



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 349 692**

51 Int. Cl.:
C07B 59/00 (2006.01)
B01J 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03712355 .1**
96 Fecha de presentación : **14.03.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1487763**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.12.2004**

54 Título: **Uso de dispositivos microfabricados para radiosíntesis.**

30 Prioridad: **15.03.2002 GB 0206117**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
10.01.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
10.01.2011

73 Titular/es: **HAMMERSMITH IMANET, Ltd.**
Cyclotron Building
Hammersmith Campus, Ducane Road
London W12 0NN, GB

72 Inventor/es: **Jeffery, Nicholas T.;**
Luthra, Sajinder K.;
Gillies, James, Millar y
Brady, Frank

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 349 692 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

La presente invención se refiere a la miniaturización de radiosíntesis sobre dispositivos microfabricados y, en particular, al uso de dispositivos microfabricados para radiosíntesis, aislamiento y análisis de radiomarcadores, para su uso en tomografía de emisión de positrones (PET).

Las cortas semividas de los radioisótopos usados para radioquímica PET requieren que las radiosíntesis se realicen actualmente de forma rápida y eficaz. Las radiosíntesis y aislamiento de productos radiomarcados se realizan usando sistemas automatizados que están contenido en grandes “celdas calientes”, protegidas con plomo, para evitar la exposición a radiación del operario. Dichos sistemas típicamente manejan volúmenes de líquidos en el intervalo de 0,2 a 0,5 ml, aunque el número de átomos o moléculas radiactivos presentes es extremadamente pequeño, típicamente $6,23 \times 10^{11}$ átomos o moléculas. El presente enfoque hacia la automatización de las radiosíntesis está limitado respecto a flexibilidad y capacidad, y también ocupa espacio. Hay también una necesidad de sistemas de radiosíntesis automatizados que son más pequeños, más sencillos, más flexibles, multi-tarea y con mayor capacidad de producción.

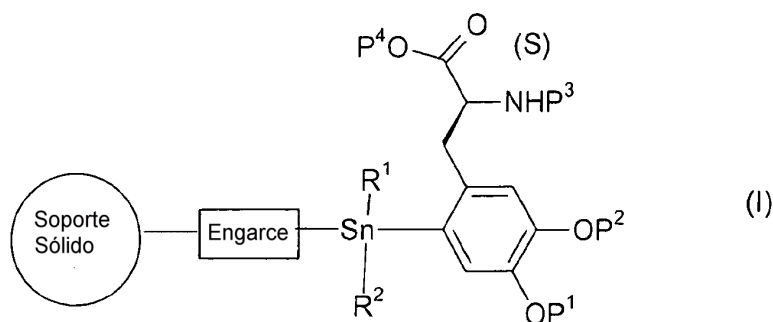
La radiosíntesis de radiomarcadores para PET implica diversas etapas, que varían desde la producción del radioisótopo, la incorporación de radioisótopos en agentes de radiomarcaje adecuados, radiomarcaje de precursores, purificación de productos radiomarcados y análisis de control de calidad. A pesar de estas muchas etapas, las cortas semividas de los radioisótopos usados requieren que la radiosíntesis se realice rápida y eficazmente.

Los inventores proponen ahora que la realización radioquímica en dispositivos microfabricados permitirá la miniaturización de los sistemas de radiosíntesis automatizados, o componentes de los mismos y, de esta manera, puede resolver algunos de estos problemas. Una ventaja principal de la tecnología propuesta es que proporcionará un sistema genérico para realizar la radioquímica con cualquier isótopo, por ejemplo carbono-11 o flúor-18. Este enfoque puede permitir también la simplificación de los sistemas de síntesis automatizados, aumentar el rendimiento radioquímico y la radiactividad específica de los productos, debido a que las reacciones son más cortas y más eficaces, y que el aislamiento y el análisis son más rápidos, y dar una mayor capacidad de producción, debido al uso de componentes desechables producidos en masa.

Los micro-reactores usados para las reacciones bioquímicas se han concentrado, generalmente, en el desarrollo de reacciones en cadena de polimerasa, de flujo continuo, (PCR) en un chip acoplado, con secuenciación de ADN, usando electroforesis capilar (CE), y

dispositivos de microchip para realizar ensayos enzimáticos. Hasta hace relativamente poco, la investigación sobre microfabricación se ha concentrado en el desarrollo de microestructuras analítica, en lugar de en microestructuras de síntesis química. Las revisiones de los procedimientos para la construcción de dispositivos microfabricados y su aplicación, entre otros, en la química sintética, puede encontrarse en DeWitt, (1999) "Microreactors for Chemical Synthesis", Current Opinion in Chemical Biology, 3: 350-6; Haswell, Middleton et al (2001) "The Application of Microreactors to Synthetic Chemistry", Chemical Communications: 391-8; Haswell and Skelton (2000) "Chemical and Biochemical Microreactors", Trends in Analytical Chemistry 19(6), 389-395, y Jensen (2001) "Microreaction Engineering - Is Small Better?" Chemical Engineering Science, 56: 293-303. El documento WO 01/34660 desvela la síntesis y análisis de polímeros radiomarcados usando sustratos que tienen una pluralidad de regiones de reacción. El documento US 5.859.070 desvela un procedimiento para preparar pequeñas cantidades de $^{11}\text{CH}_3\text{I}$. El documento EP1162455 describe un aparato para realizar manipulaciones con microfluidos.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona el uso de un dispositivo microfabricado para la radiosíntesis de un radiomarcador, adecuado para su uso en PET, marcado con un radionúclido de emisión de positrones, tal como ^{11}C , ^{18}F o ^{12}I , ^{13}N o ^{15}O . Las Solicitudes Internacionales en Trámite junto con la Presente WO03/002489 y WO03/002157 describen ciertos procedimientos de radiosíntesis- ^{18}F que pueden realizarse en un dispositivo microfabricado usando, por lo tanto, un dispositivo microfabricado que está revestido con un precursor unido a un soporte, de fórmula (I) o (II):



en la que R^1 y R^2 se seleccionan, independientemente, entre alquilo C_{1-6} y cada P^1 , P^2 , P^3 y P^4 es, independientemente, hidrógeno o un grupo protector;

SOPORTE SÓLIDO-ENGARCE-X-Precursor de MARCADOR (II)

en la que el Precursor de MARCADOR es un precursor para un radiomarcador ^{18}F y X es un grupo que promueve la sustitución nucleófila en un sitio específico en el precursor de

MARCADOR unido, tal como $-\text{SO}_2\text{O}-$, I^+ , o $-\text{N}(\text{alquilo } \text{C}_{1-6})_2^+$; como se deduce específicamente a partir del alcance de la presente invención.

En un aspecto preferido, el radiomarcador producido se marca con ^{11}C , ^{18}F o ^{124}I , más preferentemente ^{11}C o ^{18}F . Los ejemplos de radiomarcadores PET, que pueden prepararse mediante los procedimientos reivindicados, incluyen 2- ^{18}F fluorodesoxiglucosa y L-6- ^{18}F fluoro-DOPA. Ejemplos adicionales de radiomarcadores PET, que pueden prepararse mediante los procedimientos reivindicados, incluyen 3'-desoxi-3'-fluorotimidina (FLT), 2-(1,1-dicianopropen-2-il)-6-(2-fluoroetil)metilamino-naftaleno (FDDNP), 5- ^{18}F fluorouracilo, 5- ^{18}F fluorocitosina y ácido ^{18}F -1-amino-3-fluorociclobutano-1-carboxílico (^{18}F -FACBC).

El término "radiomarcador", como se usa en el presente documento, incluye compuestos radiomarcados añadidos al soporte y no añadidos al soporte y, en particular, incluye radioligandos (compuestos radiomarcados con alta actividad específica).

Los procedimientos de la invención comprenden una o más de las siguientes etapas, realizadas en un dispositivo microfabricado:

- (i) síntesis de un agente de radiomarcaje;
- (ii) mezcla y reacción de un agente de radiomarcaje con un precursor, adecuadamente un precursor de radiomarcador, para producir un producto radiomarcado (adecuadamente un radiomarcador);
- (iii) modificación química de un producto radiomarcado, adecuadamente para formar un radiomarcador;
- (iv) análisis del producto radiomarcado, adecuadamente, un radiomarcador; y/o
- (v) separación de un producto radiomarcado, adecuadamente un radiomarcador, de uno o más subproductos.

Como una etapa adicional, los procedimientos de la invención pueden comprender también el pre-tratamiento de uno o más reactivos radiactivos, o un precursor, usados en la radiosíntesis. Los ejemplos de dicho pre-tratamiento incluyen filtración, pre-concentración, aislamiento o activación del reactivo o precursor.

Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto adicional, los procedimientos de la invención comprenden una o más de las siguientes etapas, realizadas en un dispositivo microfabricado:

- (i) filtración, pre-concentración, aislamiento o activación de un reactivo radiactivo o un precursor (adecuadamente un precursor radiomarcador);
- (ii) síntesis de un agente de radiomarcaje;
- (iii) mezcla y reacción de un agente de radiomarcaje con un precursor, adecuadamente un precursor radiomarcador, para producir un producto radiomarcado (adecuadamente un radiomarcador);

(iv) modificación química de un producto radiomarcado, adecuadamente, para formar un radiomarcador;

(v) análisis de un producto radiomarcado, adecuadamente, un radiomarcador; y/o

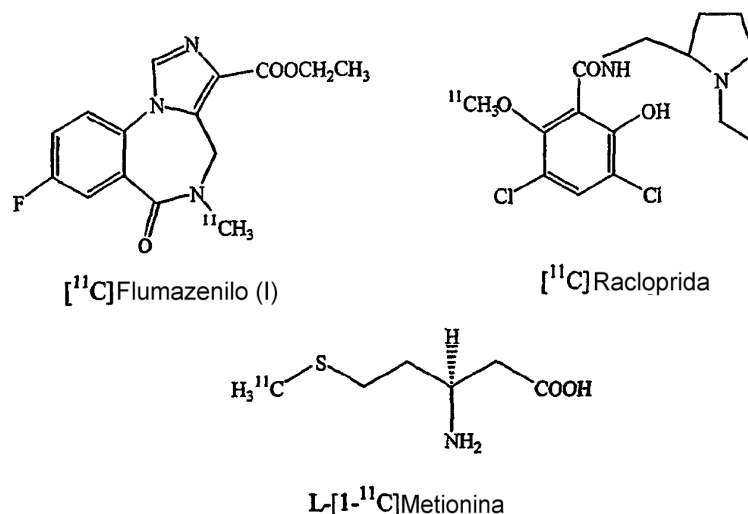
(vi) separación de un producto radiomarcado, adecuadamente un radiomarcador, de uno o más subproductos.

Típicamente, las técnicas químicas usadas en la radiosíntesis de productos radiomarcados, tales como radiomarcadores PET, incluyen yodación, por ejemplo con yodo-124, metilación, por ejemplo usando [^{11}C]yodometano y fluoraciones nucleófilas, por ejemplo usando [^{18}F]fluoruro. De esta manera, puede usarse [^{11}C]yodometano para formar enlaces N- $^{11}\text{CH}_3$, O- $^{11}\text{CH}_3$ y S- $^{11}\text{CH}_3$, y puede introducirse flúor-18 en una diversidad de compuestos alifáticos y aromáticos, por sustitución nucleófila.

Los procedimientos y aparatos de la invención están destinados, fundamentalmente, para su uso con radionúclidos de emisión de positrones tales como carbono-11 (semivida 20,1 minutos), flúor-18 (semivida 110 minutos) y yodo-124 (semivida 4,2 días). Otros radionúclidos adecuados incluyen hierro-52 (semivida 8,3 horas), cobalto-55 (semivida 17,5 horas), cobre-62 (semivida 9,7 minutos), bromo-75 (semivida 98,0 minutos), bromo-76 (semivida 16,1 horas), galio-68 y tecnecio 94m (semivida 53 minutos). Sin embargo, el aumento anticipado en las velocidades de reacción que pueden obtenerse usando dispositivos microfabricados puede permitir la aplicación al desarrollo de una radioquímica más compleja, con radioisótopos de vida muy corta, tales como carbono-10 (semivida 19,3 segundos), nitrógeno-13 (semivida 10,0 minutos) y oxígeno-15 (semivida 2,03 minutos). Además de su uso con radionúclidos de emisión de positrones, los dispositivos descritos podrían aplicarse también a radioquímica con emisores gamma tales como tecnecio-99m, indio-111, galio-67, yodo-123, yodo-125 y emisores beta, tales como carbono-14, tritio y fósforo-32.

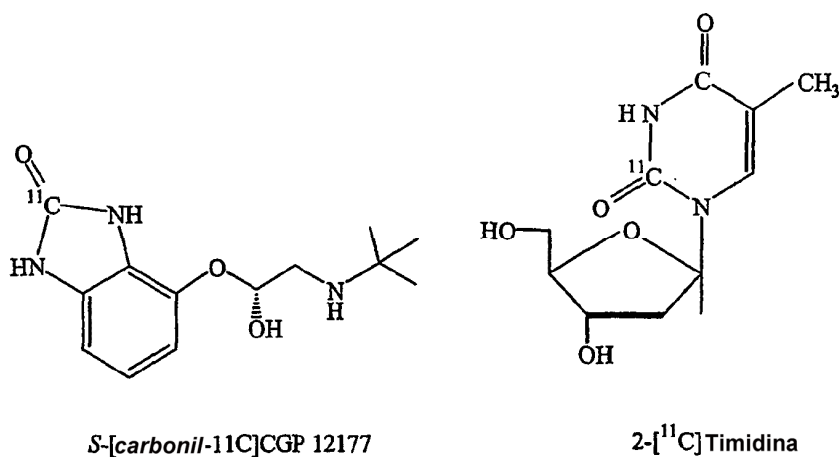
En términos más generales, los radiomarcadores PET que pueden prepararse mediante los procedimientos reivindicados incluyen aquellos sintetizados mediante el uso de agente de radiomarcaje, bien conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo [^{11}C]metano, [^{11}C]dióxido de carbono u [^{11}C]monóxido de carbono. Estos incluyen radiomarcadores sintetizados mediante alquilación con [^{11}C] o fluoroalquilación con [^{11}C] de grupos -NH, -OH y -SH, en precursores adecuados, usando [^{11}C]RX, en la que R se selecciona entre metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, ciclopropilo, bencilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo y flúor- o halo-análogos de los mismos; y X se selecciona entre halo, mesilato, tosilato, triflato, nonaflato, nitrato, tiol, isocianato, litio y aldehído. Los ejemplos de radiomarcadores preparados de esta manera (usando un agente de radiomarcaje en el que R es metilo) se muestran en el Esquema

1.

Esquema 1

Un segundo grupo de agentes de radiomarcaje usados son aquellos derivados de reactivos de Grignard, [¹¹C]R'MgX', (R' se selecciona entre alquilo, cicloalquilo, alqueno y aromático; y X' es halo). Éstos incluyen cloruros de ácido R' [¹¹C]COCl, ácidos R' [¹¹C]COOH, alcoholes R' [¹¹C]CH₂OH, aldehídos R' [¹¹C]COH y cetonas R' [¹¹C]COR', en las que R' se selecciona entre metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, ciclopropilo, bencilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo y análogos flúor- o halo-análogos de los mismos. Un ejemplo de un radiomarcador preparado usando los derivados de reactivos de Grignard es [carbonil-¹¹C]-4-(2'-metoxi)fenil-1-[2'-(N-2"-piridinil)ciclohexilamido]-etilpiperazina.

Un tercer grupo de agentes de radiomarcaje usados se obtienen principalmente, aunque no exclusivamente, de [¹¹C]metano incluyen [¹¹C]CN y [¹¹C]CCl₄. Estos se convierten, generalmente, en agentes de radiomarcaje bifuncionales, tales como [¹¹C]fosgeno, [¹¹C]urea y [¹¹C]bromuro de cianógeno, para radiomarcarse compuestos de interés clínico. Los ejemplos de radiomarcadores preparados usando algunos de estos se muestran en el Esquema 2.

Esquema 2

El flúor-18 se introduce en los compuestos de interés clínico para estudios PET, principalmente mediante reacciones de sustitución nucleófila. Típicamente, el [^{18}F]fluoruro se prepara como un complejo de sal potásica anhidra con el catalizador de transferencia de fase Kriptofix 2.2.2. (marca comercial), como una sal de tetraalquilamonio o como un fluoruro metálico, en disolventes no próticos anhídridos, tales como acetonitrilo, DMSO o DMF, por procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la materia. Estas soluciones de [^{18}F]fluoruro se usan para realizar fluoraciones nucleófilas, por desplazamiento de los grupos salientes, tales como halógenos, mesilato, tosilato, triflato, nonaflato o sulfamato, a partir de un precursor adecuado. De esta manera, el flúor-18 puede introducirse en una diversidad de compuestos alifáticos, aromáticos, heterocíclicos y macromoléculas, por sustitución nucleófila en cualquiera de las moléculas intactas, o en pequeños agentes de radiomarcage, que pueden usarse por sí mismos, posteriormente, para radiomarcarse el compuesto de interés. Por ejemplo, los compuestos pueden radiomarcarse usando [^{18}F]fluoroalquilaciones con grupos que contienen [^{18}F]fluorometilo, [^{18}F]fluoroetilo y [^{18}F]fluoropropilo, y otros sintetizados a partir de [^{18}F]fluoruro por desplazamiento nucleófilo de los grupos salientes adecuados, incluyendo halógenos, mesilatos, triflatos, nonaflatos o grupos yodonio. Los ejemplos de radiomarcadores sintetizados a partir de [^{18}F]cloruro incluyen 2-[^{18}F]FDG y 6-[^{18}F]fluorodopa.

Los radiomarcadores PET pueden radiomarcarse también con yodo-124, por yodación directa usando [^{124}I]yodo, en presencia de un agente oxidante adecuado, tal como cloramina-T, u otros conocidos por los expertos en la materia. Como alternativa, puede incorporarse en primer lugar en una molécula pequeña, normalmente aromática y bien conocida por los expertos en la materia, que contiene un segundo grupo funcional que permite que se una químicamente el compuestos de interés clínico. El yodo-124 se usa particularmente, aunque no exclusivamente, para radiomarcarse macromoléculas, tales como péptidos, proteínas, anticuerpos y oligonucleótidos.

Un dispositivo microfabricado, adaptado para realizar una o más de las etapas del procedimiento de la invención comprende, por lo tanto, uno o más de:

- (i) un dispositivo de mezcla y reacción microfabricado;
- (ii) un dispositivo de análisis microfabricado; y/o
- (iii) un dispositivo de separación microfabricado.

Debido a la naturaleza de los agentes de radiomarcage y los productos radiomarcados, dichos dispositivos microfabricados típicamente están provistos de una protección, para proteger al operario de la contaminación radiactiva. Dicha protección, adecuadamente, toma la forma de una barrera o caja de plomo alrededor del dispositivo. Adicionalmente, los dispositivos microfabricados están conectados adecuadamente a, o incorporan, un medio de

detección radioquímica, por ejemplo un detector de positrones o sistema HPLC, equipado con un detector de radiactividad.

Se ha diseñado un elemento de mezcla y reacción microfabricado para incorporar múltiples canales capilares, cámaras de mezcla, y está combinado con elementos calefactores.

5 El flujo a través del dispositivo puede controlarse usando presión, por ejemplo usando bombas de microjeringa o flujo electroosmótico. Un segundo elemento analítico, una microestructura plana de plástico o vidrio/sílice, grabada con un solo canal o con múltiples canales, y que incorpora un detector electroquímico, y que está unido a un detector de positrones, puede usarse para analizar productos radiomarcados. El dispositivo puede activarse por presión o
10 mediante un flujo electroosmótico. Puede usarse un tercer dispositivo microfabricado, grabado con múltiples canales de separación, para separar y aislar compuestos radiomarcados. La metodología desarrollada usando estos dispositivos para radiomarcaje, aislamiento y análisis de productos puede combinarse en un solo dispositivo microfabricado, que incorpora las características de los elementos de analítica preparativa y separación descritos.

15 En dichos dispositivos, las redes predeterminadas de microcanales o capilares, típicamente de 10-300 μm , más típicamente de 50-300 μm de diámetro, se graban o se mecanizan de otra manera sobre la superficie de un sustrato, fabricado adecuadamente de vidrio o silicio. Como alternativa, los microcanales pueden crearse usando polímeros (por ejemplo, plástico PEEK, polidimetisiloxano, SU8 (una fotorresistencia basada en epoxi), resina
20 epoxi o polimetilmetacrilato), que puede verse sobre una plantilla (normalmente de vidrio), se permite que se curen y después se desprenden, o se fabrican por moldeo por inyección, estampación en caliente, colada, litografía o mecanizado.

Estos canales pueden sellarse por enlace de una placa de recubrimiento, adecuadamente fabricada de un metal (por ejemplo, oro o plata) o más habitualmente vidrio, creando una red contenida capaz de manipular volúmenes de picolitros, de líquido o gas. El
25 procedimiento de sellado usado depende de los materiales seleccionados, y puede seleccionarse entre enlace térmico (para chips de vidrio), enlace anódico (para chips de silicio) y para chips poliméricos el procedimiento de sellado puede seleccionarse entre fijación, pegado, aplicación de calor y presión, y adhesión natural. Pueden usarse volúmenes de
30 nanolitros y picolitros para los aspectos analíticos, aunque los dispositivos pueden manipular flujos de hasta cientos de microlitros por minuto. Esto podría aumentarse adicionalmente, por ejemplo, apilando múltiples dispositivos. Estos dispositivos están diseñados para usarlos con bombas de microjeringa (disponibles en Kloehe Limited, Las Vegas, EE.UU.) o con flujo electroosmótico usando capilares de sílice fundida, para hacer de interfaz entre los reactivos y
35 los sistemas analíticos (tales como ultravioleta (UV), electroforesis capilar (EC),

electrocromatografía capilar (ECC), electroquímica, índice de refracción y detectores de radiactividad).

Los procedimientos radioanalíticos no se han realizado previamente en un dispositivo microfabricado. Un obstáculo principal para conseguir esto ha sido la dificultad de crear la interfaz entre el dispositivo microfabricado y los suministros de reactivo externos y los detectores de radiactividad adecuados. El uso en un detector de positrones miniaturizado en línea (por ejemplo, como se describe en el documento WO 99/67656 o en Gillies et al, J. Label. Compds. Radipharma., 42, S886-S888 (1999)) permitirá crear una interfaz con el dispositivo microfabricado a través del capilar de una electroforesis capilar (EC) o un sistema de electrocromatografía capilar (ECC). Cuando se usa con cantidades grandes (por ejemplo > 1 mCi) de radiactividad, el dispositivo puede unirse a un sistema de HPLC convencional, equipado con detectores de radiactividad y UV o electroquímicos.

La invención se ilustrará adicionalmente, a modo de ejemplo, con referencia a los siguientes dibujos:

La Figura 1 es una representación esquemática, en planta, de un elemento de microcanal individual del aparato microfabricado, para realizar la radiosíntesis y la síntesis de productos radiomarcados para su uso como radiomarcadores;

La Figura 2 es una vista en planta esquemática de un elemento analítico, de tipo microcanal, de un dispositivo microfabricado, que incorpora un detector electroquímico y que está conectado a un detector de positrones a través de un capilar de sílice fundida o un tubo de plástico con taladro capilar inerte, adecuado, (por ejemplo, de PEEK o TEFLON);

La Figura 3 es una vista en planta esquemática del elemento de separación, de tipo microcanal, de un dispositivo microfabricado que incorpora un detector electroquímico y que está conectado a un detector de positrones a través de un capilar de sílice fundida o un tubo de plástico con taladro capilar inerte, adecuado, (por ejemplo, de PEEK o TEFLON), para realizar la separación cromatográfica de los productos de reacción y precursores, radiactivos y no radiactivos;

La Figura 4 es una vista esquemática de un dispositivo microfabricado capaz de realizar todas las funciones de los elementos mostrados en las Figuras 1-3, en concreto mezcla y reacción, separación y análisis, en un solo chip. Éste se muestra unido a depósitos de entrada para reactantes y a un detector de positrones y un colector para recoger los productos o desviar el eluyente hacia el residuo, a través de un capilar de sílice fundida o un tubo de plástico con taladro capilar inerte, adecuado, (por ejemplo, de PEEK o TEFLON).

La Figura 5 es una representación de HPLC del producto del Ejemplo 1.

La Figura 6 es una vista en planta, esquemática, de un sistema de síntesis de

radiomarcador total microfabricado.

Con referencia a la Figura 1, el chip de mezcla/calentamiento o reacción (5) es aproximadamente de 1 cm cuadrado y comprende vidrio, plástico, sílice, metal o un material compuesto de cualquier combinación de los mismos, microfabricado para proporcionar accesos de entrada (1) y (2), para la introducción de reactantes, radiactivos y no radiactivos, en forma de gases, líquidos, soluciones o suspensiones en disolventes adecuados, y un acceso de salida (3), para la recogida de la mezcla de reacción, o los componentes de la misma. Puede incorporarse también un tercer acceso de entrada (no mostrado), en algún punto a lo largo del microcanal, para permitir la introducción de un tercer reactivo, por ejemplo, para su uso en una etapa de desprotección. Estos accesos están unidos a un sistema de microcanales que se ha microfabricado sobre la estructura, y que introduce los reactantes en los canales de mezcla (4), diseñados para proporcionar una mezcla rápida y eficaz y que, de esta manera, conduce a una reacción rápida y eficaz y a la incorporación de radioisótopos en los compuestos de interés, para su uso como compuestos radiofarmacéuticos. Los reactantes pueden introducirse en el dispositivo usando bombas de microjeringa o, en ciertos casos, usando un flujo electroosmótico. El dispositivo puede calentarse, si se requiere, mediante la unión de un elemento calefactor adecuado (6). Este dispositivo puede usarse solo o como un componente de un sistema de radiosíntesis automatizado, para sustituir los recipientes de reacción usados actualmente de vidrio convencional, o de otro material, tal como plástico o carbono vítreo, para simplificar el sistema automatizado.

El chip de reacción mostrado en la Figura 1 puede conectarse en serie a, o apilarse con el dispositivo mostrado en la Figura 2, denominado chip analítico, que es de aproximadamente 1 cm por 3 cm. Éste tiene un acceso de entrada (7) y un acceso de salida (8) para introducir y recoger, respectivamente, mezclas de reacción o componentes de las mismas, hacia o desde el microcanal microfabricado sobre el dispositivo. Otros dos accesos (9) y (10) actúan como la entrada y salida, respectivamente, para una solución tampón del electrolito adecuado. La aplicación de una tensión al dispositivo permite que los componentes de la mezcla de reacción, o un componente de la misma, se separen, basándose en los principios de electroforesis capilar. Un detector electroquímico (13) que consiste en, por ejemplo, electrodos de platino, puede incorporarse en el dispositivo, en una posición tal que esté en contacto con la mezcla de reacción que fluye, o componentes de la misma, y se usa para detectar compuestos estables en la solución. El acceso de salida (10) está conectado a un detector de positrones adecuado (11) a través de un capilar de sílice fundida (12) o un tubo de plástico con taladro capilar inerte, adecuado, (por ejemplo, de PEEK o TEFLON) para controlar los compuestos radiactivos. El dispositivo mostrado en la Figura 2 puede usarse como un componente de un sistema de

síntesis automatizado, para simplificar el sistema para producir compuestos radiomarcados para su uso como compuestos radiofarmacéuticos, para analizar mezclas de reacción de compuestos radiomarcados o como un dispositivo de diagnóstico para comprobar el progreso de un procedimiento radiosintético. Puede combinarse con el dispositivo en la Figura 1 (chip de mezcla, calentamiento) para realizar una radiosíntesis y análisis de los productos de esto.

En la Figura 3 se muestra un dispositivo de separación, que también es de aproximadamente 1 cm por 3 cm. Éste está microfabricado para que consista en un acceso de entrada (14) que conduce a un colector (28) que separa las mezclas de reacción inyectadas en una serie de canales de separación paralelos (15). La aplicación de una alta tensión a través del dispositivo permite que los componentes de la mezcla de reacción se separen por electroforesis capilar. El flujo de salida de todos los canales se recoge en un colector de recogida incorporado (16). El eluido recogido puede hacerse pasar después a través de una cámara de mezcla incorporada (no mostrada) y, de esta manera, a un detector electroquímico incorporado (13) y hacerse pasar a través de la salida (17) a través de un capilar de sílice fundida (12) o un tubo de plástico con taladro capilar inerte, adecuado, (por ejemplo, de PEEK o TEFLON) hasta un detector de positrones (11). Después de pasar por el detector de positrones, las fracciones de la muestra puedan recogerse o hacerse pasar sobre el dispositivo analítico mostrado en la Figura 2. El dispositivo mostrado en la Figura 3 puede usarse como un componente de un sistema de síntesis automatizado para producir compuestos radiomarcados separados y analizarlos para su uso como compuestos radiofarmacéuticos.

La Figura 4 ilustra, esquemáticamente, cómo todos los elementos de los dispositivos mostrados en las Figuras 1-3 se incorporan en un solo dispositivo. Los reactantes se introducen desde depósitos o fuentes (18 ó 19) a través de capilares de sílice fundida o tubos de plástico con taladro capilar inerte, adecuados, (por ejemplo, de PEEK o TEFLON) a través de accesos de entrada (20, 21) microfabricados sobre el dispositivo, usando microjeringas (no mostradas) o electroforesis capilar. La mezcla de reacción se hace pasar después a través de una serie de microcanales (22) donde ocurre la reacción. La mezcla de reacción se hace pasar después a través de una entrada (23) a través de un módulo de separación CE incorporado (24) que consiste en una serie de microcanales paralelos, como se describe en la Figura 3. El eluido del módulo de separación se hace pasar después a través de un detector electroquímico incorporado (13) y, de esta manera, a través de una salida (25), a través de un detector de positrones (11), seguido de la recogida del producto o productos deseados (positivo) (26) o elución a residuo (negativo) (27). Este dispositivo es capaz, por lo tanto, de realizar todas las etapas de una radiosíntesis; mezcla y reacción, separación, aislamiento y análisis del producto o productos. La invención descrita puede usarse como un componente de un sistema de

síntesis automatizado para producir, separar y analizar compuestos radiomarcados, para su uso como compuestos radiofarmacéuticos.

La Figura 6 ilustra un sistema de síntesis de radiomarcador total microfabricado, que es de aproximadamente 76 mm cuadrados. Todos los aspectos de la producción del radiomarcador pueden conseguirse en un flujo continuo en un solo dispositivo microfabricado integrado. De esta manera, los reactivos y precursores se introducen a través de las entradas (32), (33), (34) y (35), y pueden someterse a un módulo de pre-concentración (36) o módulo de filtración (39). La síntesis del agente de radiomarcaje ocurre (37) antes de la mezcla y reacción del agente de radiomarcaje con un precursor para producir un producto radiomarcado (38). La modificación química del producto radiomarcado (por ejemplo, desprotección) ocurre (41) antes de la purificación (40), análisis (42) y formulación (43). El producto final sale a través de la salida (44) y los subproductos residuales a través de la salida (45). Una pequeña sección transversal del dispositivo muestra la construcción a partir de dos placas de vidrio (46) y (49), conteniendo el sustrato polimérico (47) un microcanal a través del cual fluye el producto (48).

Los dispositivos microfabricados descritos están diseñados para manejar volúmenes de flujo de líquido o gas de 10 nanolitros a 1 mililitro por minuto. Sin embargo, la capacidad de flujo puede aumentarse usando series de dispositivos apilados o en paralelo.

La invención se ilustrará adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes:

Ejemplos

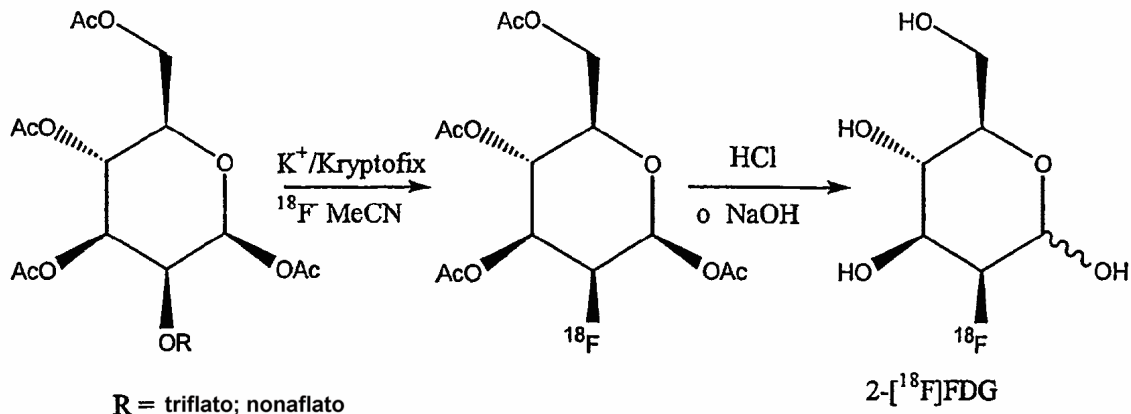
Preparación de un dispositivo microfabricado adecuado para radiosíntesis

Sustratos de vidrio de sosa-cal, sensibilizados con calidad de impresión, con Cromaticidad Reflectante Baja (Cr1000) de 76 mm, con un espesor de 1,52 mm (0,06 pulgadas) se adquirieron en Nanofilm (Westlake Village, Canadá).

El diseño del dispositivo microfabricado se realizó en un PC en el que se ejecutó Autocad LT para Windows 95. Se usaron máscaras preparadas usando un sistema litográfico de escritura directa (prototipo DWLII, Heidelberg Instruments) para sombrear los sustratos moldeados. El grabado en húmedo usó una solución acuosa al 5% ($\text{NH}_4\text{F}:\text{HF}$ 7:1), HCl al 9,25%, alcanzando velocidades de grabado de $0,2 \mu\text{m min}^{-1}$, todos los canales se grabaron a $30 \mu\text{m}$. Antes de la unión, la placa de recubrimiento perforada previamente (portaobjetos de microscopio) y el sustrato grabado se sonicaron en DMF, acetona y metanol (2 minutos cada uno) y se sumergieron en ácido sulfúrico concentrado (2 horas). El lavado adicional con agua ultrapura y secado bajo un flujo de nitrógeno, precedió a la carga del horno (Thermicon T, Heraeus instruments). La unión térmica usó un programa de temperatura gradual de 12 horas, con una temperatura máxima de 600°C .

Los siguientes Ejemplos demuestran el principio de que los dispositivos microfabricados pueden usarse para realizar la radiosíntesis.

Ejemplo 1. Radiomarcaje de 2-[¹⁸F]fluorodesoxiglucosa (FDG) usando [¹⁸F]fluoruro.



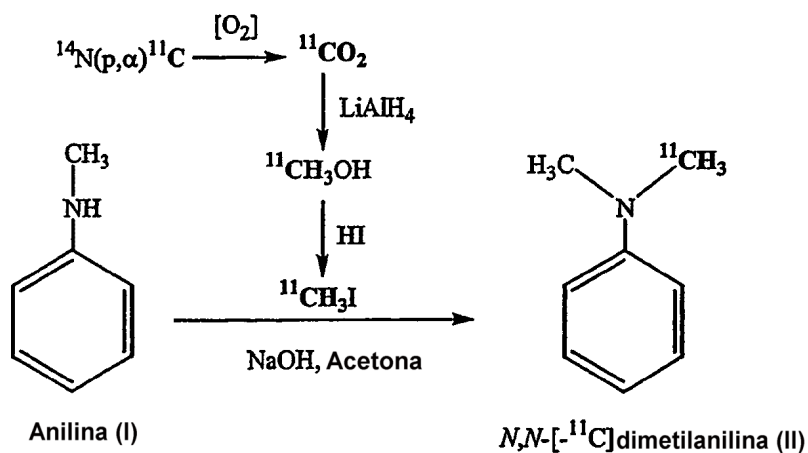
- 5 El secado azeotrópico de [¹⁸F]fluoruro se consiguió usando el siguiente procedimiento. Un recipiente de secado de vidrio se precargó con Kryptofix[2.2.2.] (4 mg) y K₂CO₃ (4,6 mg) disuelto en 200 µl de H₂O y 800 µl de acetonitrilo. A este recipiente se le añadió [¹⁸F]fluoruro acuoso (aproximadamente 1 ml) y el recipiente se calentó a 120°C con un sobreflujo de gas nitrógeno (aproximadamente 2 ml min⁻¹). Después de 10 minutos de calentamiento se añadió 1
- 10 ml de acetonitrilo. Adicionalmente, siguieron 2 adiciones de 1 ml de acetonitrilo, medidas a intervalos de 10 minutos, hasta que el fluoruro estuvo completamente seco. Después, con agitación a 80°C (aproximadamente 2 min), el residuo de fluoruro/Kryptofix[2.2.2.] se reconstituyó en 1 ml de acetonitrilo (aproximadamente 26% eficaz). Para el radiomarcaje “en el chip” el K⁺/K 2.2.2./[¹⁸F]fluoruro seco, en acetonitrilo, se infundió (usando impulsores de
- 15 jeringa de precisión) en una de las dos entradas del chip, mientras que la solución de triflato de tetraacetilmanosa (precursor FDG) (10 mg en 500 µl de acetonitrilo) se infundió, a una velocidad igual, en la otra. El caudal total se varió entre 5-100 µl min⁻¹ y la reacción se realizó a 75°C para dar desoxiglucosa tetraacetilada fluorada con 2-[¹⁸F]. La mezcla de producto recogido de la salida del chip se analizó por HPLC (columna NH₃ Nucleosil de 10 µ, de 250 x
- 20 4,6 mm), caudal 20 ml min⁻¹, fase móvil: 80% acetonitrilo, 20% de agua. El producto, FDG no hidrolizado, eluyó aproximadamente a los 2 minutos sin otra fracción radioquímica evidente. El rendimiento radioquímico fue del 20-49%, n>10.

- Los grupos protectores de acetilo pueden retirarse posteriormente por hidrólisis con ácido o base mediante la adición de la solución acuosa de ácido clorhídrico o hidróxido sódico,
- 25 respectivamente. De esta manera, por ejemplo, se hacen funcionar dos dispositivos microfabricados en serie, para ampliar la etapa de fluoración a la etapa de desprotección. Se suministró desoxiglucosa tetraacetilada fluorada con 2-[¹⁸F], preparada como se ha descrito

anteriormente, a un acceso de un segundo dispositivo idéntico y el hidróxido sódico acuoso se suministró a una segundo acceso del dispositivo. Las soluciones se mezclaron a temperatura ambiente dando 2-[^{18}F]fluoro-2-desoxi-D-glucosa con un rendimiento radioquímico del 24%. Este fue un procedimiento de flujo continuo, siendo el tiempo de residencia del fluido en la red del dispositivo combinado menor de 1 minuto.

En la Figura 5 se muestra una representación de HPLC del producto resultante, en la que el pico (29) es desoxiglucosa tetraacetilada fluorada con 2-[^{18}F], el pico (30) es [^{18}F]fluoruro y el pico (31) es 2-[^{18}F]fluoro-2-desoxi-D-glucosa.

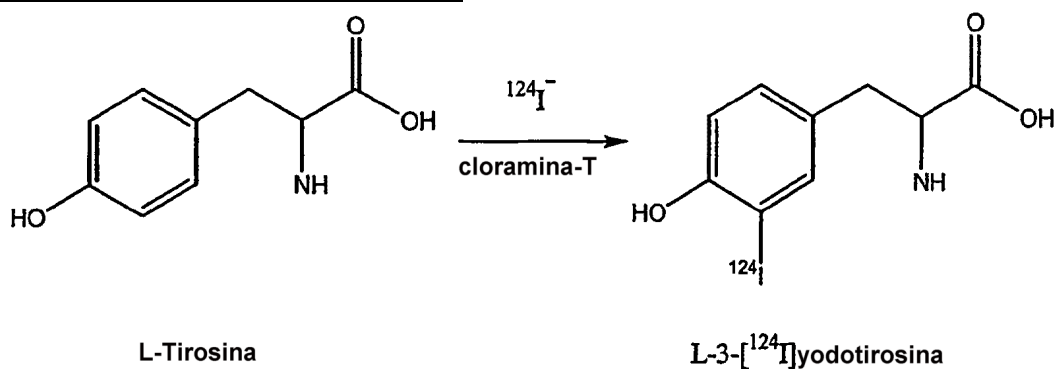
Ejemplo 2. Metilación con [^{11}C] de *N*-metilanilina



Se introdujeron yodometano en acetona y una solución de *N*-metilanilina, que contenía hidróxido sódico en acetona, a temperatura ambiente, a través de capilares de sílice fundida, en el dispositivo de mezcla microfabricado. El eluido del dispositivo se analizó por HPLC y se muestra que contiene *N,N'*-dimetilanilina.

Se usa [^{11}C]yodometano de la misma manera, con calentamiento del dispositivo, para producir *N,N'*-[^{11}C]dimetilanilina. Como alternativa, se usan [^{11}C]metiltriflato o nonaflato para producir el mismo compuesto sin calentar el dispositivo.

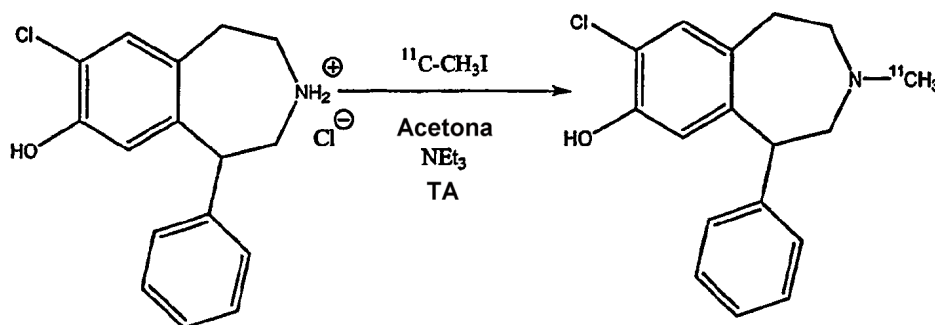
Ejemplo 3. Síntesis de L-[^{124}I]-yodotirosina



Se introdujeron soluciones acuosas (que contenían KH_2PO_4 0,1 M) de yodo, cloramina-

T y L-tirosina en un dispositivo microfabricado que contenía una cámara de mezcla (descrita en la referencia Gillies *et al* anterior) a través de capilares de sílice fundida usando bombas de microjeringa Kloher, con control informático, a un caudal de 50 μl por minuto. El eluido del dispositivo se analizó por HPLC en fase inversa y mostró que contenía yodotirosina, que se aisló en forma pura y su identidad se confirmó por espectrometría de masas. El mismo procedimiento se usa con el yodo-124 para producir L-3-[^{124}I]yodotirosina.

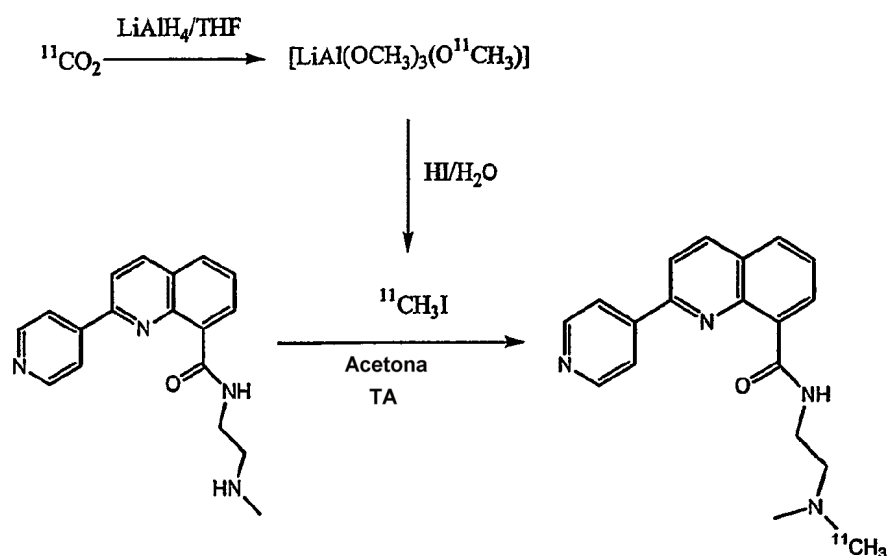
Ejemplo 4. Metilación con N-[^{11}C] de R(+)-7-cloro-8-hidroxi-3-[^{11}C]metil-1-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepina



Se infundió yoduro de metilo [^{11}C] en acetona en una entrada del microchip, mientras que la solución de precursor (1 mg) en acetona, que contenía éter trietilico (2 μl) se infundió, a una velocidad igual, en la otra entrada. La conversión se efectuó a temperatura ambiente y caudales de 10 a 100 $\mu\text{l min}^{-1}$, usando procedimientos análogos a los descritos en el Ejemplo 2, que dieron el producto en 1 minuto y con un rendimiento radioquímico del 5 al 19% ($n = 5$).

La caracterización del producto se proporcionó mediante espectrometría de masas y rmn.

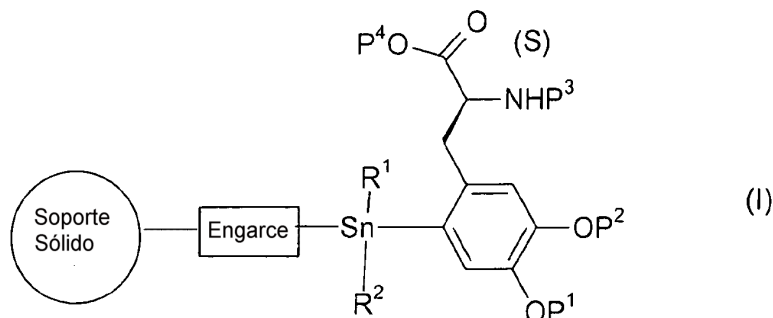
Ejemplo 5. Metilación con N-[^{11}C] de (2-metilamino-etil)-amida del ácido 2-piridin-4-il-quinolin-8-carboxílico



Esta conversión se efectuó a temperatura ambiente, a caudales de 10-100 $\mu\text{l min}^{-1}$, usando procedimientos análogos a los descritos en el Ejemplo 2. Los tiempos de reacción fueron menores de un minuto y los rendimientos radioquímicos fueron, como media, del 10% (n = 2). El producto se caracterizó por HPLC de referencia.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un dispositivo microfabricado para la radiosíntesis de un radiomarcador adecuado para su uso en PET; con la condición de que dicho dispositivo microfabricado no esté revestido con un precursor unido al soporte de fórmula (I) o (II):



en la que R^1 y R^2 se seleccionan, independientemente, entre alquilo C_{1-6} y cada P^1 , P^2 , P^3 y P^4 es, independientemente, hidrógeno o un grupo protector;

10 SOPORTE SÓLIDO-ENGARCE-X-Precursor de MARCADOR (II)

en la que el Precursor de MARCADOR es un precursor para un radiomarcador [^{18}F] y X es un grupo que promueve la sustitución nucleófila en un sitio específico en el Precursor de MARCADOR unido, tal como $-\text{SO}_2\text{O}-$, I^+ , o $-\text{N}(\text{alquilo } C_{1-6})_2^+$.

15

2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el que el radiomarcador producido está marcado con ^{11}C , ^{18}F o ^{124}I .

20

3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que el radiomarcador es 2- ^{18}F fluorodesoxiglucosa o L-6- ^{18}F fluoro-DOPA.

4. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende una o más de las etapas (i) a (vi) realizadas sobre un dispositivo microfabricado:

25

(i) filtración, pre-concentración, asilamiento o activación de un reactivo o un precursor radiactivo;

(ii) síntesis de un agente de radiomarcaje;

(iii) mezcla y reacción de un agente de radiomarcaje con un precursor para producir un producto radiomarcado;

(iv) modificación química de un producto radiomarcado;

(v) análisis de un producto radiomarcado; y/o

(vi) separación de un producto radiomarcado, a partir de uno o más subproductos.

5. Uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el producto radiomarcado producido
5 es un radiomarcador tal como 2- ^{18}F fluorodesoxiglucosa o L-6- ^{18}F fluoro-DOPA.
6. Uso de acuerdo con la reivindicación 4 en el que el agente de radiomarcaje se
selecciona entre:
- 10 ^{11}C metano;
 ^{11}C dióxido de carbono;
 ^{11}C monóxido de carbono;
 ^{11}C RX, en la que R se selecciona entre metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, ciclopropilo,
 bencilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, y flúor- u halo-análogos de los mismos; y X se
 selecciona entre halo, mesilato, tosilato, triflato, nonaflato, nitrato, tiol, isocianato, litio y
 15 aldehído;
 $\text{R}'[^{11}\text{C}]\text{COCl}$, $\text{R}'[^{11}\text{C}]\text{COOH}$, $\text{R}'[^{11}\text{C}]\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{R}'[^{11}\text{C}]\text{COH}$, o
 $\text{R}'[^{11}\text{C}]\text{COR}'$, en la que R' se selecciona entre metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo,
 ciclopropilo, bencilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo y flúor- o halo-análogos de los
 mismos;
 20 ^{11}C CN-;
 ^{11}C CCl₄;
 ^{11}C fosgeno;
 ^{11}C urea;
 ^{11}C bromuro de cianógeno;
 25 ^{11}C fluoruro; y
 ^{124}I yoduro.

Fig.1.

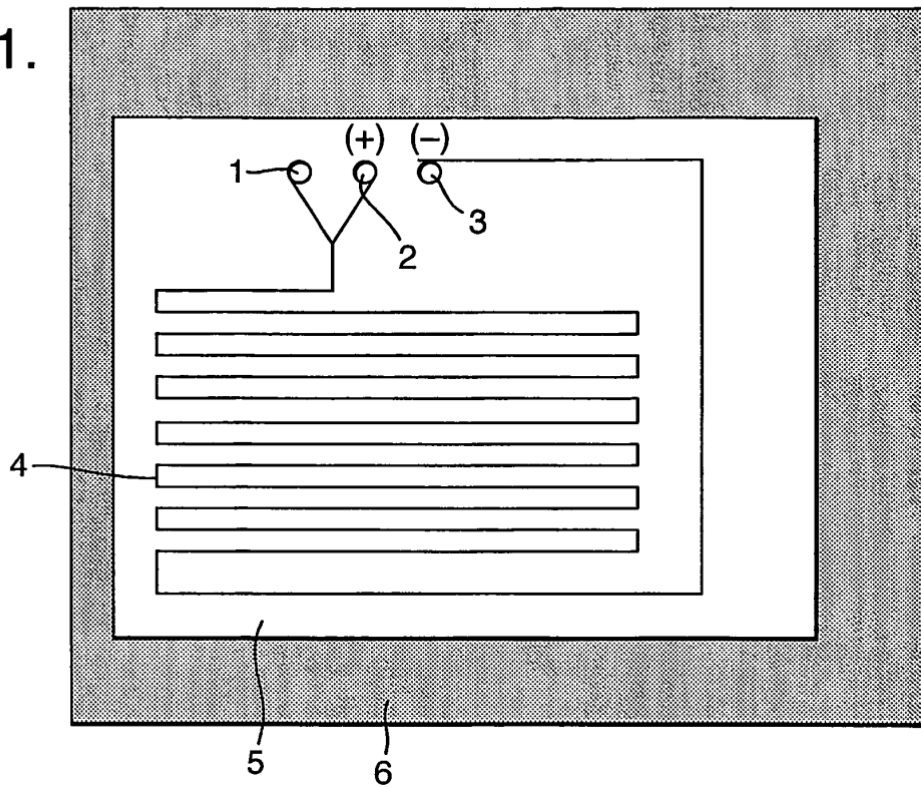


Fig.2.

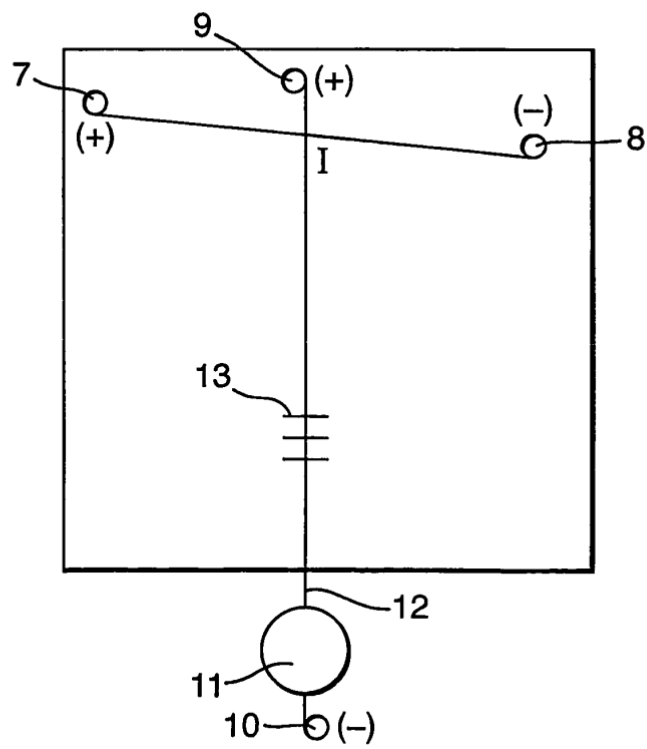


Fig.3.

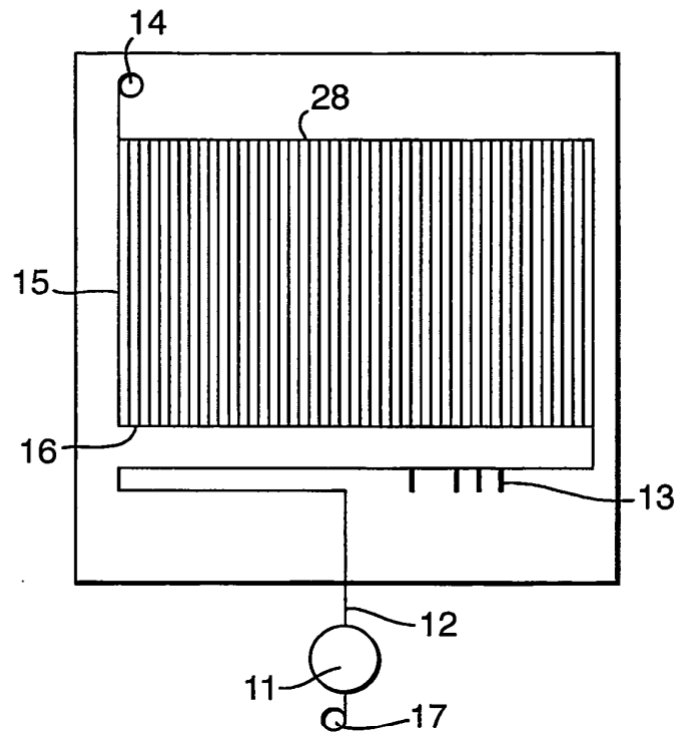


Fig.4.

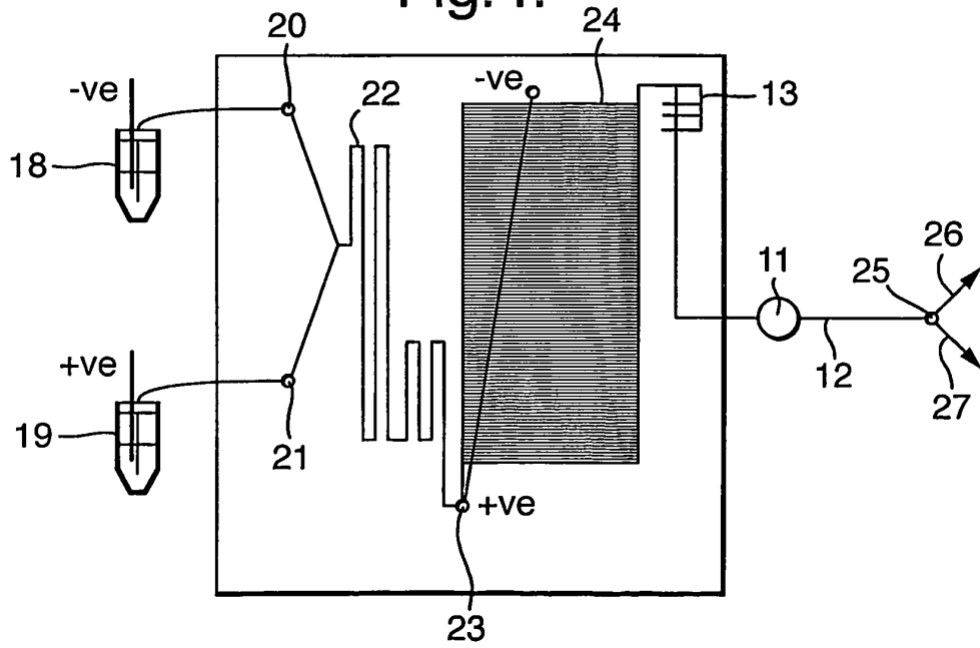


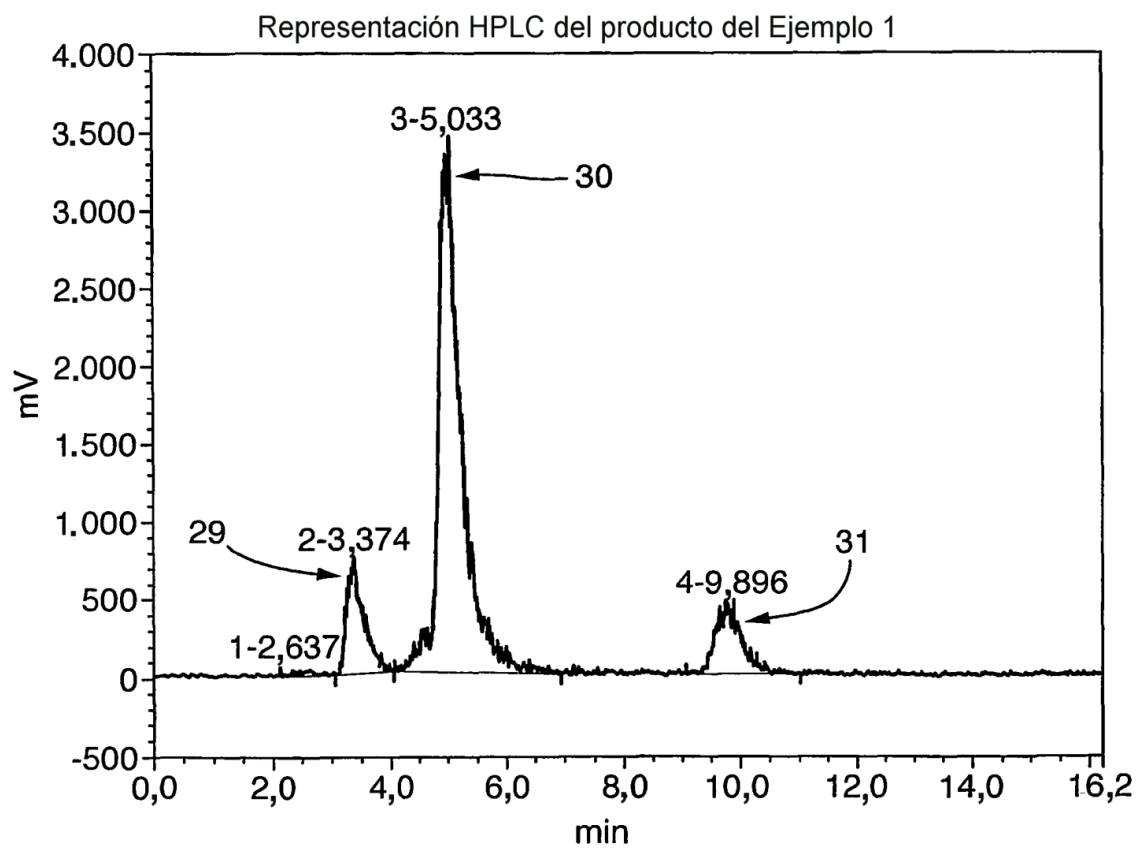
Fig.5.

Fig.6.

