

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 949**

51 Int. Cl.:

G01R 33/36 (2006.01)

G01R 33/30 (2006.01)

G01R 33/46 (2006.01)

G01R 33/465 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2012 PCT/NL2012/050914**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.06.2013 WO13095141**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2012 E 12821330 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 2798363**

54 Título: **Dispositivo de espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)**

30 Prioridad:

22.12.2011 NL 2008016

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

02.04.2020

73 Titular/es:

**WAGENINGEN UNIVERSITEIT (100.0%)
Droevendaalsesteeg 4
6708 PB Wageningen, NL**

72 Inventor/es:

**VELDERS, ALDO HENDRIKUS;
FRATILA, RALUCA MARIA;
GOMEZ ALMAGRO, MARIA VICTORIA y
SYKORA, STANISLAV**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 751 949 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

Dispositivo de espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)

Campo de la invención

La invención se refiere a un dispositivo de espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN).

- 5 La invención se refiere además a un método para llevar a cabo mediciones simultáneas de espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) de una pluralidad de núcleos.

La invención aún se refiere además a una red.

Antecedentes de la invención

- 10 El análisis de una muestra y la detección de sus componentes pueden ser críticos en muchas áreas de la ciencia, particularmente en la química (bio)(médica). La muestra por analizar, usualmente denominada "analito", típicamente se separa inicialmente en sus componentes y luego cada componente se analiza para su identificación.

El análisis de la muestra se puede lograr de varias maneras. Por ejemplo, se puede utilizar un espectrómetro de resonancia magnética nuclear, que puede proporcionar información sobre la composición molecular de la muestra.

- 15 Una forma de realización de un dispositivo de espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) se conoce por el documento US 6 788 061. El dispositivo conocido comprende un soporte de muestra de analito que tiene una región de contención dispuesta para contener un volumen de la muestra para investigación, y una bobina que encierra la región de contención. El dispositivo comprende además un imán para mantener un campo magnético permanente en la región de contención, en donde la bobina está dispuesta para transmitir o recibir la energía de RF hacia y desde la muestra de analito proporcionada en la región de contención.

- 20 En el dispositivo conocido, la microbobina de RF puede usarse para detectar analitos durante la electroforesis capilar. En consecuencia, la microbobina puede estar envuelta alrededor del capilar. El dispositivo conocido comprende además un circuito eléctrico que está asociado con la microbobina para permitir que la microbobina transmita y reciba energía. El circuito de detección del dispositivo conocido comprende un circuito de impedancia adaptada para asegurar que la microbobina esté sintonizada a un ancho de banda estrecho particular. Por lo tanto, el dispositivo conocido es operable para detectar un analito particular cuya respuesta puede esperarse en el ancho de banda para el que se sintoniza la microbobina.
- 25

Una desventaja del dispositivo conocido es que solo se puede analizar un tipo específico de núcleos en el dispositivo conocido. Si fuera necesario detectar la presencia de dos o más tipos diferentes de núcleos en la muestra, el circuito de sintonización debería adaptarse y la adquisición de datos debería repetirse.

- 30 Una realización adicional de un dispositivo de espectroscopía de RMN se conoce a partir del documento EP 1 918 730. El dispositivo conocido se refiere a un chip de RMN para microfluidos de flujo continuo, que está adaptado para facilitar mediciones espectroscópicas de RMN usando una bobina extendida. La bobina extendida tiene una dimensión más grande en la dirección de B_0 que su dimensión en una dirección ortogonal.

- 35 En una realización del dispositivo conocido, comprende una pluralidad de bobinas, cada bobina se sintoniza a su propia frecuencia dedicada. Esta disposición se utiliza para facilitar la adquisición de datos de múltiples nucleidos.

Es una desventaja del dispositivo conocido que se requiere una arquitectura complicada para permitir la adquisición de datos de múltiples nucleidos.

- 40 La publicación "Small-volume nuclear magnetic resonance spectroscopy", Fratila and Velders, Annular Review of Analytical Chemistry 20110719, Annular Reviews Inc. USA, parte 4 19 de julio de 2011, páginas 227-249, revisa un enfoque particular para aumentar la sensibilidad de los experimentos de RMN, a saber, el uso de bobinas miniaturizadas. Cuando se reduce el tamaño de la bobina, el volumen de la muestra puede reducirse al rango de nanolitros. El documento compara las geometrías principales de las bobinas (solenoidales, planas y microrranura/línea de banda) y discute sus aplicaciones para el análisis de muestras de masa limitada, y también proporciona una visión general de la continuidad de la espectroscopía de RMN de microbobina a las técnicas de separación y de la integración con dispositivos de laboratorio en un chip y microrreactores.
- 45

Resumen de la invención

Es un objeto de la invención proporcionar un dispositivo de espectroscopía de RMN que sea capaz de llevar a cabo la adquisición de datos de espectroscopía para una pluralidad de núcleos de forma simultánea o secuencial sin sintonización o coincidencia.

- 50 Para este fin, el dispositivo según la invención se caracteriza por las representaciones de la reivindicación 1.

- El dispositivo es un dispositivo de espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) adaptado para llevar a cabo mediciones de espectroscopía heteronucleares unidimensionales y/o multidimensionales de una pluralidad de nucleidos, comprendiendo el dispositivo de espectroscopía de RMN un imán para mantener un campo magnético sustancialmente constante en un medición de volumen; y un dispositivo para fluidos, que incluye un chip; un circuito de radiofrecuencia que contiene una microbobina, siendo la microbobina una bobina de RF provista en dicho chip y adaptada para transmitir radiación de RF a y/o recibir radiación de RF del volumen de medición. De acuerdo con la invención, el dispositivo de espectroscopía de RMN contiene un cable coaxial y la microbobina termina dicho cable coaxial sin circuitería de sintonización y coincidencia, proporcionando al dispositivo de espectroscopía de RMN un carácter de banda ancha que permite la adquisición de datos heteronucleares.
- Se apreciará que en el campo de la espectroscopía de RMN el circuito no sintonizado se entiende como un circuito que no comprende condensador conectado en paralelo con la bobina de RF.
- Se apreciará que el dispositivo de RMN según la invención puede realizarse como un inserto en un aparato de resonancia magnética convencional que tiene un imán dedicado para generar un campo magnético constante B_0 en el volumen de medición.
- Se encuentra que cuando la bobina se proporciona en una configuración no sintonizada, es factible una operación de banda ancha que permita la detección secuencial o simultánea de todos los nucleidos sensibles a RMN, es decir, los nucleidos que tienen frecuencias de precesión de Larmor en el rango de al menos 40 (^{15}N) a al menos 400 (^1H) MHz cuando se opera a 9.4 T, y las frecuencias correspondientemente más bajas o más altas cuando se usan campos magnéticos más bajos, respectivamente. Como resultado, el dispositivo de RMN de acuerdo con el aspecto de la invención es un dispositivo de banda ancha, que tiene una bobina de RF de banda ancha a la que se pueden aplicar pulsos de RF con diferentes frecuencias portadoras, en secuencia o simultáneamente, lo que permite experimentos de RMN heteronucleares dimensionales (ID) o multidimensionales (nD). El experimento 1D da como resultado un espectro de nucleidos detectados directamente, mientras que el experimento nD proporciona gráficos en los que un eje corresponde al nucleido detectado directamente y a los ejes (n-1) correspondientes a los nucleidos detectados indirectamente.
- Por consiguiente, mediante el uso de una sola bobina RF de banda ancha, se puede proporcionar una alternativa económica a los sistemas comerciales de sondas (micro) de RMN, en aplicación como sistemas de RMN de mesa (sin criógenos), en la monitorización en flujo de separación cromatográfica y procesos de laboratorio en un chip. Además, se puede habilitar la reducción de escala a la detección de bacterias y biomarcadores, así como la identificación intracelular de proteínas.
- El uso de bobinas de banda ancha no sintonizadas mejorará drásticamente la accesibilidad de las técnicas de RMN, como la espectroscopía y la formación de imágenes. Por ejemplo, permitirá acoplar a la misma bobina cualquier número de canales de transmisión/recepción totalmente funcionales con la posibilidad de excitar y detectar simultáneamente cualquier número de nucleidos. Alternativamente, el dispositivo hace posible superponer varios canales de transmisión/recepción con diferentes frecuencias portadoras.
- En una realización del dispositivo de RMN según la invención, la bobina de RF está dispuesta además para conectarse a y formar parte de un circuito de radiofrecuencia no compatible.
- Se apreciará que en el campo de la espectroscopía de RMN, el circuito no adaptado se entiende como un circuito que no comprende condensador coincidente conectado en serie con la bobina de RF.
- Los aspectos actuales de la invención se basan en las siguientes ideas. Un extremo frontal de RMN clásico puede comprender una bobina de transmisión/recepción que envuelve la muestra y un circuito de sintonización/coincidencia conducido a través de un cable coaxial Z_0 (generalmente 50 Ω), como una realización conocida del documento US 6 788 061. En instrumentos pulsados, usualmente se usa un circulador basado en un cable $\lambda/4$ y diodos cruzados para aislar el transmisor del preamplificador durante el pulso, así como de la bobina durante la recepción de la señal.
- Para las sondas de canales de frecuencia múltiple, esto implica múltiples bobinas y/o circuitería de sintonización de inmersión múltiple, lo que hace que las sondas sean muy complejas.
- De acuerdo con los aspectos actuales de la invención, se proporciona un dispositivo de RMN de bobina de banda ancha que está directamente acoplado a un cable coaxial, es decir, sin ningún condensador de sintonización o adaptación. Se encuentra que dicha bobina tiene buenas características operativas sobre sustancialmente toda la banda de RF, lo que permite experimentos de RMN homo y heteronucleares, mono y multidimensionales utilizando el mismo extremo frontal (véase Figuras 3-6 que representan datos para $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HSQC y $^{19}\text{F}^{31}\text{P}$ -HSQC), que también permite el desacoplamiento de nucleidos no detectados directamente.
- En una realización adicional del dispositivo de RMN según un aspecto adicional de la invención, la bobina de RF tiene un volumen de detección de menos de 1 mililitro, preferiblemente menos de 100 microlitros, más preferiblemente menos de 1 microlitro, incluso más preferiblemente menos de 100 nanolitros.

- 5 Se encuentra que se puede lograr un volumen de detección de 25 nL con el dispositivo de acuerdo con la invención, en donde la muestra puede estar contenida en un canal para microfluidos profundo de 500 micrómetros a una distancia de menos de 1 centímetro, preferiblemente menos de 1 milímetro, más preferiblemente a menos de 100 micrómetros de la bobina del transceptor. Se apreciará que en el dispositivo de acuerdo con la invención puede usarse una bobina transceptora o una bobina de transmisión dedicada y una bobina de recepción dedicada. Una realización particular del dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con un aspecto de la invención se discutirá con más detalle con referencia a la Figura 1.
- 10 El dispositivo comprende un recipiente de muestra y una bobina de RF. El dispositivo está basado en un chip, la bobina RF es una microbobina provista en el chip. El chip forma parte de un dispositivo para fluidos. El dispositivo según la invención está adaptado para realizar mediciones unidimensionales (1D) o multidimensionales (nD). Se apreciará que el término "mediciones multidimensionales" se refiere al menos a la adquisición de datos bidimensionales y tridimensionales.
- 15 Se encuentra que la naturaleza de banda ancha de la bobina de RF proporcionada en el dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con la invención permite que los experimentos heteronucleares se realicen en modo de desacoplamiento heteronuclear durante la adquisición, tanto en experimentos 1D como en nD. El funcionamiento heteronuclear 1D del dispositivo se analizará con más detalle con referencia a la Figura 3, y el funcionamiento multidimensional del dispositivo según la invención se analizará con más detalles con referencia a las Figuras 4-6.
- 20 En otra realización adicional del dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con otro aspecto adicional de la invención, la bobina de RF está dispuesta para comunicarse con una pluralidad de canales de medición, operando cada canal a la frecuencia específica de Larmor de un nucleido específico.
- 25 En otra realización adicional del dispositivo de espectroscopía de RMN, comprende una pluralidad de bobinas, que están adaptadas para ser direccionadas de forma secuencial y/o contemporánea. Dicha pluralidad de bobinas puede ser parte de las mismas circuitería RF o separados. Dicha pluralidad de bobinas también puede ser parte de un circuito de radiofrecuencia no sintonizado o no sintonizado y no adaptado.
- 30 La red según un aspecto de la invención comprende el dispositivo como se expone anteriormente. Por ejemplo, la red puede comprender además un dispositivo de laboratorio en chip adecuado al lado del dispositivo como se establece anteriormente.
- Un método para llevar a cabo mediciones de espectroscopía heteronuclear unidimensional y/o multidimensional de resonancia magnética nuclear (RMN) de una pluralidad de nucleidos utiliza un dispositivo de espectroscopía RMN de acuerdo con la invención, y comprende los pasos de:
- proporcionar una muestra que comprende una pluralidad de nucleidos en un volumen de medición del dispositivo de espectroscopía de RMN;
 - ejecutar una secuencia de adquisición de datos en el dispositivo de RMN;
 - adquirir datos de la muestra de acuerdo con dicha secuencia de adquisición.
- 35 Se apreciará que en un dispositivo pueden estar presentes múltiples bobinas, que pueden abordarse de forma secuencial y/o contemporánea. Ambas bobinas pueden ser parte de un circuito de radiofrecuencia no sintonizado o no sintonizado y no compatible, o uno de ellos puede sintonizarse a una frecuencia específica de Larmor. En una realización, una secuencia de adquisición de datos adecuada puede comprender secuencias que incluyen irradiación en una de las frecuencias de Larmor de los nucleidos, para NOE.
- 40 El dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con la invención puede incluir un soporte dispuesto para permitir el alojamiento del chip para fluidos, comprendiendo dicho soporte un primer lado y un segundo lado, en donde
- el primer lado está provisto de puntos de conexión eléctrica para conectarse al dispositivo para fluidos;
 - y el segundo lado está provisto de puntos de conexión para fluidos,
- en donde el soporte está fabricado de un material no magnético, preferiblemente aluminio.
- 45 Se apreciará que se puede seleccionar cualquier material compatible con RMN para fabricar el soporte. Preferiblemente, el soporte está fabricado de aluminio.
- 50 El soporte del dispositivo de RMN puede formarse como un inserto en un aparato de resonancia magnética y, como tal, colocarse en un campo magnético estático, B_0 . Preferiblemente, se proporcionan agujeros en el soporte del dispositivo de RMN, los primeros agujeros corresponden a los electrodos en el primer lado y los segundos agujeros corresponden a puntos de conexión para fluidos en el segundo lado. Preferiblemente, se proporcionan los diferentes dispositivos de RMN que comprenden un número variable de agujeros para acomodar diferentes dispositivos que tienen un número diferente de bobinas y electrodos.

Un método de fabricación de un soporte para dispositivo de RMN como se expone anteriormente comprende los pasos de:

- adaptar un cuerpo de soporte que tiene un primer lado y un segundo lado para permitir el alojamiento de un chip de fluido;
- 5 • proporcionar al primer lado puntos de conexión eléctrica;
- proporcionar al segundo lado puntos de conexión para fluidos;
- en donde el cuerpo del soporte está fabricado de material no magnético, preferiblemente aluminio.

Se apreciará que el método de fabricación del soporte del dispositivo de RMN o el dispositivo puede comprender la etapa de proporcionar un imán para mantener un campo magnético sustancialmente constante en el volumen de medición del dispositivo. Se apreciará además que el dispositivo de espectroscopía de RMN tal como se expone anteriormente puede estar conectado a una red para fluidos o tal vez parte de ella.

Se discutirán estos y otros aspectos de la invención con referencia a dibujos en los que signos de referencia similares corresponden a elementos similares. Se apreciará que los dibujos se presentan solo con fines ilustrativos y no pueden utilizarse para limitar el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

15 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 presenta de forma esquemática una realización de un dispositivo de RMN según un aspecto de la invención.

La Figura 2 presenta siete espectros para siete nucleidos diferentes comprendidos en la misma muestra que se han adquirido utilizando el dispositivo de la Figura 1.

20 La Figura 3 presenta de manera esquemática un ejemplo de espectros de ^{13}C adquiridos para diferentes esquemas de NOE y/o desacoplamiento.

La Figura 4 presenta de forma esquemática una realización de los espectros ^1H - ^{13}C -HSQC obtenidos a partir de ácido acético puro- $2\text{-}^{13}\text{C}$.

La Figura 5 presenta de forma esquemática una realización de espectros ^{19}F .

25 La Figura 6 presenta de forma esquemática una realización de espectros ^{19}F - ^{31}P -HSQC.

Descripción detallada de los dibujos.

La Figura 1 presenta de forma esquemática una realización de un dispositivo de RMN según un aspecto de la invención. En la vista "a" se presenta una vista superior del dispositivo.

30 En una realización particular del dispositivo 10 según la invención, una microbobina de 32 vueltas puede tener una baja resistencia ($\rho = 7 \Omega$) y puede conectarse directamente a un cable coaxial sin ningún circuito de sintonización/adaptación. Se encuentra que tal disposición es técnicamente significativa por las siguientes razones.

Primero, se puede demostrar que una bobina espiral, como un cable coaxial, tiene características de banda ancha y su impedancia se mantiene cerca de su valor de CC en el rango de frecuencia entre 0 MHz y aproximadamente 500 MHz o más.

35 En segundo lugar, la corriente que pasa desde una fuente de RF a través de un cable coaxial en una resistencia R permanece finita incluso cuando R tiende a cero, a pesar de que la potencia transmitida también tiende a cero debido a la reflexión de potencia.

40 En tercer lugar, la capacidad del pulso de RF para producir el campo magnético de excitación oscilante B_1 (para superponerse al campo magnético constante B_0 en el volumen de medición) depende de la corriente transmitida y no de la potencia transmitida. Se apreciará que usualmente el campo B_1 es ortogonal al campo B_0 . El campo B_1 es de hecho proporcional a la corriente e inversamente proporcional a la distancia de la muestra a la bobina. Se ha encontrado, tanto computacional como empíricamente, que la corriente que pasa a través de la configuración de la bobina sin igual (no sintonizada) es suficiente para producir un campo de excitación B_1 muy útil en el volumen de medición en todo el rango de frecuencia, como se muestra esquemáticamente en los experimentos de nutación en las frecuencias Larmor ^2H , ^{19}F y ^1H , vea la vista "d" en la Figura 1. Una vez que se alcanza un valor razonable de B_1 , la misma configuración también tiene una eficiencia de detección cercana a la óptima debido al teorema de reciprocidad, descrito en Hoult, D.I. The principle of reciprocity in signal strength calculations

45 - A mathematical guide. Concepts in Magnetic Resonance 12, 173-187 (2000). Además, se encuentra que, durante la recepción de la señal, una bobina de baja impedancia puede conducir fácilmente un cable coaxial de 50 Ω y cargarlo. Además, se detecta otro fenómeno ventajoso: la baja impedancia de la bobina minimiza su ruido Johnson.

La ^1H y la ^{19}F , que se denominan nucleidos de alta frecuencia, se abordan ampliamente con la espectroscopía de RMN debido a su sensibilidad relativamente alta. Se encuentra que, con el dispositivo de acuerdo con la invención, se puede habilitar la detección de nucleidos que tienen relaciones giromagnéticas bajas. Por ejemplo, se encuentra que con el dispositivo según la invención es posible la espectroscopía de RMN de ^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P , ^7Li , ^{11}B , ^{23}Na , ^{29}Si . En general, la detección de nucleidos de importancia para la ciencia biomolecular, la química orgánica, la química bio o inorgánica, o los estudios de materiales pueden habilitarse con el dispositivo de acuerdo con la invención.

Preferiblemente, el dispositivo según la invención se realiza como un inserto en un aparato de resonancia magnética estándar. Esto tiene la ventaja de que puede usarse fácilmente el campo B_0 del aparato de RMN.

La vista "b" de la Figura 1 presenta de forma esquemática un ejemplo de un dispositivo 10a para fluidos usado en la invención. Se puede proporcionar una entrada/salida 2 de muestra adecuada en un sustrato 3 de chip. Un canal 4 de fluido adaptado para permanecer en el volumen de medición del dispositivo 10a está preferiblemente centrado en el sustrato 3. La bobina 6 puede estar dispuesta en la parte inferior del sustrato 3, que tiene típicamente entre 1 y 50 vueltas. Se apreciará que puede preverse una pluralidad adecuada de los electrodos 5 de cobre. Se apreciará que se puede prever una pluralidad adecuada de bobinas 6. Los electrodos de cobre se proporcionan preferiblemente usando un método litográfico adecuado. Un circuito eléctrico equivalente del dispositivo 10a se presenta esquemáticamente en la vista "c".

Se encuentra que el dispositivo según la invención permite llevar a cabo los experimentos de RMN a cualquier intensidad de campo magnético estático particular (B_0). Más en particular, la secuencia de adquisición de datos puede comprender secuencias para experimentos y/o secuencias heteronucleares 1D y nD que incluyen desacoplamiento con la frecuencia de Larmor de un nucleido acoplado al nucleido detectado directamente.

La Figura 2 presenta siete espectros para siete nucleidos diferentes comprendidos en la misma muestra que se han adquirido usando el dispositivo de la Figura 1. Para demostrar el carácter de banda ancha del dispositivo según la invención, espectros de siete nucleidos diferentes presentes en la misma muestra se registraron secuencialmente en el rango de frecuencia de 400-61 MHz, midiendo consecutivamente ^1H , ^{19}F , ^{31}P , ^7Li , ^{11}B , ^{23}Na y ^2H .

El buen funcionamiento operativo del dispositivo de acuerdo con la invención se ilustra mediante el espectro de RMN de ^{19}F de 30 kHz de ancho que muestra las señales de aniones BF_4 y PF_6 , esta última con la misma constante de acoplamiento observada en el doblete con el acoplamiento característico $1J_{\text{PF}}$ de 710 Hz, correspondiente a la misma constante de acoplamiento observada en el multiplete en el espectro ^{31}P .

Se encuentra que la relación señal/ruido de la bobina RF que forma parte de un circuito no sintonizado utilizado en el dispositivo según la invención es comparable a la relación señal/ruido encontrada en las bobinas de última generación utilizadas en circuitería sintonizados de acuerdo con un aspecto de la invención, el dispositivo de espectroscopía de RMN puede comprender una pluralidad de bobinas, que pueden adaptarse para ser direccionadas secuencialmente y/o simultáneamente. Más en particular, dicha pluralidad de bobinas puede ser parte de un circuito de radiofrecuencia no sintonizado, o en donde al menos una de dicha pluralidad de bobinas es parte del circuito de radiofrecuencia no sintonizado. En la última configuración, una o más de las bobinas restantes pueden sintonizarse a una frecuencia Larmor particular.

Los nucleidos menos sensibles a RMN, tales como ^{13}C , generalmente se detectan utilizando técnicas de detección indirecta en las que la información espectral del nucleido menos sensible se recupera de su efecto sobre el nucleido más sensible, suponiendo que estén acoplados. Para llevar a cabo tales experimentos, generalmente se deben emplear diferentes sondas o una sonda especial que contenga bobinas separadas y/o circuitería de sintonización y coincidencia para los nucleidos individuales que se abordarán.

La naturaleza de banda ancha del dispositivo de acuerdo con la invención permite la ejecución de experimentos de RMN 2D heteronucleares ubicuamente empleados, con la bobina de RMN no sintonizada que se dirige a frecuencias de diferentes nucleidos, con frecuencias de Larmor separadas por cientos de MHz. Los experimentos 2D más populares incluyen HSQC (coherencia heteronuclear de cuántica simple) y HMBC (coherencia heteronuclear de enlace múltiple), realizados para asignar el esqueleto protón-carbono de las moléculas orgánicas. Los inventores han demostrado el buen rendimiento y el manejo directo de la configuración de la bobina no sintonizada llevando a cabo el conjunto completo de experimentos estándar per se, como $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY, $^1\text{H}^1\text{H}$ -NOESY, $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HSQC y $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HMBC, realizados en una muestra de 18 μg de etilcinamato. Los experimentos 2D heteronucleares con el dispositivo según la invención permiten la asignación completa de todas las señales ^1H y ^{13}C a niveles de abundancia natural de estos isótopos.

Como una ilustración adicional de las capacidades del dispositivo de acuerdo con la invención, se pueden realizar mediciones de ^{19}F para muestras de química medicinal, polímeros, agroquímica, agentes de contraste de MRI.

Las mediciones de $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HSQC, $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HMBC, $^{19}\text{F}^{13}\text{C}$ -HSQC, $^{19}\text{F}^{13}\text{C}$ -HMBC se han llevado a cabo en una muestra de trifluoroetanol utilizando el dispositivo según la invención. Los datos adquiridos demostraron información detallada sobre todas las constantes de acoplamiento de un enlace, dos enlaces y tres enlaces. Particularmente informativos son los picos cruzados en los espectros de HMBC, que muestran patrones de multipletes complejos que están sesgados pero en direcciones opuestas atribuibles al hecho de que las constantes de acoplamiento ^{19}F - ^{13}C y ^1H - ^{13}C

tienen signos opuestos. Se ha demostrado que el dispositivo según la invención es capaz de proporcionar resultados similares en términos de calidad y sensibilidad en comparación con los sistemas convencionales (sintonizados).

Además, se encuentra que el dispositivo según la invención es particularmente adecuado para llevar a cabo mediciones dirigidas a la excreción urinaria de taurina. Aún, además, es posible una detección directa del trifluorometilfenol usando el dispositivo según la invención debido a su alta sensibilidad al ^{19}F . Se encuentra que un límite de detección de aproximadamente 100 picomoles es factible para el dispositivo según la invención.

En resumen, un extremo frontal del dispositivo de acuerdo con la invención que comprende una microbobina en un chip que termina un cable coaxial sin circuitería de sintonización y coincidencia como un sistema de RMN de bobina versátil de alta resolución con ejecución de habilitación de caracteres de banda ancha de adquisición de datos heteronucleares mono y multidimensionales.

El dispositivo según la invención se puede usar en aplicaciones médicas, en estudios forenses, en la medición de biofluidos (puros) sin usar aditivos o disolventes deuterados, que generalmente son obligatorios en los sistemas espectroscópicos de RMN de última generación.

El dispositivo según la invención puede realizarse como un inserto en un aparato de resonancia magnética, o puede usarse como un sistema portátil o de mesa independiente. El dispositivo según la invención puede integrarse además con otras plataformas de laboratorio en chip que soportan diferentes aplicaciones para la monitorización en línea de reacciones químicas o para permitir un análisis rápido de fluidos biológicos.

La Figura 3 presenta de forma esquemática un ejemplo de espectros de ^{13}C adquiridos para diferentes esquemas de desacoplamiento. Cada experimento se adquirió con 128 escaneos, y el tiempo total de adquisición fue de aproximadamente 9 minutos.

Los espectros presentados se obtienen a partir de ácido acético puro- $2\text{-}^{13}\text{C}$, usando los siguientes esquemas de desacoplamiento:

- 1) el espectro 1 se adquiere sin desacoplamiento;
- 2) el espectro 2 se adquiere sin desacoplamiento con la mejora de NOE;
- 3) el espectro 3 se adquiere con la mejora de NOE;
- 4) el espectro 4 se adquiere con desacoplamiento y mejora de NOE.

Se apreciará que pueden preverse diferentes esquemas de mejora de NOE. Por ejemplo, se puede usar un estado estacionario. En este modo, una sola resonancia se satura a baja potencia antes de adquirir el FID. Alternativamente, se puede prever un NOE impulsado truncado (TOE). Este modo es como Estado Estable, pero es saturado durante diversos tiempos más cortos, por lo que se puede observar la acumulación de NOE. Aun alternativamente, puede preverse NOE transitorio. En este modo, una sola resonancia puede invertirse selectivamente o todas las resonancias pueden etiquetarse en frecuencia con un pulso de 90 grados y un retardo variable. El modo de adquisición NOE es conocido per se y no se explicará con más detalles.

La Figura 4 presenta de forma esquemática una realización de espectros $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$ obtenidos a partir de ácido acético puro- $2\text{-}^{13}\text{C}$. En esta realización, la adquisición acoplada $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$ HSQC (véase el elemento 41), se llevaron a cabo 16 incrementos en la detección indirecta y 4 exploraciones por incremento, tiempo de adquisición 3 minutos.

El espectro 42 se refiere a una adquisición desacoplada, en la que se usaron 8 incrementos en la detección indirecta y 4 exploraciones por incremento, el tiempo de adquisición fue de 2 minutos.

La Figura 5 presenta de forma esquemática una realización de espectros de ^{19}F . La fuente fue NaPF_6 1M disuelto en agua. El espectro (1) muestra resultados acoplados, mientras que el espectro (2) muestra resultados desacoplados.

La Figura 6 presenta de forma esquemática una realización de los espectros $^{19}\text{F}^{31}\text{P}$. Los ítems 61 representan la adquisición acoplada $^{19}\text{F}^{31}\text{P}\text{-HSQC}$, 8 incrementos en la detección indirecta y 8 escaneos por incremento, tiempo de adquisición 3 minutos. El ítem 62 representa una adquisición desacoplada, 8 incrementos en la detección indirecta y 8 exploraciones por incremento, tiempo de adquisición 3 minutos. La fuente fue NaPF_6 1M disuelto en agua.

Aunque se han descrito realizaciones específicas anteriormente, se apreciará que la invención se puede practicar de formas diferentes a la descrita. Además, los elementos específicos discutidos con referencia a cualquiera de los dibujos aislados pueden intercambiarse libremente complementando cada exterior de cualquier manera particular. Las descripciones anteriores pretenden ser ilustrativas, no limitativas. Por lo tanto, será evidente para un experto en la materia que se pueden hacer modificaciones a la invención como se describe en lo anterior sin apartarse del alcance de las reivindicaciones que se exponen a continuación.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) para realizar mediciones de espectroscopía heteronucleares unidimensionales y/o multidimensionales de una pluralidad de nucleidos, comprendiendo el dispositivo de espectroscopía de RMN:
 - 5 - un imán para mantener un campo magnético sustancialmente constante en un volumen de medición; y
 - un dispositivo (10a) para fluidos, que incluye un chip;
 - un circuito de radiofrecuencia que contiene una microbobina (6), siendo la microbobina una bobina de RF provista en el chip y adaptada para transmitir radiación de RF a y/o recibir radiación de RF del volumen de medición;
- 10 caracterizado porque el dispositivo de espectroscopía de RMN contiene un cable coaxial, y porque la microbobina (6) termina dicho cable coaxial sin circuitería de sintonización y coincidencia, proporcionando al dispositivo de espectroscopía de RMN un carácter de banda ancha que permite la adquisición de datos heteronucleares.
2. El dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la bobina (6) de RF tiene un volumen de detección de menos de 1 mililitro, preferiblemente menos de 100 microlitros.
- 15 3. El dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la bobina (6) de RF tiene un volumen de detección de menos de 100 nanolitros.
4. El dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la microbobina (6) es una bobina espiral.
5. El dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dispositivo incluye una entrada/salida (2) de muestra provista en un sustrato (3) de chip de dicho chip.
- 20 6. El dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con la reivindicación 5, en donde un canal (4) para fluidos adaptado para habitar en el volumen de medición se centra en el sustrato (3).
7. El dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-6, en donde la microbobina (6) está dispuesta en un fondo del sustrato (3).
- 25 8. El dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que incluye un soporte dispuesto para permitir el alojamiento del chip para fluidos, comprendiendo dicho soporte un primer lado y un segundo lado, en donde
 - el primer lado está provisto de puntos de conexión eléctrica para conectarse al dispositivo para fluidos;
 - y el segundo lado está provisto de puntos de conexión para fluidos,
 en donde el soporte está fabricado de un material no magnético.
- 30 9. El dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el soporte está fabricado de aluminio.
10. El dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en donde el soporte comprende primeros agujeros y segundos agujeros, los primeros agujeros corresponden a los electrodos en el primer lado y los segundos agujeros corresponden a los puntos de conexión para fluidos en el segundo lado.
- 35 11. Un método para llevar a cabo mediciones de espectroscopía heteronuclear unidimensional y/o multidimensional de resonancia magnética nuclear (RMN) de una pluralidad de nucleidos, utilizando el dispositivo de espectroscopía de RMN de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, comprendiendo el método los pasos de:
 - proporcionar una muestra que comprende una pluralidad de nucleidos en un volumen de medición del dispositivo de espectroscopía de RMN;
- 40 - ejecutar una secuencia de adquisición de datos en el dispositivo de RMN;
 - adquirir datos de la muestra de acuerdo con dicha secuencia de adquisición.
12. El método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la secuencia de adquisición de datos incluye el desacoplamiento en una de las frecuencias de Larmor de los nucleidos.

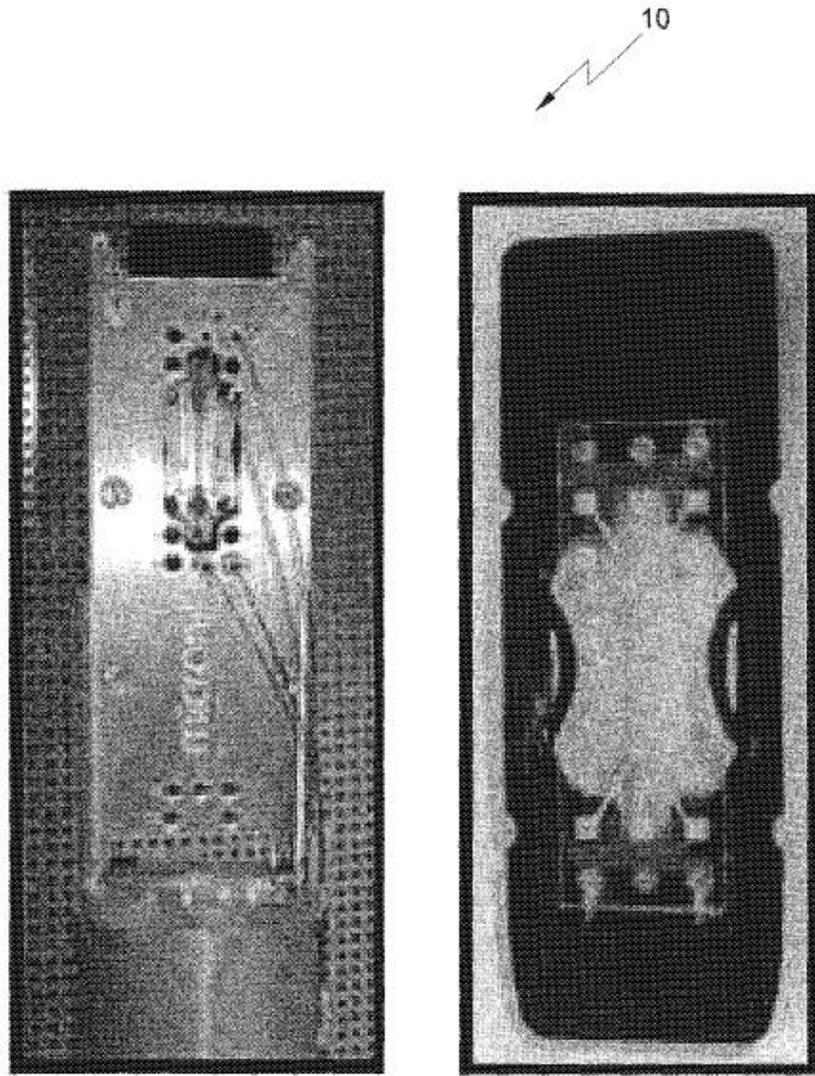


Fig. 1a

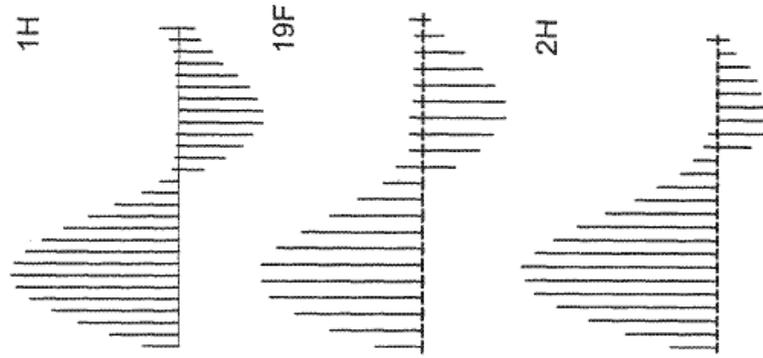


Fig. 1d

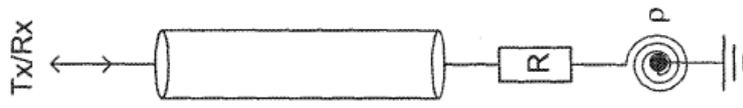


Fig. 1c

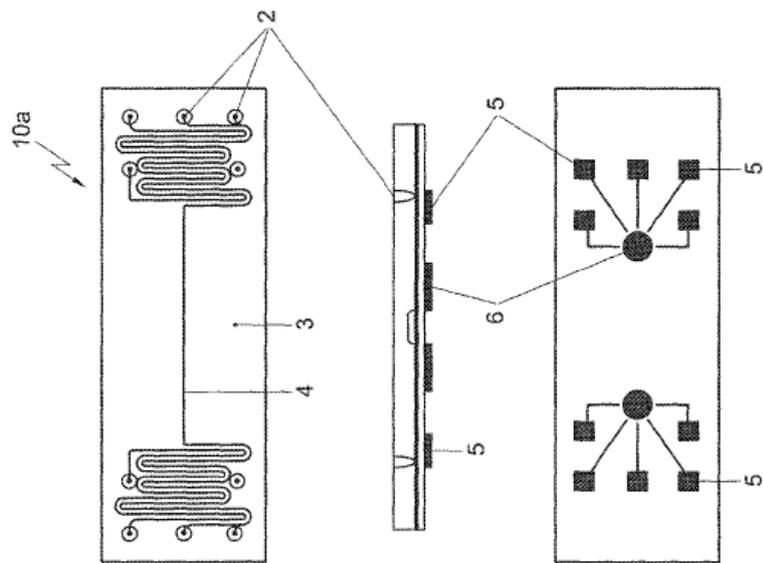


Fig. 1b

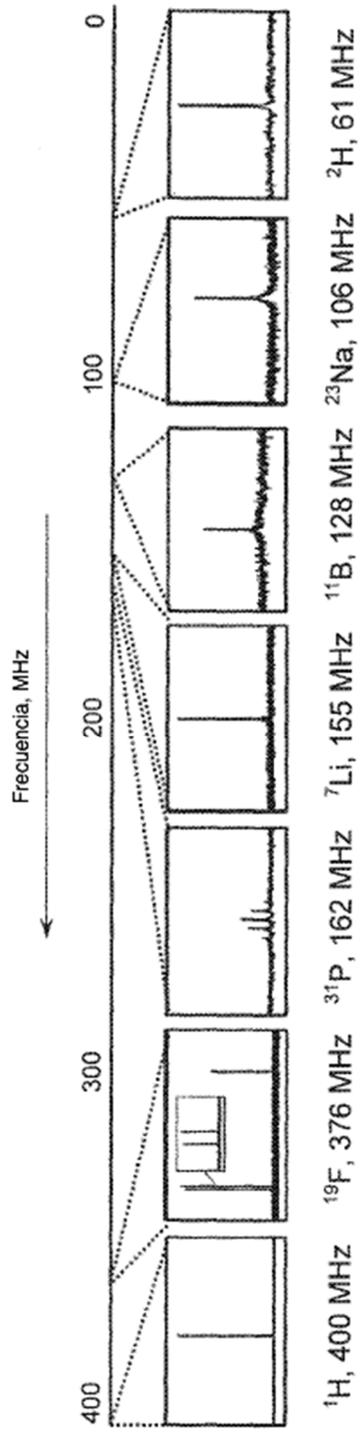


Fig. 2

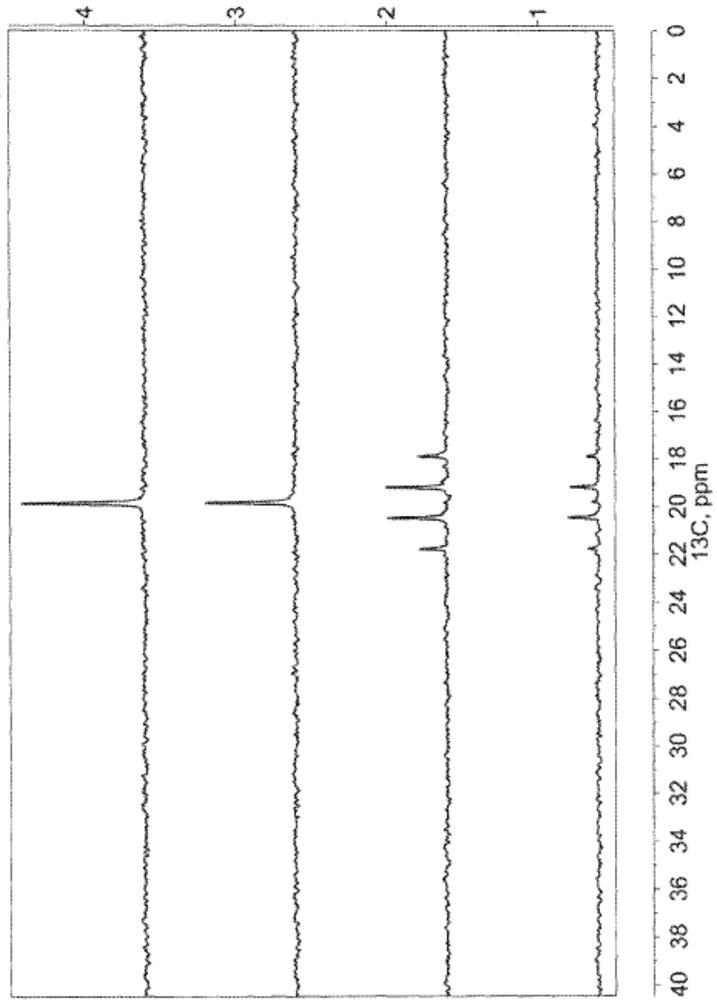


Fig. 3

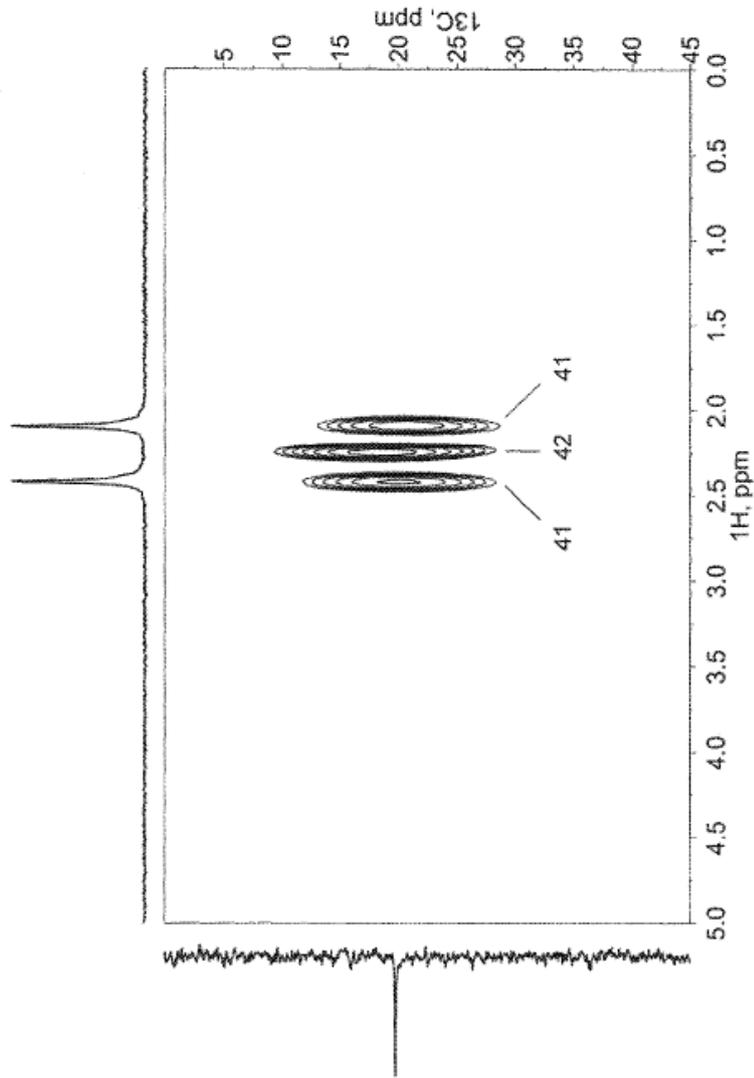


Fig. 4

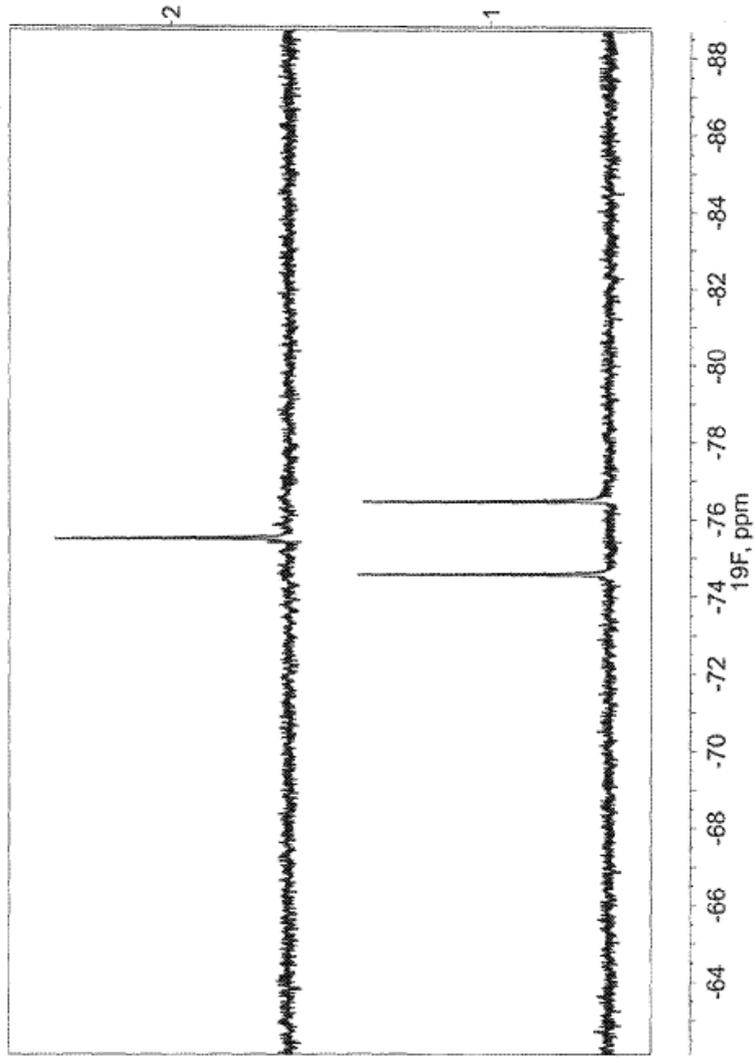


Fig. 5

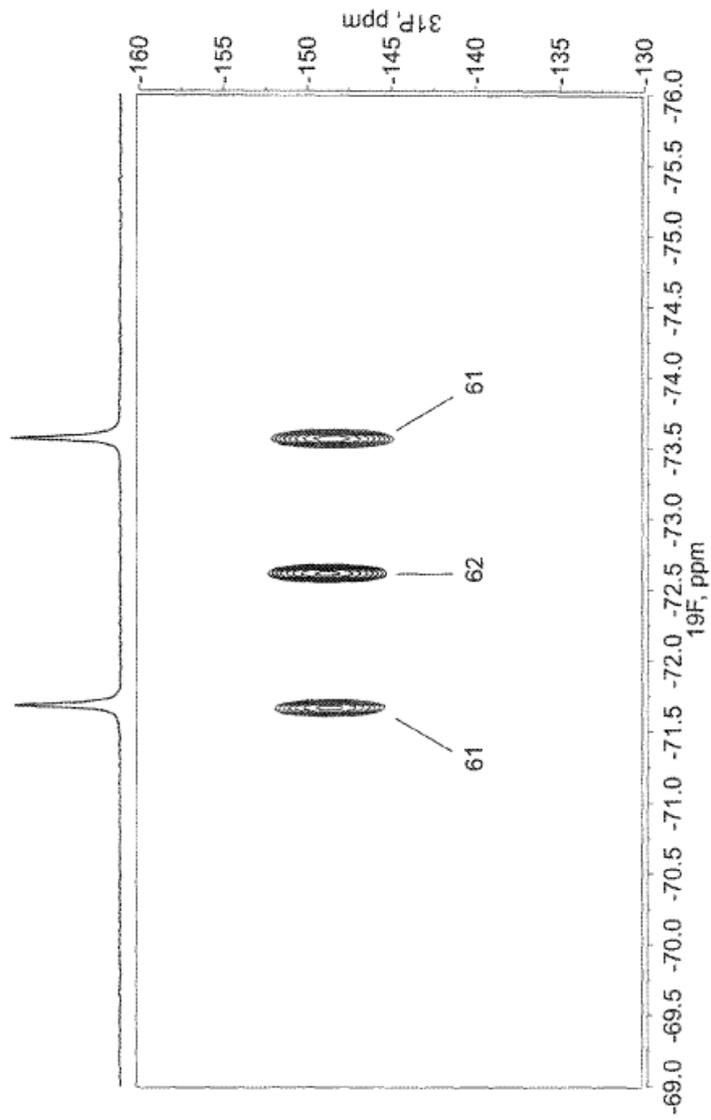


Fig. 6