

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 005 832**

51 Int. Cl.:

C07B 59/00 (2006.01)

B01J 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.11.2014** **PCT/EP2014/074330**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.05.2015** **WO15071288**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2014** **E 14796762 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.10.2024** **EP 3068747**

54 Título: **Casete de doble ciclo para la síntesis de compuestos marcados con 18F**

30 Prioridad:

13.11.2013 US 201361903486 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.03.2025

73 Titular/es:

GE HEALTHCARE LIMITED (100.00%)
Pollards Wood, Nightingales Lane
Chalfont St. Giles, Buckinghamshire HP8 4SP,
GB

72 Inventor/es:

FRANCI, XAVIER

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 3 005 832 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

Casete de doble ciclo para la síntesis de compuestos marcados con ^{18}F

5 **Campo técnico de la invención**

La presente invención se refiere a dispositivos y métodos para la síntesis automatizada de compuestos marcados con ^{18}F , en particular, aquellos adecuados para usar como agentes de obtención de imágenes in vivo para la tomografía por emisión de positrones (PET). En particular, el énfasis de la presente invención es la síntesis automatizada de más de un único lote de un compuesto marcado con ^{18}F usando solo un único casete desechable.

Descripción de la técnica relacionada

Los compuestos radiomarcados para su uso como agentes de obtención de imágenes in vivo se preparan típicamente por medio de un aparato de síntesis automatizado (alternativamente, "radiosintetizador"). Dichos aparatos de síntesis automatizados son comercializados por una variedad de proveedores, que incluyen: GE Healthcare; CTI Inc.; Ion Beam Applications S.A. (Chemin du Cyclotron 3, B-1348 Louvain-La-Neuve, Bélgica); Raytest (Alemania) y Bioscan (EE. UU.). La radioquímica tiene lugar en un "casete" o "cartucho" diseñado para caber de manera extraíble e intercambiable en el aparato, de tal manera que el movimiento mecánico de las partes móviles del aparato controla el funcionamiento del casete. Los casetes adecuados se pueden proporcionar como un kit de piezas que se monta en el aparato en un número de etapas, o se pueden proporcionar como una sola pieza que se une en una sola etapa, reduciendo de este modo el riesgo de error humano. La disposición de una sola pieza es generalmente un casete desechable de un solo uso que comprende todos los reactivos, recipientes de reacción y aparatos necesarios para llevar a cabo la preparación de un lote determinado de radiofármaco. Las patentes US2013/0144052A1 (ABX Advanced Biochemical Compounds GMBH) y US2012/0283490A1 (Siemens Medical Solutions USA Inc.) describen dispositivos y sistemas para la síntesis de compuestos radiomarcados que comprenden varios elementos desechables.

El casete FASTlab™ de GE Healthcare, disponible comercialmente, es un ejemplo de un tipo de casete desechable de una sola pieza precargado con reactivos que comprende una serie lineal de válvulas, cada una conectada a una abertura donde se pueden conectar reactivos o viales. Cada válvula tiene una unión macho-hembra que interactúa con un brazo móvil correspondiente del aparato de síntesis automatizado. La rotación externa del brazo controla por lo tanto la apertura o el cierre de la válvula cuando el casete está unido al aparato. Las partes móviles adicionales del aparato se han diseñado para engancharse a las puntas de los émbolos de las jeringas y, de este modo, elevar o deprimir los cilindros de las jeringas. El casete FASTlab™ tiene 25 válvulas idénticas de 3 vías en una matriz lineal, ejemplos de las cuales se muestran en las Figuras 1 y 2. La Figura 1 ilustra el casete FASTlab™ de fosfato para FDG disponible comercialmente, y la Figura 2, el casete FASTlab™ de citrato para FDG disponible comercialmente.

La síntesis de ^{18}F fluorodesoxiglucosa (^{18}F FDG) en los casetes de las Figuras 1 y 2 se lleva a cabo mediante fluoración nucleófila con ^{18}F fluoruro producido por una reacción de $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ -. El ^{18}F fluoruro así producido entra en el casete en la posición 6 y se dirige a una columna de extracción en fase sólida (SPE) de QMA (intercambio aniónico de metilamonio cuaternario) colocada en la posición 4 a través de un tubo en la posición 5. El ^{18}F fluoruro es retenido mediante una reacción de intercambio iónico y el agua- ^{18}O se deja fluir a través de la vía común del casete para ser recuperado en la posición 1. El ^{18}F fluoruro retenido en el QMA se eluye a continuación con una solución de eluyente (solución de acetonitrilo de Kryptofix™ 222 y carbonato de potasio en la posición 2) extraída en la jeringa en la posición 3 y se introduce en el recipiente de reacción (conectado por tres tubos, uno que conduce a cada una de las posiciones 7, 8 y 25). El agua se evapora y el precursor de triflato de manosa (desde la posición 12) se añade al recipiente de reacción. A continuación, el triflato de manosa marcado con ^{18}F (^{18}F fluorotetraacetilglucosa, FTAG) se atrapa y, por lo tanto, se separa de los ^{18}F fluoruros en una columna de SPE tC18 ambiental en la posición 18 a través de un tubo en la posición 17 para someterse a hidrólisis con NaOH (del vial en la posición 14) para eliminar los grupos protectores del acetilo. La solución básica hidrolizada resultante se neutraliza a continuación en la jeringa colocada en la posición 24 con ácido fosfórico en el caso de la configuración de fosfato (Figura 1) o ácido clorhídrico presente en un tampón de citrato en el caso de la configuración de citrato (Figura 2). La posible eliminación del ^{18}F fluoruro residual tiene lugar en una columna de SPE de alúmina en la posición 20 a través de un tubo en la posición 21 y la eliminación de impurezas débilmente hidrófilas en una columna de SPE de HLB (para el casete de fosfato de la Figura 1) o una columna de SPE de tC18 (para el casete de citrato de la Figura 2) en la posición 22 a través de un tubo en la posición 23. La solución purificada final de ^{18}F FDG se transfiere a un vial de recogida a través de un tubo largo conectado en la posición 19.

2 posiciones del casete FASTlab™ están libres en el caso de cada uno de los casetes ^{18}F FDG conocidos ilustrados en las Figuras 1 y 2, es decir, las posiciones 9 y 10. En las válvulas de estas posiciones, se colocan tapones. Las patentes WO2013/053940A1 (GE Healthcare Limited) y WO2013/053941A1 (GE Healthcare Limited) describen métodos mejorados de radiofluoración susceptibles de automatización utilizando dichos casetes desechables.

Un sitio de producción típico de ^{18}F FDG produce un mínimo de 2 lotes de ^{18}F FDG en un día. Sin embargo, debido a la actividad residual en el casete FASTlab™, la línea de transferencia y la sombra del frasco de residuos una vez completado un lote, es imposible por motivos de seguridad llevar a cabo ciclos consecutivos del proceso descrito

anteriormente en el mismo aparato. Esto, junto con el tamaño relativamente grande del aparato FASTlab™, significa que para producir un segundo lote de [^{18}F]FDG el mismo día usando este proceso, es necesario tener un segundo aparato en una segunda célula caliente.

- 5 Sería deseable disponer de un medio para producir más de un único lote de [^{18}F]FDG utilizando el FASTlab™ el mismo día y en una sola célula caliente. En los dos casetes FASTlab™ para [^{18}F]FDG disponibles comercialmente descritos arriba, se usan 23 de las 25 posiciones totales. Por lo tanto, no es posible colocar todos los componentes duplicados para un segundo lote en el mismo casete.

10 Resumen de la invención

En un aspecto, la presente invención proporciona un casete (1) para la síntesis de una pluralidad de lotes de un trazador de tomografía por emisión de positrones (PET) marcado con [^{18}F], en donde dicho casete comprende:

- 15 (i) una columna de intercambio aniónico (3, 4) para cada uno de dicha pluralidad de lotes;
 (ii) un recipiente de reacción (5);
 (iii) un vial (2) que contiene una alícuota de eluyente para cada uno de dicha pluralidad de lotes;
 20 (iv) un vial (6) que contiene una alícuota de un compuesto precursor para cada uno de dicha pluralidad de lotes;
 (v) viales de reactivos (7, 8, 9) en donde cada vial de reactivo contiene una alícuota de reactivo para cada uno de dicha pluralidad de lotes;
 25 (vi) opcionalmente, una columna de extracción en fase sólida (SPE) para la desprotección (10) y/o una o más columnas de SPE para la purificación (11, 12); y,
 (vii) medios para la limpieza de dicho recipiente de reacción y dichas columnas de SPE.

30 en donde los componentes (i)-(vii) del casete están conectados de manera fluida selectivamente a lo largo de una vía de fluido lineal elaborada con un material polimérico rígido de calidad farmacéutica que es resistente a la radiación.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para la síntesis de una pluralidad de lotes de un trazador de PET marcado con [^{18}F], en donde dicho método comprende:

- 35 (a) atrapar una primera alícuota de [^{18}F]fluoruro en una primera columna de intercambio aniónico (3);
 (b) proporcionar una primera alícuota de un compuesto precursor en un recipiente de reacción (5);
 40 (c) hacer pasar una primera alícuota de eluyente a través de dicha primera columna de intercambio aniónico (3) para eluir dicha primera alícuota de [^{18}F]fluoruro en dicho recipiente de reacción (5);
 (d) calentar el recipiente de reacción (5) durante un tiempo predeterminado para obtener un trazador de PET bruto marcado con [^{18}F];
 45 (e) desproteger opcionalmente dicho trazador de PET bruto marcado con [^{18}F] en una columna de SPE (10);
 (f) purificar opcionalmente dicho trazador de PET bruto marcado con [^{18}F] en una o más columnas de SPE (11, 12);
 50 (g) limpiar dicho recipiente de reacción (5) y dichas columnas de SPE (10, 11, 12);
 (h) repetir las etapas (a)-(g) una o más veces, usando cada vez una alícuota posterior de [^{18}F]fluoruro, una columna de intercambio aniónico posterior (4) y una alícuota posterior de un compuesto precursor de [^{18}F]FDG;
 55 en donde dicho método se lleva a cabo en un único casete (1).

En la presente descripción, se describe un medio de almacenamiento no transitorio que comprende un código de programa legible por ordenador, en donde la ejecución del código de programa legible por ordenador hace que un procesador lleve a cabo las etapas del método de la invención según se define anteriormente en la presente descripción.

La presente invención permite que un sintetizador de una célula caliente produzca secuencialmente múltiples lotes de un trazador de PET marcado con [^{18}F]. Se ha demostrado en la presente descripción que se alcanzan buenos rendimientos para cada uno de los dos lotes secuenciales de [^{18}F]FDG, así como un buen atrapamiento y elución de la actividad entrante. Los análisis de control de calidad de los dos lotes descritos en el Ejemplo 1 a continuación en la presente descripción demuestran que cada lote cumple los requisitos de la farmacopea para [^{18}F]FDG.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 y la Figura 2 ilustran ejemplos de casetes conocidos para la producción de un lote por casete de un compuesto marcado con [^{18}F].

La Figura 3 ilustra un casete adecuado para llevar a cabo dos ciclos de [^{18}F]FDG en FASTlab™.

La Figura 4 ilustra el flujo de trabajo para producir dos lotes de [^{18}F]FDG en FASTlab™ utilizando un solo casete tal como el que se ilustra en la Figura 3.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Por el término “casete” se entiende un aparato de un solo uso diseñado para caber de manera extraíble e intercambiable en un aparato de síntesis automatizado, de tal manera que el movimiento mecánico de las partes móviles del sintetizador controla el funcionamiento del casete desde fuera del casete, es decir, externamente. El término “de un solo uso”, tal como se usa en el contexto de un casete de la presente invención, significa que el casete está previsto para usarse una vez antes de desecharlo para la producción de una pluralidad de lotes de un trazador de PET marcado con [^{18}F]. Los casetes adecuados comprenden una serie lineal de válvulas, cada una conectada a una abertura donde se pueden conectar reactivos o viales, mediante la punción con aguja de un vial sellado con una membrana invertida o mediante juntas de unión herméticas a los gases. En una realización, cada válvula es una válvula de 3 vías. En una realización, cada válvula es una válvula de llave de paso que comprende una llave de paso giratoria. Cada válvula tiene una unión macho-hembra que interactúa con un brazo móvil correspondiente del aparato de síntesis automatizado. La rotación externa del brazo controla por lo tanto la apertura o el cierre de la válvula cuando el casete está unido al aparato de síntesis automatizado. Las partes móviles adicionales del aparato de síntesis automatizado se han diseñado para engancharse a las puntas de los émbolos de las jeringas y, de este modo, elevar o deprimir los cilindros de las jeringas. El casete es versátil y típicamente tiene varias posiciones en las que se pueden unir los reactivos, y varias son adecuadas para la unión de viales de jeringa de reactivos o columnas de cromatografía. El casete siempre comprende un recipiente de reacción, generalmente configurado de manera que 3 o más aberturas del casete estén conectadas al mismo para permitir la transferencia de reactivos o disolventes desde varias aberturas del casete. Los casetes deben estar diseñados para que sean adecuados para la fabricación de radiofármacos y, por lo tanto, se fabrican a partir de materiales que son de calidad farmacéutica así como resistentes a la radiólisis. En una realización de la presente invención, el casete de un solo uso es un casete FASTlab™, es decir, uno que es adecuado para usar con un aparato de síntesis automatizado FASTlab™.

En una realización de la presente invención, los diversos elementos del casete están conectados de manera fluida selectivamente. El término “conectado de manera fluida selectivamente” significa que es posible seleccionar si el fluido puede pasar o no hacia y/o desde la característica a otra característica de la invención, p. ej., mediante el uso de una válvula adecuada. En una realización de la invención, una válvula adecuada es una válvula de 3 vías que tiene tres aberturas y medios para poner dos de las tres aberturas asociadas en comunicación fluida entre sí mientras se aísla de manera fluida la tercera abertura. En otra realización de la invención, una válvula adecuada es una válvula de llave de paso que comprende una llave de paso giratoria. En una realización, los componentes del casete se conectan de manera fluida selectivamente a lo largo de una vía común. El término “vía común” debe entenderse como una vía de fluido a la que los otros componentes del sistema o del casete de la presente invención están conectados de manera fluida selectivamente. En una realización, la vía común es una vía de fluido lineal. En una realización, la vía común se elabora de un material polimérico rígido de calidad farmacéutica que es resistente a la radiación. Los ejemplos no limitativos de dichos materiales adecuados incluyen polipropileno, polietileno, polisulfona y Ultem®. En una realización, dicha vía común se elabora de polipropileno o polietileno.

Por el término “aparato de síntesis automatizado” se entiende un módulo automatizado basado en el principio de operaciones unitarias como se describe en Satyamurthy y col. (1999 Clin Positr Imag; 2(5): 233-253). El término “operaciones unitarias” significa que los procesos complejos se reducen a una serie de operaciones o reacciones simples, que se pueden aplicar a una variedad de materiales. Dichos aparatos de síntesis automatizados se prefieren para el método de la presente invención, especialmente cuando se desea una composición de radiofármaco. Son comercializados por una variedad de proveedores (Satyamurthy y col., arriba), que incluyen: GE Healthcare; CTI Inc; Ion Beam Applications S.A. (Chemin du Cyclotron 3, B-1348 Louvain-La-Neuve, Bélgica); Raytest (Alemania) y Bioscan (EE. UU.). Los aparatos de síntesis automatizados se diseñan para ser empleados en una célula de trabajo radiactiva configurada adecuadamente, o “célula caliente”, que proporciona un blindaje contra la radiación adecuado para proteger al operador de una posible dosis de radiación, así como ventilación para eliminar los vapores químicos y/o radiactivos. Al usar un casete, el aparato de síntesis automatizado tiene la flexibilidad de producir una variedad de radiofármacos diferentes con un riesgo mínimo de contaminación cruzada, simplemente cambiando el casete. Este enfoque también tiene las ventajas de una configuración simplificada y, por tanto, de un riesgo reducido de error del operador, un mejor cumplimiento de las GMP (buenas prácticas de fabricación), acción multitrazador, cambio rápido entre ciclos de producción, control de diagnóstico automático del casete y los reactivos previo al ciclo, verificación cruzada automática de los códigos de barras de los reactivos químicos vs. la síntesis a realizar, trazabilidad de los reactivos, un solo uso y, por lo tanto, no hay riesgo de contaminación cruzada, manipulación y mal uso.

El término “pluralidad” utilizado en la presente descripción en el contexto de los lotes de un trazador de PET marcado con [^{18}F] pretende referirse a más de un lote, donde más de un lote se sintetiza en un casete de un solo uso. En un aspecto, el término pluralidad se refiere a dos lotes, es decir, un primer lote y un segundo lote. Los términos “primer lote” y “segundo lote” representan dos síntesis consecutivas separadas de un trazador de PET marcado con [^{18}F] producido en el mismo casete, produciéndose el segundo lote solo después de que se haya completado la producción del primer lote, es decir, que el producto se ha recogido en el vial de recogida del producto. El término “lote” se usa para referirse a un lote del trazador de PET final sintetizado marcado con [^{18}F]. Está previsto que la pluralidad de lotes se pueda producir el mismo día y sin necesidad de abrir la célula caliente en la que están presentes el casete y el sintetizador automático.

Un “trazador de PET marcado con [^{18}F]” es un compuesto químico que comprende un átomo de ^{18}F y es adecuado para usar como trazador de PET. Los ejemplos no limitativos de trazadores de PET marcados con [^{18}F] incluyen [^{18}F]fluorodesoxiglucosa ([^{18}F]FDG), [^{18}F]fluoromisonidazol ([^{18}F]FMISO), [^{18}F]fluorotimidina ([^{18}F]FLT), [^{18}F]fluoroazomicina arabinofuranósido ([^{18}F]FAZA), [^{18}F]fluoroetilcolina ([^{18}F]FECH), ácido [^{18}F]fluorociclobutano-1-carboxílico ([^{18}F]FACBC), [^{18}F]flumazenil ([^{18}F]FMZ), [^{18}F]tirosina, [^{18}F]altanserina, 4-[^{18}F]fluoro-3-yodobencilguanidina ([^{18}F]FIBG), meta-[^{18}F]fluorobencilguanidina ([^{18}F]mFBG) y [^{18}F]5-fluorouracilo. En una realización de la presente invención, el compuesto marcado con ^{18}F se selecciona de entre [^{18}F]FDG, [^{18}F]FMISO, [^{18}F]FLT y [^{18}F]FACBC. En otra realización de la presente invención, el compuesto marcado con ^{18}F es [^{18}F]FDG.

Un “recipiente de reacción” en el contexto de la presente invención es un contenedor del casete de la invención al que pueden enviarse los reactantes y reactivos necesarios para la síntesis y retirarse el o los productos en un orden apropiado. El recipiente de reacción tiene un volumen interno adecuado para contener los reactantes y reactivos y se elabora de materiales de calidad farmacéutica resistentes a la radiación.

Una “alícuota” en el contexto del método de la presente invención es una cantidad suficiente de un reactivo particular para su uso en la síntesis de un lote de un trazador de PET.

Un “compuesto precursor” debe entenderse en la presente descripción como un derivado no radiactivo de un compuesto radiomarcado, diseñado de modo que la reacción química con una forma química conveniente del marcador detectable se produzca específicamente para el sitio en el mínimo número de etapas (idealmente, una sola etapa) para proporcionar el compuesto radiomarcado deseado. Para garantizar el marcado específico del sitio, un compuesto precursor puede tener grupos protectores. Dichos compuestos precursores son sintéticos y se pueden obtener convenientemente con buena pureza química. Un número de compuestos precursores son bien conocidos por ser adecuados para la síntesis de compuestos marcados con [^{18}F], como se enseña, por ejemplo, en el capítulo 7 del “Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications” (2003 John Wiley & Sons Ltd., Wench & Redvanly, Eds.).

El término “grupo protector” se refiere a un grupo que inhibe o suprime las reacciones químicas no deseables, pero que se ha diseñado para ser lo suficientemente reactivo como para que pueda escindirarse del grupo funcional en cuestión para obtener el producto deseado en condiciones lo suficientemente suaves para que no modifiquen el resto de la molécula. Los grupos protectores y los métodos para su eliminación (es decir, la “desprotección”) son bien conocidos por los expertos en la técnica y se describen en “Protective Groups in Organic Synthesis”, Theodor W. Greene y Peter G. M. Wuts, (cuarta edición, John Wiley & Sons, 2007).

El término “reactivo” usado en la presente descripción es un término que pretende referirse a los disolventes y reactantes utilizados en la síntesis de un trazador de PET marcado con [^{18}F] en particular. De manera adecuada, estos se almacenan en un vial de reactivo. El término “vial de reactivo” se entiende como un vial que contiene uno de los reactivos para su uso en la producción del trazador de PET marcado con [^{18}F], suficiente para la producción de la pluralidad deseada de lotes. El término “suficiente” significa una cantidad adecuada de un reactivo para garantizar que se pueda obtener la pluralidad de lotes. Generalmente, esta cantidad es un poco más que la cantidad exacta requerida. Un vial de reactivo típico se elabora de un polímero rígido de calidad farmacéutica resistente a la radiación. Los reactivos adecuados contenidos en dichos viales de reactivos incluyen etanol, acetonitrilo, agentes desprotectores y tampones. En una realización, dicho agente desprotector se selecciona de entre HCl, NaOH y H_3PO_4 . En una realización, dicho agente desprotector es NaOH. En una realización, dicho tampón se basa en un ácido débil, por ejemplo, seleccionado de entre citrato, fosfato, acetato y ascorbato. Por ejemplo, cuando el compuesto marcado con [^{18}F] de la presente invención es [^{18}F]FDG, el casete de un solo uso comprende un vial de reactivo que contiene etanol, uno que contiene acetonitrilo, otro que contiene NaOH y otro que contiene un tampón basado en un ácido débil seleccionado de entre citrato o fosfato.

El término “extracción en fase sólida (SPE)” se refiere al proceso de preparación de la muestra mediante el cual los compuestos de una solución se separan unos de otros basándose en sus respectivas afinidades por un sólido (la “fase sólida” o “fase estacionaria”) a través del cual se hace pasar la muestra y el disolvente (la “fase móvil” o “fase líquida”) en el que se disuelven. El resultado es que un compuesto de interés se retiene en la fase sólida o en la fase móvil. La porción que pasa a través de la fase sólida se recoge o se desecha, dependiendo de si contiene el compuesto de interés. Si la porción retenida en la fase estacionaria incluye el compuesto de interés, se puede retirar entonces de la

fase estacionaria para su recogida en una etapa adicional, en la que la fase estacionaria se aclara con otra solución conocida como “eluyente”. En la presente invención, la SPE se lleva a cabo adecuadamente usando una “columna de SPE” (también frecuentemente denominada “cartucho de SPE”), que está fácilmente disponible comercialmente y está típicamente en forma de una columna en forma de jeringa empaquetada con fase sólida. Las fases sólidas más conocidas se basan en sílice que se ha unido a un grupo funcional específico, p. ej., cadenas hidrocarbonadas de longitud variable (adecuadas para la SPE de fase inversa), grupos amonio cuaternario o amino (adecuados para el intercambio aniónico) y grupos ácido sulfónico o carboxilo (adecuados para el intercambio catiónico).

El término “eluir” se refiere a hacer pasar una solución a través de una columna de SPE con el objetivo de liberar un compuesto o compuestos de interés que se ha o se han unido a la fase sólida.

El término “eluyente” usado anteriormente en la presente descripción en relación con la SPE generalmente también se usa específicamente en relación con el casete de un solo uso de la presente invención para referirse al eluyente usado para eluir el [^{18}F]fluoruro atrapado en la columna de intercambio aniónico. El [^{18}F]fluoruro adecuado para usar en la síntesis de un compuesto marcado con [^{18}F] se obtiene normalmente como una solución acuosa de la reacción nuclear $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$. Para aumentar la reactividad del [^{18}F]fluoruro y reducir o minimizar los subproductos hidroxilados resultantes de la presencia de agua, típicamente se elimina el agua del [^{18}F]fluoruro antes de la reacción, y las reacciones de fluoración se llevan a cabo utilizando disolventes de reacción anhidros (Aigbirhio y col. 1995 J Fluor Chem; 70: 279-87). Otra etapa que se utiliza para mejorar la reactividad del [^{18}F]fluoruro para las reacciones de radiofluoración es añadir un contraión catiónico antes de eliminar el agua. Este contraión catiónico se disuelve en una solución orgánica-acuosa y esta solución se usa como eluyente para eluir el [^{18}F]fluoruro de una columna de intercambio aniónico en la que el [^{18}F]fluoruro ha quedado atrapado. En una realización, dicha solución orgánica-acuosa es una solución acuosa de acetonitrilo o metanol. En una realización, dicha solución orgánica-acuosa es una solución acuosa de acetonitrilo. De manera adecuada, el contraión debería poseer suficiente solubilidad dentro del disolvente de reacción anhidro para mantener la solubilidad del [^{18}F]fluoruro. Por lo tanto, los contraiones que se usan típicamente incluyen iones de metal grandes, pero blandos tales como rubidio o cesio, potasio complejoado con un criptando tal como KryptofixTM 222 o sales de tetraalquilamonio, en donde se prefiere potasio complejoado con un criptando tal como KryptofixTM 222 o sales de tetraalquilamonio. El término KryptofixTM 222 (o K222) se refiere en la presente memoria a una preparación disponible comercialmente del compuesto 4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo [8.8.8]hexacosano.

Una “columna de SPE para desprotección” en el contexto de la presente invención es una columna de SPE que tiene una fase sólida en la que se retiene un compuesto precursor que tiene grupos protectores después de la reacción de marcado con [^{18}F] para eliminar los grupos protectores y obtener el trazador de PET marcado con [^{18}F] deseado. En una realización, la columna de SPE para desprotección es una columna de SPE de fase inversa según se define en la presente descripción.

La “SPE de fase inversa” utiliza una fase sólida modificada no polar y una fase móvil polar. Los compuestos se retienen mediante interacciones hidrófobas y se eluyen usando un disolvente de elución no polar para romper las fuerzas que unen el compuesto a la fase sólida. Los ejemplos no limitativos de columnas de SPE de fase inversa incluyen las columnas de SPE de C18, tC18, C8, CN, Diol, HLB, Porapak, RDX y NH2. En una realización de la presente invención, la columna de SPE de fase inversa es una columna de SPE de tC18 o HLB. En una realización, dicha columna de SPE de fase inversa es una columna de SPE de HLB. En otra realización de la presente invención, la columna de SPE de fase inversa es una columna de tC18. En algunas realizaciones de la presente invención, la columna de tC18 es una columna de tC18 ambiental, a veces denominada columna de tC18 larga o columna de tC18 plus. En una realización, la columna de SPE de fase inversa utilizada para la desprotección es una columna de tC18 ambiental.

La “SPE de fase normal” utiliza una fase sólida polar modificada y una fase móvil no polar. Los compuestos se retienen mediante interacciones hidrófilas y se eluyen usando un disolvente que es más polar que la fase móvil original para romper el mecanismo de unión. Los ejemplos no limitativos de columnas de SPE de fase normal incluyen columnas de SPE de alúmina, diol y sílice. En una realización de la presente invención, dicha columna de SPE de fase normal es una columna de SPE de alúmina.

La “SPE de intercambio aniónico” utiliza la atracción electrostática de un grupo cargado en un compuesto hacia un grupo cargado en la superficie del sorbente y puede usarse para compuestos que están cargados en solución. El mecanismo de retención primario del compuesto se basa principalmente en la atracción electrostática del grupo funcional cargado en el compuesto hacia el grupo cargado que está unido a la superficie de sílice. Se usa una solución que tiene un pH que neutraliza el grupo funcional del compuesto o el grupo funcional en la superficie sorbente para eluir el compuesto de interés. Un ejemplo no limitativo de una columna de SPE de intercambio aniónico es una columna de SPE de intercambio aniónico de amonio cuaternario (QMA).

El término “medios para la limpieza” se refiere a una fuente de reactivo conectada de manera fluida selectivamente al componente que se va a limpiar. La conexión de fluido selectiva comprende adecuadamente una válvula y un tramo de tubo flexible. Los reactivos adecuados para la limpieza incluyen etanol y acetonitrilo, soluciones acuosas de los mismos y agua. El término “limpieza” en el contexto de la presente invención se refiere al proceso de hacer pasar una cantidad adecuada de uno o más reactivos a través de un componente que se va a limpiar para hacerlo adecuado para usar en la preparación

de un lote posterior de trazador de PET marcado con [^{18}F]. En una realización, dichos medios para la limpieza de dicho recipiente de reacción y dichas columnas de SPE comprenden una fuente de agua conectada de manera fluida a dicho recipiente de reacción y a dichas columnas de SPE. Una fuente adecuada de agua es el agua para inyectables. En una realización, dicha fuente de agua es una bolsa de agua conectada de manera fluida a dicho casete. En una realización, dichos medios para la limpieza de dicho recipiente de reacción y dichas columnas de SPE comprenden una fuente de acetonitrilo conectada de manera fluida a dicha columna de SPE para la desprotección. En una realización, dichos medios para la limpieza de dicho recipiente de reacción y dichas columnas de SPE comprenden una fuente de etanol conectada de manera fluida a dichas columnas de SPE para la purificación. Dichas fuentes de reactivos están presentes, en una realización, en los viales comprendidos en el casete de la invención.

El término “atrapamiento” se refiere al proceso en donde un compuesto o compuestos particulares se unen a la fase sólida de una columna de SPE.

El término “paso” se refiere al acto de permitir que un reactante, reactivo o solución de reacción fluya a través de un componente particular mediante la apertura selectiva de válvulas.

El término “calentamiento” en la presente descripción significa la aplicación de calor para promover que tenga lugar una reacción química particular. En el contexto del marcado con [^{18}F] como se prevé en la presente descripción, el calor es adecuadamente una temperatura en la región de 100-150 °C durante un breve período de aproximadamente 2-10 minutos.

El término “purificar” o “purificación” como se usa en la presente descripción puede interpretarse como un proceso para obtener un compuesto marcado con [^{18}F] sustancialmente puro. El término “sustancialmente” se refiere a la extensión o grado total o casi completo de una acción, característica, propiedad, estado, estructura, elemento o resultado. La expresión “sustancialmente puro” puede entenderse como un compuesto marcado con [^{18}F] completamente puro, lo que sería ideal, pero también un compuesto marcado con [^{18}F] que es lo suficientemente puro como para ser adecuado para usar como trazador de PET. El término “adecuado para usar como trazador de PET” significa que el compuesto marcado con [^{18}F] sustancialmente puro es adecuado para la administración intravenosa a un sujeto mamífero, seguida de imágenes de PET para obtener una o más imágenes clínicamente útiles de la ubicación y/o distribución del compuesto marcado con [^{18}F]. En una realización de la presente invención, la purificación se lleva a cabo por medio de una columna de SPE de fase inversa y/o una columna de SPE de fase normal, cada una según se define anteriormente en la presente descripción.

El término “limpieza” en el contexto de la presente invención se refiere al proceso de hacer pasar una cantidad adecuada de uno o más reactivos a través de un componente que se va a limpiar para hacerlo adecuado para usar en la preparación de un lote posterior de trazador de PET marcado con [^{18}F]. En una realización, la etapa de limpieza en el contexto del método de la presente invención comprende el aclarado del recipiente de reacción y las columnas de SPE con agua. En otra realización del método de la presente invención, dicha etapa de limpieza comprende el aclarado de la columna de SPE con acetonitrilo antes del aclarado con agua. En otra realización del método de la presente invención, dicha etapa de limpieza comprende el aclarado de dichas columnas de SPE (11, 12) con etanol antes del aclarado con agua.

En una realización del método de la presente invención, las etapas se llevan a cabo en secuencia.

Un ejemplo ilustrativo de la presente invención es la síntesis de [^{18}F]FDG en el FASTlab™ (GE Healthcare). La primera síntesis de [^{18}F]FDG es afín al proceso actual de [^{18}F]FDG en FASTlab™; utiliza la misma cantidad de reactivos. Al final del primer proceso de [^{18}F]FDG, el primer lote se envía a un vial de recogida del primer producto. En esta etapa, hay suficientes reactivos residuales en los diferentes viales para una segunda síntesis de [^{18}F]FDG. El FASTlab™ permanece en modo de espera después del suministro del primer lote de [^{18}F]FDG. A partir de este momento, el FASTlab™ está listo para recibir la radioactividad del ciclotrón para una segunda síntesis de [^{18}F]FDG. Una vez que la solución de [^{18}F]fluoruro del ciclotrón llega al vial cónico del casete, el operador puede iniciar el segundo proceso de [^{18}F]FDG, que comienza con la limpieza de la columna de tC18 con 1 ml de acetonitrilo y el aclarado de las columnas de purificación con agua para inyectables. El recipiente de reacción ya se ha lavado durante la primera síntesis. Se añaden una segunda columna de QMA y un tubo al casete para garantizar un atrapamiento y elución adecuadas del [^{18}F]fluoruro, antes de la etapa de deshidratación. Tras la elución del [^{18}F]fluoruro en el reactor, el resto del proceso de [^{18}F]FDG se realiza de la misma manera que la primera síntesis de [^{18}F]FDG. Se utiliza una línea de salida separada. El casete permite que los dos graneles de [^{18}F]FDG tengan sus propias líneas de salida, filtros de esterilización y viales de recogida de productos, por lo que la separación del lote es clara.

La Figura 3 es una figura esquemática de un ejemplo no limitativo de un casete de la presente invención diseñado para la radiosíntesis de 2 lotes consecutivos de [^{18}F]FDG.

Breve descripción de los ejemplos

El Ejemplo 1 describe la síntesis de dos lotes de [^{18}F]FDG en un casete FASTlab™.

Lista de abreviaturas utilizadas en los Ejemplos

	[¹⁸ F]FDG	[¹⁸ F]fluorodesoxiglucosa
5	[¹⁸ F]FTAG	[¹⁸ F]fluorotetraacetilglucosa
	GC	Cromatografía de gases
	HLB	Balance hidrófilo-lipófilo
10	IC	Cromatografía de intercambio iónico
	K222	4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo [8.8.8]hexacosano
15	MeCN	Acetonitrilo
	min	Minuto(s)
	NCY	Rendimiento no corregido
20	ppm	Partes por millón
	QMA	Metilamonio cuaternario
25	SPE	Extracción en fase sólida

Ejemplos

30 Ejemplo 1: Síntesis de dos lotes de [¹⁸F]FDG en un casete FASTlab™

La configuración del casete como se ilustra en la Figura 3 se usó para producir dos lotes consecutivos de [¹⁸F]FDG usando el siguiente método (los números de este método son números de referencia en la Figura 3, a menos que se indique como una “posición”, que es una de las posiciones 1-25 que van de izquierda a derecha en el casete de la Figura 3):

- 35 (i) Se usaron 800 µl de MeCN (del vial 7) para acondicionar la columna de SPE ambiental de tC18 (10) y se usaron 5 ml de H₂O para acondicionar cada una de la columna de SPE de HLB (11) y la columna de SPE de alúmina (12).
- 40 (ii) El [¹⁸F]fluoruro se obtuvo del bombardeo de [¹⁸O]-H₂O con un haz de protones de alta energía extraído de un ciclón ciclotrón 18/9 (IBA) y se transfirió al casete a través del depósito cónico en la posición 6.
- (iii) El [¹⁸F]fluoruro quedó atrapado en la columna de QMA (3) y se separó del agua enriquecida que se recogió en un vial externo a través de una vía que pasa por las posiciones 5-4-1.
- 45 (iv) El eluyente (del vial 2) se retiró de la jeringa en la posición 3 y se pasó a través de la columna de QMA (3) para liberar el [¹⁸F]fluoruro y enviarlo al recipiente de reacción (5).
- (v) La evaporación del agua en el recipiente de reacción (5) se catalizó añadiendo una pequeña cantidad de 25 mg/ml de precursor de triflato de manosa (vial 6) en la posición (12) a 120 °C.
- 50 (vi) El precursor de triflato de manosa (del vial 6) se retiró de la jeringa en la posición 11 y se transfirió al recipiente de reacción (5) en la posición 10, donde la reacción de marcado se llevó a cabo a 125 °C durante 2 minutos.
- (vii) El producto intermedio de radiomarcado resultante, [¹⁸F]FTAG, quedó atrapado y, por lo tanto, se separó de los fluoruros sin reaccionar, en la parte superior de la columna ambiental de tC18 (10) en la posición 18.
- 55 (viii) Se hizo pasar hidróxido de sodio (del vial 8) a través de la columna (10) para convertir el [¹⁸F]FTAG en [¹⁸F]FDG recogido por la jeringa en la posición 24.
- 60 (ix) La neutralización de la solución básica resultante se llevó a cabo utilizando ácido fosfórico (del vial 9).
- (x) El producto final se envió a un primer vial de recogida externo (13) conectado en la posición 21 a través de las dos columnas de purificación (11, 12) seguidas (es decir, HLB en la posición 23 y alúmina en la posición 20).
- 65 (xi) El tC18 ambiental se lavó con acetonitrilo desde la posición 13 (vial 7), y el reactor, las columnas de purificación y los tubos se aclararon con agua de la bolsa de agua conectada en la punta en la posición 15.

(xii) Un segundo lote de [^{18}F]fluoruro del ciclotrón se transfirió al casete como en la etapa (ii).

(xiii) El [^{18}F]fluoruro quedó atrapado en una nueva columna de QMA (4) que se encuentra en la posición 8 y se separó del agua enriquecida que se recoge en un vial externo a través de una vía que pasa por las posiciones 7-8-19-1.

(xiv) Con el [^{18}F]fluoruro del QMA (4) en la posición 8, las etapas (iv)-(ix) se llevaron a cabo como en el primer lote.

(xv) El segundo lote de [^{18}F]FDG se purificó mediante las mismas columnas (11, 12) en las posiciones 23 (HLB) y 20 (alúmina) y, a continuación, se transfirió a un nuevo vial de recogida externo (14) conectado mediante el tubo en la posición 22.

Esta configuración del casete tiene una vía de reciclado de agua enriquecida en el lado izquierdo para el primer lote (Figura 4, parte superior) y en el lado derecho para el segundo lote (Figura 4, parte inferior) del casete (posible contaminación del colector con agua enriquecida) con siete posiciones en el casete acoplado, es decir, la posición 6 para la entrada de actividad, la posición 1 con la conexión del vial de agua enriquecida, la posición 4 para el QMA 1, la posición 5 para el tubo del QMA 1, la posición 7 para el QMA 2, la posición 8 para el tubo del QMA 2 y la posición 19 para la recuperación de agua enriquecida del lote 2.

La actividad inicial, la actividad final y las actividades residuales se midieron mediante una cámara de ionización calibrada VEENSTRA (VIK-202).

Para determinar el rendimiento, se realizaron los siguientes cálculos de rendimiento:

- si ΔT_f = tiempo transcurrido tras tiempo al inicio de la síntesis en min
- si A_f = actividad final en mCi
- cA_f = actividad final corregida en mCi con respecto al inicio de la síntesis en min = $A_f \cdot \text{Exp}(\ln(2) \cdot (\Delta T_f / 110))$
- donde 110 = semivida del [^{18}F]fluoruro en minutos
- si cA_i = actividad inicial corregida en mCi con respecto al inicio de la síntesis en mCi
- si ΔT_s = duración de la síntesis
- Rendimiento corregido (CY) = $(cA_f / cA_i) \cdot 100$
- Rendimiento no corregido (NCY) = $CY \cdot \text{Exp}(\ln(2) \cdot (-\Delta T_s / 110))$

Los siguientes resultados relacionados con la actividad inicial, la actividad final y las actividades residuales se obtuvieron con esta configuración de casete:

N.º de ciclo	Actividad inicial (mCi)	Rendimiento no corregido (%)	Actividad residual en QMA (%)	Actividad residual en un vial de [^{18}O]agua (%)
1a	7845	66,59	0,12	0,31
1b	8936	72,48	0,35	0,37
2a	7630	68,80	0,15	0,10
2b	7678	73,98	0,13	0,18
3a	7980	69,86	0,05	0,12
3b	8007	70,54	0,41	0,07

Para el control de calidad, se realizaron mediciones del pH, la concentración de glucosa, la concentración de ácido acético y la concentración de K222.

El pH se midió usando un medidor de pH Metrohm 744.

La concentración de glucosa se determinó mediante cromatografía de intercambio iónico (IC), donde las condiciones analíticas fueron:

- Sistema Dionex IC
- Columna Dionex Carbpak PA10, 4,0*250 mm a 25 °C

- Disolvente KOH 100 mM a 1 ml/min
- Detector electroquímico a 30 °C

La composición del estándar para la FDG utilizada fue:

- Glucosa = 25 µg/ml
- FDM = 50 µg/ml
- FDG = 50 µg/ml
- CIDG = 50 µg/ml

La determinación de la cantidad de ácido acético se evaluó mediante cromatografía de gases (GC) llevada a cabo en un Varian CP-3800 equipado con un automuestreador CP-8400 y los siguientes parámetros:

- Columna: columna Macherey-Nagel Optima® 624-LB, 30 m * 0,32 mm de DI, película de 1,80 µm
- Inyección: volumen 1 µl, relación de separación 1:10, inyector a 250 °C
- Gas portador: helio 10 psi 5 ml/min
- Temperatura: 80 °C de 0 a 3 min, 80 a 200 °C de 3 a 9 min a 20 °C/min y, finalmente, 200 °C de 9 a 10 min.
- Detector: FID a 250 °C (He 20 ml/min, H₂ 30 ml/min y aire comprimido 260 ml/min)
- Referencia utilizada: solución de ácido acético a 500 ppm p/p (lo que corresponde a una décima parte del límite, 5000 ppm).

La cantidad de K222 en el producto final se determinó mediante la aplicación de la muestra en una placa de TLC que está impregnada con una solución reveladora de yodoplatinato (0,5 g de ácido cloroplatinico hexahidratado: H₂PtCl₆·6H₂O (¡altamente higroscópico!), 9 g de yoduro de potasio: KI, 200 ml de agua destilada) y comparándolo con soluciones estándar de K222 (1, 5, 10, 50 y 100 ppm). La intensidad del color de las manchas obtenidas es proporcional a la cantidad de K222 presente en la solución.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

N.º de ciclo	pH	Glucosa (µg/ml)	Ácido acético (ppm)	K222 (ppm)
3a	6,3	324,48	917	1
3b	6,1	352,60	1081	10
4a	6,1	-	1187	1
4b	5,4	-	863	15

REIVINDICACIONES

1. Un casete (1) para la síntesis de una pluralidad de lotes de un trazador de tomografía por emisión de positrones (PET) marcado con [^{18}F], en donde dicho casete comprende:

(i) una columna de intercambio aniónico (3, 4) para cada uno de dicha pluralidad de lotes;
 (ii) un recipiente de reacción (5);
 (iii) un vial (2) que contiene una alícuota de eluyente para cada uno de dicha pluralidad de lotes;
 (iv) un vial (6) que contiene una alícuota de un compuesto precursor para cada uno de dicha pluralidad de lotes;
 (v) viales de reactivos (7, 8, 9) en donde cada vial de reactivo contiene una alícuota de reactivo para cada uno de dicha pluralidad de lotes;
 (vi) opcionalmente, una columna de extracción en fase sólida (SPE) para la desprotección (10) y/o una o más columnas de SPE para la purificación (11, 12); y,
 (vii) medios para la limpieza de dicho recipiente de reacción y dichas columnas de SPE;

en donde los componentes (i)-(vii) del casete están conectados de manera fluida selectivamente a lo largo de una vía de fluido lineal elaborada con un material polimérico rígido de calidad farmacéutica que es resistente a la radiación.

2. El casete como se define en la reivindicación 1, en donde dicho trazador de PET se selecciona de entre [^{18}F]fluorodesoxiglucosa ([^{18}F]FDG), [^{18}F]fluoromisonidazol ([^{18}F]FMISO), [^{18}F]fluorotimidina ([^{18}F]FLT), [^{18}F]fluoroazomicina arabinofuranósido ([^{18}F]FAZA), [^{18}F]fluoroetilcolina ([^{18}F]FECH), ácido [^{18}F]fluorociclobutano-1-carboxílico ([^{18}F]FACBC), [^{18}F]flumazenil ([^{18}F]FMZ), [^{18}F]tirosina, [^{18}F]altanserina, 4-[^{18}F]fluoro-3-yodobencilguanidina ([^{18}F]FIBG), *meta*-[^{18}F]fluorobencilguanidina ([^{18}F]mFBG) y [^{18}F]5-fluorouracilo.

3. El casete como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde dicha columna de intercambio aniónico (3, 4) es una columna de intercambio aniónico de amonio cuaternario (QMA).

4. El casete como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde dicho eluyente comprende un contraión catiónico disuelto en una solución orgánica-acuosa.

5. El casete como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde dichos medios para la limpieza de dicho recipiente de reacción y dichas columnas de SPE comprenden una fuente de agua conectada de manera fluida a dicho recipiente de reacción y a dichas columnas de SPE.

6. El casete como se define en la reivindicación 5, en donde dichos medios para la limpieza de dicho recipiente de reacción y dichas columnas de SPE comprenden una fuente de acetonitrilo conectada de manera fluida a dicha columna de SPE para la desprotección (10).

7. El casete como se define en la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en donde dichos medios para la limpieza de dicho recipiente de reacción y dichas columnas de SPE comprenden una fuente de etanol conectada de manera fluida a dichas columnas de SPE para la purificación.

8. Un método para la síntesis de una pluralidad de lotes de un trazador de PET marcado con [^{18}F], en donde dicho método comprende:

(a) atrapar una primera alícuota de [^{18}F]fluoruro en una primera columna de intercambio aniónico (3);
 (b) proporcionar una primera alícuota de un compuesto precursor en un recipiente de reacción (5);
 (c) hacer pasar una primera alícuota de eluyente a través de dicha primera columna de intercambio aniónico (3) para eluir dicha primera alícuota de [^{18}F]fluoruro en dicho recipiente de reacción (5);
 (d) calentar el recipiente de reacción (5) durante un tiempo predeterminado para obtener un trazador de PET bruto marcado con [^{18}F];
 (e) desproteger opcionalmente dicho trazador de PET bruto marcado con [^{18}F] en una columna de SPE (10);
 (f) purificar opcionalmente dicho trazador de PET bruto marcado con [^{18}F] en una o más columnas de SPE (11, 12);
 (g) limpiar dicho recipiente de reacción (5) y dichas columnas de SPE (10, 11, 12);
 (h) repetir las etapas (a)-(g) una o más veces, usando cada vez una alícuota posterior de [^{18}F]fluoruro, una columna de intercambio aniónico posterior (4) y una alícuota posterior de un compuesto precursor;

en donde dicho método se lleva a cabo en un único casete (1).

9. El método como se define en la reivindicación 8, en donde dicho trazador de PET se selecciona de entre [¹⁸F]fluorodesoxiglucosa ([¹⁸F]FDG), [¹⁸F]fluoromisonidazol ([¹⁸F]FMISO), [¹⁸F]fluorotimidina ([¹⁸F]FLT), [¹⁸F]fluoroazomicina arabinofuranósido ([¹⁸F]FAZA), [¹⁸F]fluoroetilcolina ([¹⁸F]FECH), ácido [¹⁸F]fluorociclobutano-1-carboxílico ([¹⁸F]FACBC), [¹⁸F]flumazenil ([¹⁸F]FMZ), [¹⁸F]tirosina, [¹⁸F]altanserina, 4-
5 [¹⁸F]fluoro-3-yodobencilguanidina ([¹⁸F]FIBG), *meta*-[¹⁸F]fluorobencilguanidina ([¹⁸F]*m*FBG) y [¹⁸F]5-fluorouracilo.
10. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 8-9, en donde cada una de dicha primera
10 columna de intercambio aniónico (3) y dicha columna de intercambio aniónico posterior (4) es una columna de intercambio aniónico de amonio cuaternario (QMA).
11. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en donde dicho eluyente comprende un contraión catiónico disuelto en una solución orgánica-acuosa.
- 15 12. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en donde dicha etapa de limpieza comprende el aclarado de dicho recipiente de reacción (5) y dichas columnas de SPE (10, 11, 12) con agua.
13. El método como se define en la reivindicación 12, en donde dicha etapa de limpieza comprende el aclarado
20 de dicha columna de SPE (10) con acetonitrilo antes del aclarado con agua.
14. El método como se define en la reivindicación 12 o en la reivindicación 13, en donde dicha etapa de limpieza comprende el aclarado de dichas columnas de SPE (11, 12) con etanol antes del aclarado con agua.

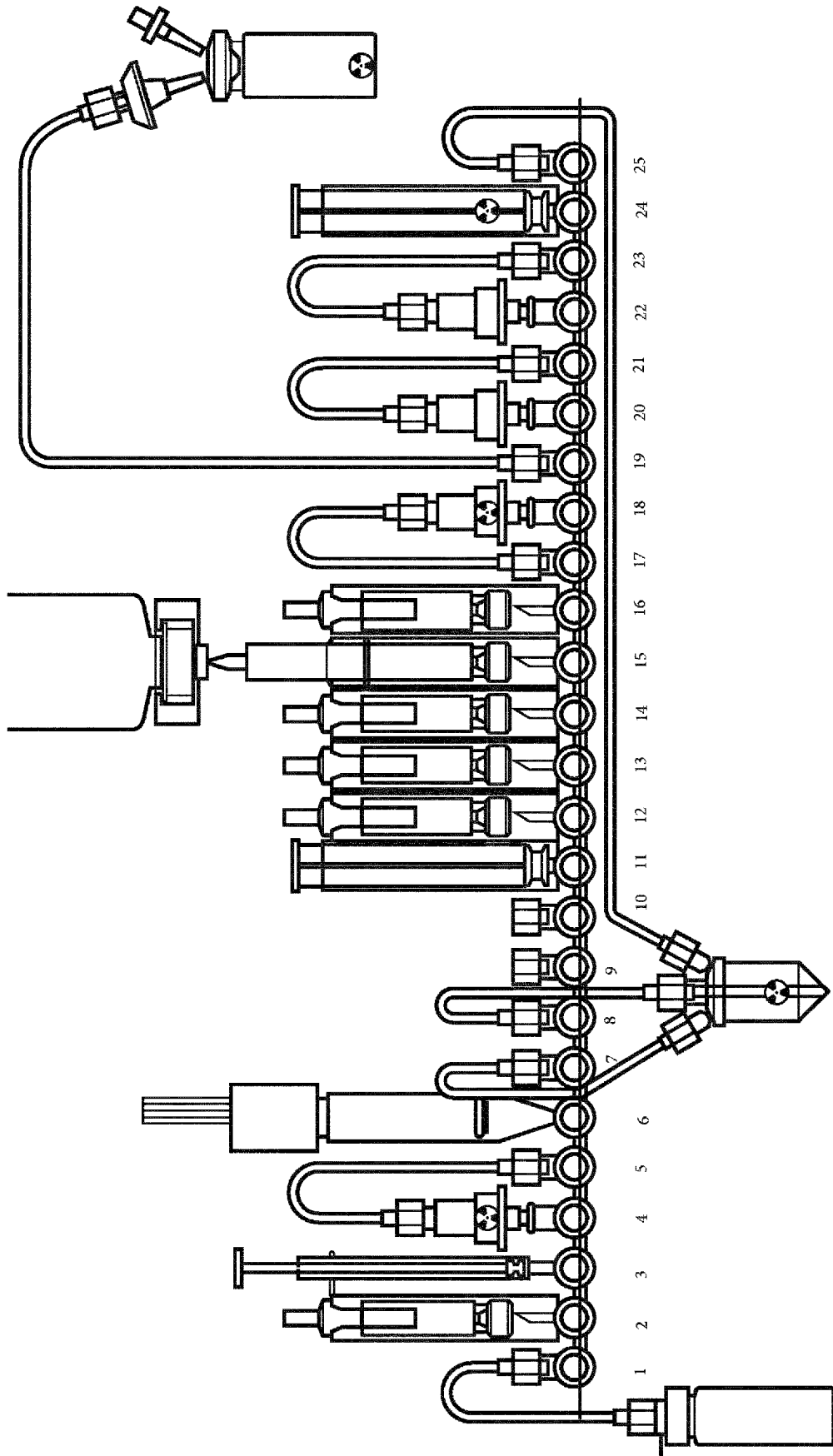


FIGURA 1

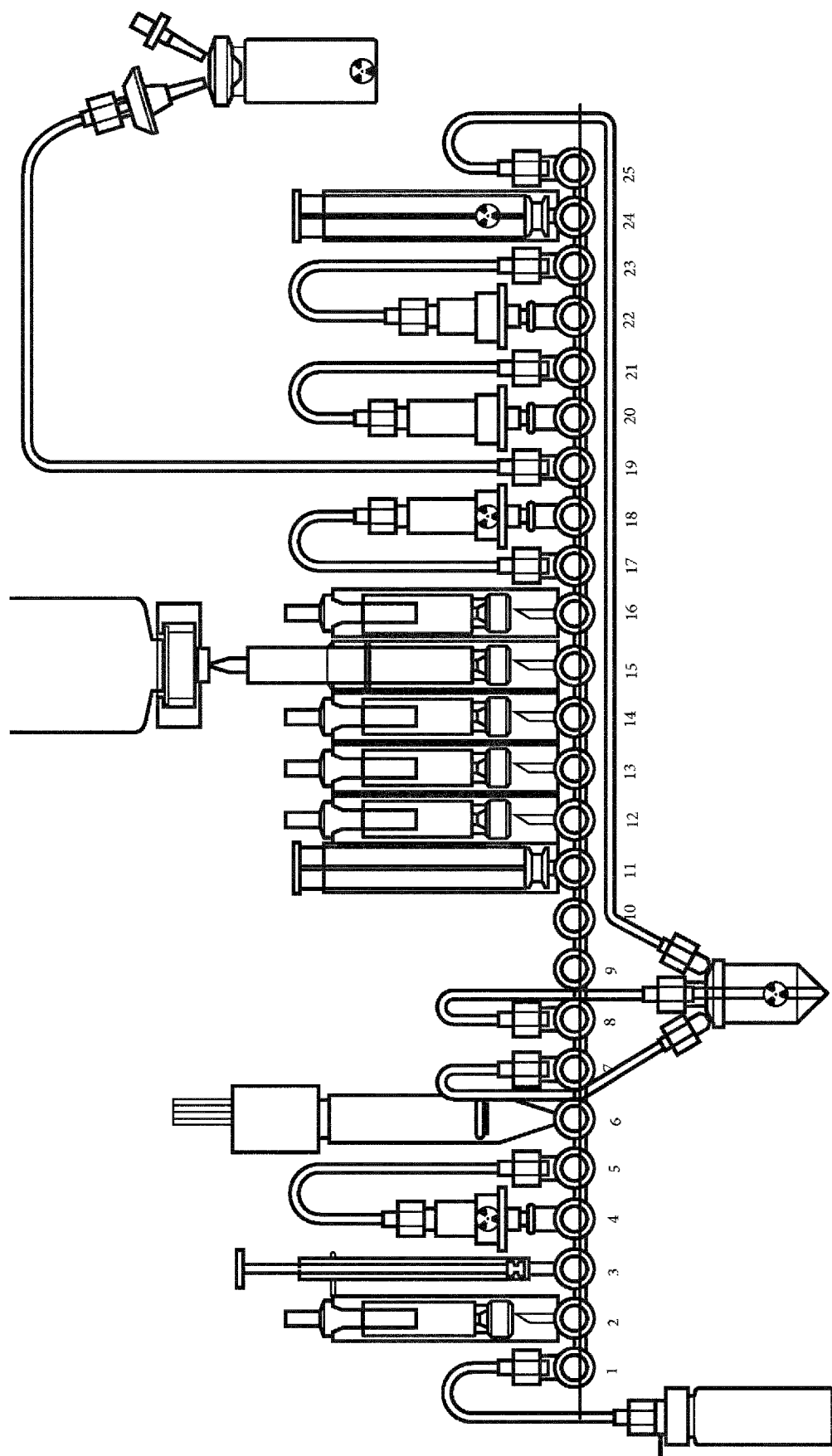


FIGURA 2

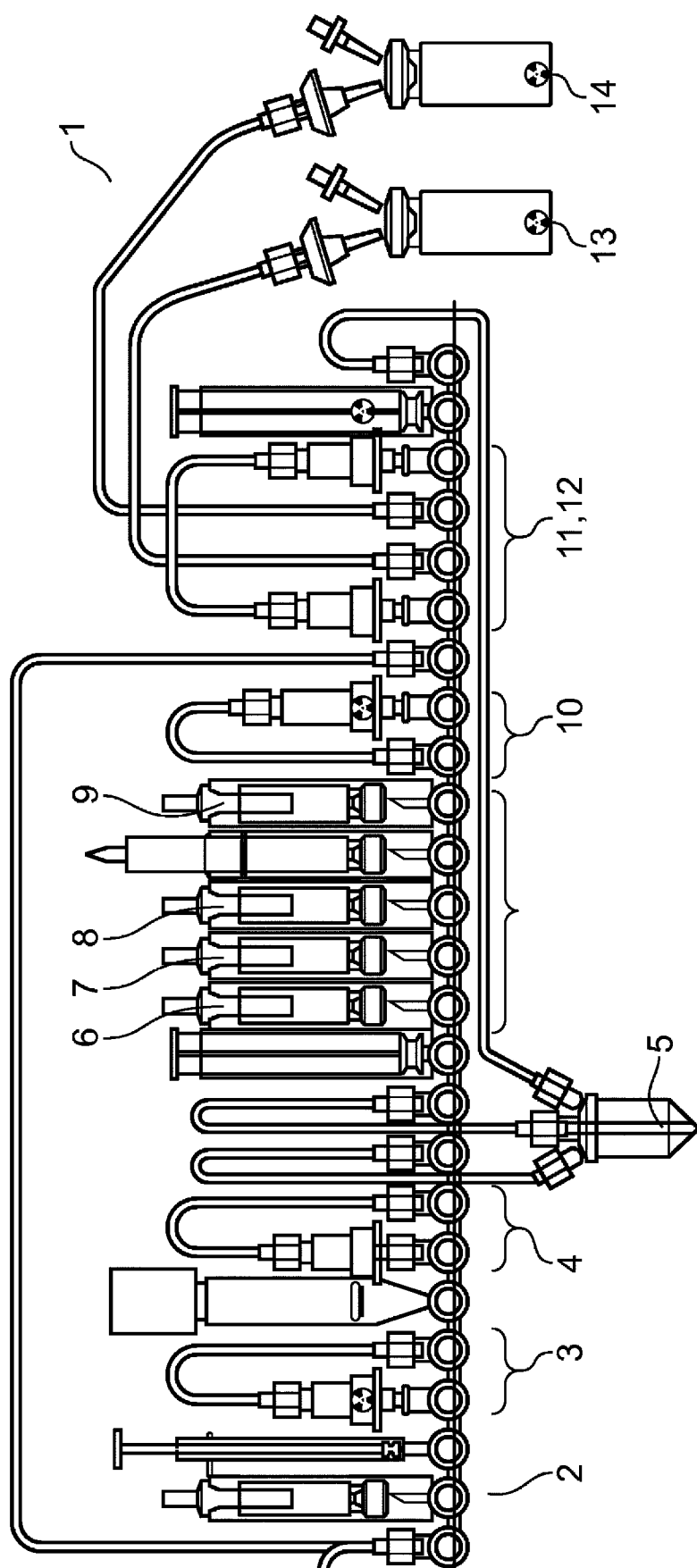


FIGURA 3

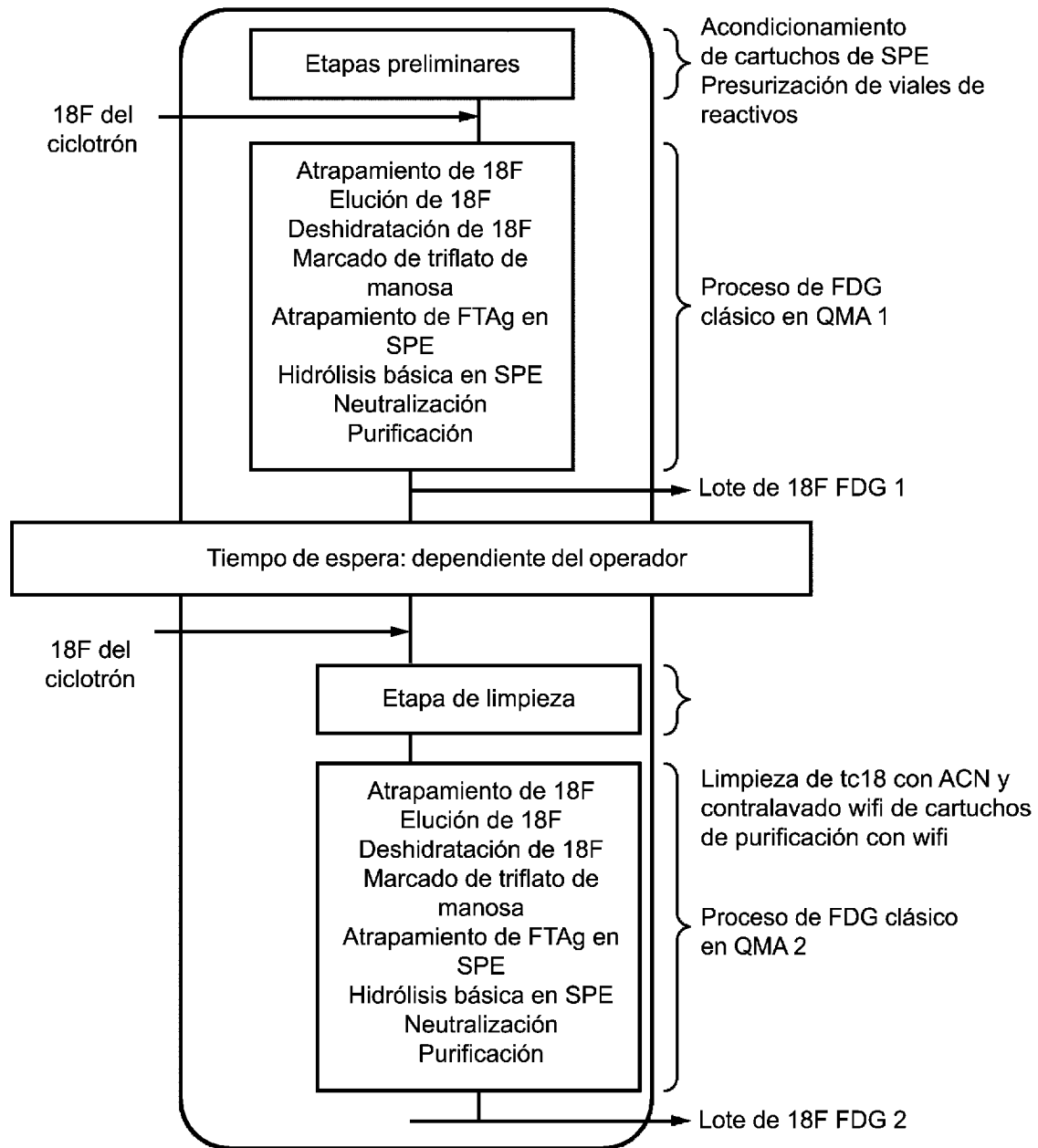


FIGURA 4