con la molécula funcionalizada con quelante durante el marcaje se secuestra completamente con la adición después del marcaje de un exceso de quelante con afinidad reconocida por el isótopo, (por ejemplo, el quelante EDTA) a fin de evitar la presencia de una alta porción de metales libres y promover su eliminación en caso de administración de la preparación radiofarmacéutica (documento WO 2010/141833 - Ejemplo 2). Una formación parcial de complejo de Ga-68 podría enfrentarse de forma diferente partiendo de cantidades mayores de molécula funcionalizada con quelante. Sin embargo, un aumento de la cantidad de precursores quelados produce una reducción

indeseable de la radiactividad específica (proporción entre el producto radiactivo y el producto sin marcar) que puede empeorar los resultados diagnósticos. De hecho, debido a la competición con la molécula marcada por el mismo receptor, la presencia de molécula sin marcar podría tener un efecto negativo sobre la concentración de radiactividad en el tejido diana. Por tanto, una alta RE (radiactividad específica) podría ser crítica para proporcionar un contraste suficiente en las imágenes de la TEP entre el tejido diana y su entorno. En el estado de la técnica, la presencia de 5 iones metálicos que compiten suele reducirse mediante purificación previa o fraccionamiento del eluato antes del marcaje (como se describe en la patente N.º WO 2010/092114), pero estas etapas proporcionan una desventajosa pérdida de la actividad inicial. Además, si las etapas de premarcaje, así como la purificación final, no pueden evitarse, el marcaje con Ga-68 se basará siempre, en cierta medida, en la automatización, mediante el uso de un módulo de 10 síntesis, haciendo la estrategia de kit inviable. Además de la experiencia técnica necesaria, esto requiere un tiempo prolongado desfavorable para el marcaje. Debido al corto periodo de semidesintegración del radionúclido ($t_{1/2} = 68$ minutos) y a la limitada actividad proporcionada por el generador, cualquier mejora dirigida a obtener una formación de complejo muy rápida, directa y de alto rendimiento es muy conveniente.

15 En la solicitud WO2005/009393 se describió extensamente un método para la radioestabilización de productos farmacéuticos, especialmente mediante la adición de antioxidantes durante o después de la formación del complejo con un radiometal.

20 A partir de lo dicho anteriormente, está clara la necesidad de un proceso que permita la preparación de complejos con ^{68}Ga superando los problemas dichos anteriormente.

Objeto de la invención

25 Se describe un proceso para la preparación de complejos que contienen ^{68}Ga , donde se usa en la reacción de formación del complejo una solución acuosa tamponada en presencia de un compuesto capaz de secuestrar cationes metálicos.

Descripción detallada de la invención

30 La presente divulgación describe cómo superar los problemas anteriormente indicados, a través de un proceso donde el Ga-68 forma complejos de forma eficaz mediante una molécula funcionalizada con quelante en un tampón acuoso de ácido fórmico/formiato.

35 El tampón de ácido fórmico/formiato dicho anteriormente no solo permite establecer el pH correcto, sino también tolerar la variación de volumen/acidez del eluato.

40 De hecho, su capacidad tamponadora se centra en un valor de pH adecuado para la formación de complejo del Ga-68 y no tiene capacidad de formar complejos con metal, de modo que no aporta interferencia con el marcaje. Además, este tampón debería ser compatible con la aplicación farmacéutica porque el ácido fórmico está clasificado como disolvente residual de clase 3 (disolventes con bajo potencial tóxico) en la Farmacopea, para el que se admite un límite de 5 mg/ml (5000 ppm).

45 Normalmente, se prefiere un formiato, el formiato sódico, pero también puede usarse cualquier otra sal metálica del ácido fórmico.

50 La proporción ácido fórmico/formiato está comprendida normalmente entre 1 y 3,5. Además, a fin de enfrentar el problema de la presencia de impurezas metálicas, en lugar de aumentar la cantidad de molécula funcionalizada con quelante (que proporciona una reducción de la RE) o pretratar el eluato del generador con etapas de purificación que consumen tiempo y radiactividad, como es práctica normal en la técnica, se encontró que puede usarse un agente secuestrante en el proceso a fin de neutralizar las especies que interfieren, dejando al Ga-68 más libre para reaccionar con la molécula funcionalizada con quelante.

55 Si están presentes, estos agentes secuestrantes actúan como soporte para la molécula funcionalizada con quelante que sustrae, temporal o permanentemente, los metales que compiten de la reacción con las moléculas funcionalizadas queladas.

Cabe señalar que la función de los agentes secuestrantes en la presente invención es la contraria a la función de los agentes secuestrantes usados en la técnica anterior, como se describe anteriormente.

60 De hecho, de acuerdo con los procedimientos conocidos, al final del marcaje puede añadirse un agente secuestrante con particular afinidad por el galio, a fin de quelar la porción del isótopo que no ha reaccionado, mientras que, de acuerdo con la presente invención, al principio de la reacción se añade un agente secuestrante capaz de reducir al mínimo la competición de impurezas metálicas.

65 Obviamente, los agentes secuestrantes usados en el presente documento deberían unirse preferentemente a los metales que compiten en lugar de al ion Ga-68, a fin de evitar la interferencia con la reacción de marcaje principal o la

formación de especies marcadas colaterales.

La presente invención se refiere a procesos para formar complejos de radioisótopos, y en particular de ^{68}Ga , donde las soluciones tamponadas se utilizan en combinación con agentes secuestrantes como se describe anteriormente y en lo sucesivo en el presente documento.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a un proceso para la preparación de complejos de ^{68}Ga mediante una reacción de formación de complejo entre una molécula funcionalizada con quelante y ^{68}Ga que se lleva a cabo en una solución acuosa tamponada que tiene un intervalo de pH de 3,0-4,5, caracterizado porque dicha reacción de formación de complejo se lleva a cabo en presencia de un compuesto capaz de secuestrar cationes metálicos añadidos al inicio de la reacción de formación de complejo, escogiéndose dicho secuestrante del grupo que consiste en: éteres de corona, 1,10-fenantrolina y 2,2'-bipiridina.

De acuerdo con la invención con moléculas funcionalizadas con quelante se quiere decir cualquier molécula con capacidad de direccionamiento, funcionalizada con un quelato capaz de formar complejos con isótopos radiactivos tales como Ga-68.

Los quelatos preferidos para la formación de complejos de Ga-68 de acuerdo con la invención pueden escogerse entre: DOTA, NOTA y PCTA

También se puede hacer uso, en general, de cualquier quelato capaz de formar una jaula suficientemente estable alrededor del Ga^{3+} , en particular, cualquier amina alifática, macrocíclica o lineal, o amina macrocíclica con aminas terciarias.

Como molécula con capacidad de direccionamiento se quiere decir una molécula capaz de dirigirse hacia un proceso biológico de interés diagnóstico o terapéutico, ventajosamente un aminoácido, un péptido que, ventajosamente comprenda 4 a 15 o 4 a 10 aminoácidos, un polipéptido, una proteína, una vitamina, un monosacárido o polisacárido, un anticuerpo, un ácido nucleico o un aptámero.

Entre las moléculas con capacidad de direccionamiento útiles para la invención, se pueden mencionar (como ejemplo y no como listado limitante):

- Moléculas dirigidas a receptores de VEGF
- Análogos de bombesina o moléculas dirigidas a receptores de PLG
- Moléculas dirigidas a receptores de somatostatina
- Péptidos RGD o moléculas dirigidas a $\alpha\text{v}\beta 3$ y $\alpha\text{v}\beta 5$
- Anexina V o moléculas dirigidas a procesos apoptóticos
- Moléculas dirigidas a receptores de estrógeno
- Moléculas dirigidas a la placa de ateroma
- Las moléculas dirigidas nombradas en Topics in Current Chemistry, vol. 222, 260-274, Fundamentals of Receptor-based Diagnostic Metallopharmaceuticals,

La presente divulgación también describe los siguientes agentes secuestrantes: -glicina y otros aminoácidos quelantes (por ejemplo, metionina, cisteína, etc....);

- éteres de corona y éteres de corona con nitrógeno;
- compuestos orgánicos heterocíclicos, por ejemplo, 1,10-fenantrolina, 2,2'-bipiridina;
- calixarenos;
- quelantes polidentados, por ejemplo, proteínas, polisacáridos y ácidos polinucleicos;
- agentes quelantes naturales, por ejemplo, catequinas, tanino, porfirina;
- en general, agentes quelantes lineales o macrocíclicos (por ejemplo, podandos o criptandos).

Normalmente se usan cantidades de agente secuestrante micromolares o, más ventajosamente, nanomolares, preferentemente menos de 100 nanomolar, por ejemplo, en un intervalo de 20 y 25 nanomolar.

Es importante señalar que los agentes secuestrantes, como se explica anteriormente, se pueden utilizar ventajosamente también en reacciones de formación de complejo donde se utilizan otros tampones.

Por tanto, otra realización de la presente invención es un proceso que comprende una reacción de formación de complejo de ^{68}Ga , donde se añaden al tampón de reacción agentes secuestrantes como se define anteriormente.

La reacción de formación de complejo de acuerdo con la presente invención se lleva a cabo en un intervalo de pH de entre 3 y 4,5, en una realización particular de entre 3,2 y 4,2, preferentemente de entre 3,4 y 4,0.

Los complejos obtenidos de acuerdo con el proceso descrito anteriormente pueden contener ácido fórmico/formiato por debajo de 10 mg/ml y el agente secuestrante (si se usa) por debajo de 100 nmoles.

Como se ha dicho, se eluye un generador comercial (que consiste en una columna de resina que lleva germanio) con un eluyente que contiene un ácido (normalmente HCL) directamente en un vial que contiene tampón formiato y una base.

5 Se añade al vial una molécula funcionalizada con quelante (normalmente en presencia de un agente secuestrante de metales como, por ejemplo, fenantrolina) y el vial de reacción se calienta durante un tiempo corto; la solución producto se recoge y se verifica mediante HPLC de fase inversa e ITLC (MeOH/acetato de amonio 1 M 1/1).

10 El orden de adición también puede invertirse.

Por tanto, la presente invención también se refiere a un proceso donde:

- 15
- un generador comercial de ^{68}Ga se eluye con un eluato que contiene un ácido directamente en un vial que contiene el tampón y una base;
 - se añade un agente secuestrante;
 - se añade una molécula funcionalizada con quelante al vial y el vial de reacción se calienta durante un tiempo corto;
 - se recoge el producto.

20 La presente invención también se refiere a un proceso donde:

- 25
- un generador comercial de ^{68}Ga se eluye con un eluato que contiene un ácido directamente en un vial que contiene una molécula funcionalizada con quelante;
 - se añade un agente secuestrante;
 - se añaden un tampón y una base en el vial y el vial de reacción se calienta durante un tiempo corto;
 - se recoge el producto.

Por ejemplo, el generador comercial puede eluirse con un eluyente que contiene un ácido (normalmente HCl) directamente en un vial que contiene una molécula funcionalizada con quelante (preferentemente, en presencia de un agente secuestrante de metal, como por ejemplo una fenantrolina).

El tampón formiato y la base se añaden en el vial y la mezcla de reacción se calienta durante un tiempo corto.

El eluato ácido está constituido normalmente por una solución acuosa de un ácido fuerte como, por ejemplo, HCl, mientras que la base es una solución acuosa de una base fuerte como, por ejemplo, NaOH.

Por lo tanto, en una realización particular, la presente invención se refiere a procesos donde el eluato ácido es una solución acuosa de HCl, mientras que la base es una solución acuosa de NaOH.

En conjunto, el uso de tampón formiato garantiza un pH adecuado, aun cuando se produzcan variaciones en la acidez del eluato y, de esta forma reduce la cantidad de Ga-68 que no forma complejo debida a un pH demasiado bajo o demasiado alto, lo que da como resultado un alto contenido de $^{68}\text{Ga}^{3+}$ o hidróxidos de ^{68}Ga libres respectivamente. Además, la adición de un agente secuestrante permite rebajar la cantidad de molécula funcionalizada con quelante necesaria para obtener una formación completa de complejo de Ga-68.

Estos dos aspectos permitieron al solicitante alcanzar un grado adecuado de formación de complejo, ventajosamente, de al menos el 92 %, 95 % y 97 %, y, por consiguiente, una pureza suficiente (de al menos el 92 %, 95 % y 97 %) sin ningún tipo de purificación previa o final. Dado que los resultados obtenidos confirman la viabilidad de un marcaje directo con Ga-68 que no requiere manipulación o purificación, la formulación puede aplicarse a la producción de un kit específico.

Por tanto, la presente invención también se refiere a un kit de reacción que comprende:

- 55
- un vial que contiene la molécula funcionalizada con quelante y un compuesto capaz de secuestrar cationes metálicos, escogiéndose dicho agente secuestrante del grupo que consiste en: éteres de corona, 1,10-fenantrolina y 2,2'-bipiridina;
 - un vial o una jeringa que contenga una solución de tampón ultrapura adecuada.

En una realización particular del kit, dichos viales son viales siliconados.

La presente divulgación también describe un kit que comprende:

- 65
- un vial siliconado que contiene la molécula funcionalizada con quelante y el agente secuestrante seleccionado;
 - un vial siliconado o una jeringa que contiene una mezcla ultrapura adecuada de ácido fórmico/formiato sódico.

Además, la presente invención también se refiere a un vial que contiene una molécula con funcionalidad con quelante,

un compuesto seleccionado capaz de secuestrar cationes metálicos y una solución de tampón ultrapura adecuada, escogiéndose dicho agente secuestrante del grupo que consiste en: éteres de corona, 1, 10-fenantrolina y 2,2'-bipiridina. En una realización particular, dichos viales son viales siliconados.

- 5 La presente divulgación también describe a un vial único que contiene la molécula funcionalizada con quelante, el agente secuestrante seleccionado y una mezcla ultrapura adecuada de ácido fórmico/formiato sódico.

Ejemplo 1

10 **Marcaje con ^{68}Ga de péptido DOTA con 3 ml de eluato de HCl 0,6 M**

- Se eluyó un generador comercial de 30 mCi (de IDB) que tenía una fase estacionaria de SnO_2 con 3 ml de eluato de HCl 0,6 M ultrapuro directamente en un vial que contenía 200 ul de tampón formiato 1,5 M ultrapuro y 400 ul de NaOH 4,5 M ultrapuro. Después se añaden 30 ug de péptido DOTA y 4,5 ug de 1,10-fenantrolina y se calienta el vial de
15 reacción a 95 °C durante 7 minutos. El producto se verificó mediante HPLC de fase inversa e ITLC (MeOH/acetato de amonio 1 M 1/1) y la pureza radioquímica resultó ser del 98 % en ambos ensayos.

Ejemplo 2

20 **Marcaje con ^{68}Ga de péptido DOTA con 3,2 ml de eluato de HCl 0,6 M**

- Se eluyó un generador comercial de 30 mCi (de IDB) que tenía una fase estacionaria de SnO_2 con 3,2 ml de eluato de HCl 0,6 M ultrapuro directamente en un vial que contenía 200 ul de tampón formiato 1,5 M ultrapuro y 400 ul de NaOH 4,5 M ultrapuro. Después se añaden 30 ug de péptido DOTA y 4,5 ug de 1,10-fenantrolina y se calienta el vial de
25 reacción a 95 °C durante 7 minutos. El producto se verificó mediante HPLC de fase inversa e ITLC (MeOH/acetato de amonio 1 M 1/1) y la pureza radioquímica resultó ser del 97 % en ambos ensayos.

Ejemplo 3:

30 **Marcaje con ^{68}Ga de péptido DOTA con 3 ml de eluato de HCl 0,6 M**

- Se eluyó un generador comercial de 30 mCi (de IDB) que tenía una fase estacionaria de SnO_2 con 3 ml de eluato de HCl 0,6 M ultrapuro directamente en un vial que contenía 200 ul de tampón formiato 1,5 M ultrapuro y 400 ul de NaOH 4,5 M ultrapuro. Después se añaden 30 ug de péptido DOTA y 15 ug de 12-corona-4 y se calienta el vial de reacción
35 a 95 °C durante 7 minutos. El producto se verificó mediante HPLC de fase inversa e ITLC (MeOH/acetato de amonio 1 M 1/1) y la pureza radioquímica resultó ser del 98 % y el 96 % respectivamente.

Ejemplo 4:

40 **Marcaje con ^{68}Ga de péptido DOTA con 3 ml de eluato de HCl 0,6 M**

- Se eluyó un generador comercial de 30 mCi (de IDB) que tenía una fase estacionaria de SnO_2 con 3 ml de eluato de HCl 0,6 M ultrapuro directamente en un vial que contenía 30 ug de péptido DOTA y 15 ug de 12-corona-4. Después se añaden 200 ul de tampón formiato 1,5 M ultrapuro y 400 ul de NaOH 4,5 M ultrapuro y se calienta el vial de reacción
45 a 95 °C durante 7 minutos. El producto se verificó mediante HPLC de fase inversa e ITLC (MeOH/acetato de amonio 1 M 1/1) y la pureza radioquímica resultó ser del 98 % y el 96 % respectivamente.

REIVINDICACIONES

1. Proceso para la preparación de complejos de ^{68}Ga mediante una reacción de formación de complejo entre una molécula funcionalizada con quelante y ^{68}Ga que se lleva a cabo en una solución acuosa tamponada que tiene un intervalo de pH de 3,0-4,5 **caracterizado por que** dicha reacción de formación de complejo se lleva a cabo en presencia de un compuesto capaz de secuestrar cationes metálicos añadido al principio de la reacción de formación de complejo, escogiéndose dicho agente secuestrante del grupo que consiste en: éteres de corona, 1,10-fenantrolina y 2,2'-bipiridina.
2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicha molécula funcionalizada con quelante se escoge del grupo que consiste en: DOTA, NOTA, PCTA.
3. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde el pH de la reacción está comprendido más preferentemente entre 3,2 y 4,2.
4. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el pH de la reacción es muy preferentemente de entre 3,4 y 4,0.
5. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones 1 - 4, donde:
 - un generador comercial de ^{68}Ga se eluye con un eluato que contiene un ácido directamente en un vial que contiene el tampón y una base;
 - se añade un agente secuestrante;
 - se añade una molécula funcionalizada con quelante en el vial y el vial de reacción se calienta durante un tiempo corto;
 - se recoge el producto.
6. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones 1 - 4, donde:
 - un generador comercial de ^{68}Ga se eluye con un eluato que contiene un ácido directamente en un vial que contiene una molécula funcionalizada con quelante;
 - se añade un agente secuestrante;
 - se añaden un tampón y una base en el vial y el vial de reacción se calienta durante un tiempo corto;
 - se recoge el producto.
7. Proceso de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, donde el eluato ácido es una solución acuosa de HCl, mientras que la base es una solución acuosa de NaOH.
8. Un kit de reacción que comprende:
 - un vial que contiene la molécula funcionalizada con quelante y un compuesto capaz de secuestrar cationes metálicos, escogiéndose dicho agente secuestrante del grupo que consiste en: éteres de corona, 1,10-fenantrolina y 2,2'-bipiridina;
 - un vial o una jeringa que contiene una solución de tampón ultrapura adecuada.
9. Un vial que contiene una molécula funcionalizada con quelante, un compuesto seleccionado capaz de secuestrar cationes metálicos y una solución de tampón ultrapura adecuada, escogiéndose dicho agente secuestrante del grupo que consiste en: éteres de corona, 1,10-fenantrolina y 2,2'-bipiridina.
10. Un kit de reacción de acuerdo con la reivindicación 8 y un vial de acuerdo con la reivindicación 9, donde dichos viales son viales siliconados.