

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 435 042**

51 Int. Cl.:

A61B 5/00 (2006.01)

G01N 21/35 (2006.01)

B07C 5/342 (2006.01)

G01N 21/90 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.05.2004 E 04739300 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2013 EP 1635698**

54 Título: **Procedimiento y dispositivo para el análisis cuantitativo de soluciones y dispersiones por espectroscopia infrarroja cercana**

30 Prioridad:

06.06.2003 DE 10326152

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

18.12.2013

73 Titular/es:

**SANOFI-AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH (50.0%)
Brüningstrasse 50
65929 Frankfurt am Main, DE y
UHLMANN VISIO TEC GMBH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**PLOSS, HANS-JOACHIM;
MERTENS, RICHARD;
PRINZ, HEINO y
CHRISTIANSEN, CHRISTIAN-PETER**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 435 042 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

Procedimiento y dispositivo para el análisis cuantitativo de soluciones y dispersiones por espectroscopia infrarroja cercana

5 La invención se refiere a un procedimiento para el análisis cuantitativo de soluciones y dispersiones, tales como soluciones y dispersiones para uso farmacéutico, por medio de la espectroscopia infrarroja cercana.

10 En el área de la producción de medicamentos se realizan esfuerzos constantes para mejorar el control de calidad de la seguridad del medicamento. La producción se lleva a cabo en este caso según las normas (actuales) internacionales de buenas practicas de fabricación (Current Good Manufacturing Practice, cGMP), y que están estipuladas por las autoridades reguladoras farmacéuticas (por ejemplo la Agencia de medicamentos y productos alimentarios americana, FDA). La autorización para producir medicamentos puede ser retirada a una compañía en el caso de infracciones serias de estas normas de fabricación.

15 Las pruebas fisicoquímicas y microbiológicas y la aprobación de un producto es una parte importante de estas normas de buena fabricación. En el curso de estas comprobaciones se examinan varios parámetros que describen la calidad del producto y se compara con las especificaciones. Las especificaciones se encuentran o en los documentos de licencia o en las farmacopeas internacionales. El producto puede ser comercializado siempre que se cumpla con todas las especificaciones. Uno de estos parámetros que se comprueban es el contenido del principio activo, que necesita ser determinado cuantitativamente. La determinación cuantitativa se lleva a cabo normalmente por muestreo y por exámenes destructivos. Los procedimientos de cromatografía líquida o gaseosa, o los procedimientos espectroscópicos, que requieren la preparación de la muestra, se usan preferiblemente como métodos de análisis. Estos procedimientos se distinguen por su relativa alta precisión, aunque la velocidad del análisis es muy baja. Estos procedimientos no son, por tanto, adecuados para proporcionar un resultado en línea, es decir directamente durante el proceso de fabricación. Más aún, la medida no puede llevarse a cabo en los productos en el empaquetado primario.

30 La desventaja del examen del lote por muestreo es que las perturbaciones o anomalías no pueden ser identificadas durante la producción, por ejemplo durante el llenado de las suspensiones. Existe un riesgo de que los productos sean aprobados como que cumplen con la especificación aun cuando no caigan dentro de los límites de aprobación. Estos productos que están "fuera de límites" (OOS) pueden ocurrir, por ejemplo, debido a problemas de producción temporales o al agregado de productos.

35 Los requerimientos para el examen completo, no sólo el muestreo, de cada unidad producida en la línea de producción en marcha pueden satisfacerse únicamente por métodos analíticos que no operan destructivamente y sean suficientemente rápidos. Ambos requerimientos pueden en principio satisfacerse por métodos espectroscópicos. La mayoría de los procedimientos espectroscópicos, sin embargo, no son adecuados para proporcionar resultados de análisis cuantitativo sin preparación previa de la muestra, por ejemplo, disolviendo, concentrando o diluyendo las muestras. Como regla, estos procedimientos no son tampoco adecuados para producir espectros de valoración cuantitativa a través del empaquetamiento primario (por ejemplo vidrio o plástico) y/o de sistemas dispersos. Solo el intervalo relativamente estrecho de longitudes de onda de la radiación del infrarrojo cercano (NIR), que se extiende desde 800 a 2.500 nm, puede usarse para llevar a cabo estas evaluaciones.

45 Se conocen procedimientos en los que los objetos transportados en una cinta transportadora son controlados, es decir en tiempo real y esencialmente por completo, en conexión con la distribución de desechables o la distribución de partes de material plástico. Algunos de estos métodos utilizan espectroscopia infrarroja cercana (NIR).

50 El documento de patente europea EP-B 1 030 740 describe un procedimiento para identificar y seleccionar objetos en una cinta transportadora, especialmente para desecho, en la que la composición del material de los objetos se registra espectroscópicamente por medio de un instrumento de medida de NIR, y la selección se lleva a cabo como una función del resultado de la espectroscopia para eliminar los objetos de la cinta transportadora.

55 El documento de patente europea EP-B 0 696 236 describe un procedimiento para seleccionar partes de material plástico, en las que las partes de plástico son transportadas pasado un sistema de detección de material que determina la clase de sustancia de cada parte del material por muestreo de éste sin contacto con la muestra en el campo de la medición. El sistema de detección del material contiene un sensor del material que opera sin contacto, por ejemplo un sensor de microondas, un sensor de rayos X o un sensor de espectroscopia que opera en el intervalo del infrarrojo cercano.

60 En el llenado de suspensiones de uso farmacéutico, pueden ocurrir fluctuaciones durante el llenado debido a procesos de segregación. Estas fluctuaciones pueden causar en alguna de las unidades llenas (por ejemplo cartuchos) que tengan valores del contenido de la sustancia activa (por ejemplo insulina) o excipientes (por ejemplo sulfato de protamina) que caigan fuera de la especificación requerida (por ejemplo de 95,0 a 105,0% del valor nominal para la insulina).

65

La solicitud de patente europea EP-A 0 887 638 describe un procedimiento y un dispositivo para analizar la composición de una muestra móvil utilizando una fuente de radiación infrarroja cercana y se detecta la luz NIR reflejada por la muestra. Los comprimidos o cápsulas en la cinta transportadora se analizan como muestras.

5 En principio, la cromatografía de alta presión (rendimiento) (HPLC) es adecuada para el análisis cuantitativo de muestras líquidas. Sin embargo, el control de calidad por análisis cuantitativo de las muestras mediante HPLC tiene la desventaja de que es lento y no tiene lugar no destructivamente. Es por tanto, solo adecuado para el control de calidad por muestreo. Este método es bastante inadecuado para el control en línea, en el que cada una de las unidades llenas de producto necesita ser comprobada para ver si el contenido del principio activo cae dentro de las especificaciones requeridas.

10
15 Herkert (2001, Dissertation, Eberhard-Karls Universität, Tübingen) ha evaluado un método NIR para el control en línea de productos farmacéuticos en una línea de empaquetado. El objeto del trabajo fue, en particular, evaluar el espectrofotómetro VisioNIR® (Uhlmann Visio Tec GmbH, Laupheim). La evaluación se llevó a cabo, entre otras, en suspensiones de insulina.

20 Herkert detectó en su trabajo la re-emisión, es decir la reflexión difusa de la luz NIR incidente. Solamente se llevó a cabo en este caso la discriminación cualitativa de tres tipos diferentes de insulina, que difirieron en su composición de insulina soluble y cristalina. Con ayuda de las diferencias espectrales en los espectros iniciales o en los espectros de la derivada se valoró si es posible identificar los productos individuales con la ayuda de los espectros NIR. El reconocimiento de la huella podría llevarse a cabo sobre la base de esas diferencias con la ayuda del análisis del componente principal (PCA) o las estadísticas de la evaluación VisioNIR®. El análisis cuantitativo no se llevó a cabo. La medida de líquidos (suspensiones de insulina) no fue posible con la instrumentación del espectrofotómetro de VisioNIR® en la línea de empaquetado. Los efectos de dispersión del vidrio y en el espacio de aire sobre la suspensión previno el registro válido del espectro (véase la disertación citada de Herkert, página 76, 2º párrafo).

25
30 Es objeto de la invención proporcionar un procedimiento para el análisis de productos que contienen una solución o dispersión, por ejemplo para fines farmacéuticos, con el que es posible la determinación cuantitativa rápida de las sustancias contenidas en la solución o en la dispersión, que no es invasivo y que no funciona destructivamente. En particular, el procedimiento sería adecuado para el análisis de una gran cantidad de unidades de producto por unidad de tiempo, por ejemplo para emplearse en el control en línea de la composición de las soluciones o dispersiones cuando se están llenando en un sistema de llenado o en una línea de empaquetado durante el proceso de producción. El control de la línea significa en este caso control en tiempo real, que incluye esencialmente todas las unidades del producto.

35 Sorprendentemente, se ha encontrado ahora que es posible emplear un procedimiento para cuantificar la composición de un producto en movimiento, con las etapas siguientes:

40 irradiar el producto con una fuente de radiación en el intervalo del infrarrojo cercano;

recibir la radiación que se transmite a través del producto, y que proporciona una señal de salida que se corresponde con la intensidad de la radiación recibida a un número de longitudes de onda diferentes;

45 determinar si el producto cae o no dentro del criterio de integridad predeterminado sobre la base de la señal de salida usando un procedimiento matemático.

50 El procedimiento según la invención se caracteriza porque el producto en movimiento, que es una solución o dispersión en un envase primario, y el contenido de al menos una de las sustancias contenidas en la dispersión o solución se determina cuantitativamente sobre la base de la señal de salida, en donde el producto contiene una dispersión, y la al menos una sustancia está presente en la fase dispersa y en la fase continua de la dispersión, y en donde la dispersión contiene insulina cristalina y disuelta.

55 En el contexto de la presente invención, cuantitativamente significa que el contenido de al menos una sustancia que se va a determinar en la solución o dispersión puede determinarse inequívocamente y correctamente dentro de un intervalo en general de $\pm 3\%$, preferiblemente $\pm 5\%$, en particular preferiblemente $\pm 10\%$ y en particular $\pm 20\%$ del valor establecido (por ejemplo definido por la receta galénica). Inequívocamente significa que los valores determinados por el procedimiento según la invención son confiables con una desviación estándar relativa de no más del 1,5%, preferiblemente no más del 1%, en particular preferiblemente no más de 0,5%. Los valores de referencia que se han determinado por medio de un procedimiento de referencia probado y comprobado, por ejemplo un procedimiento cromatográfico tal como HPLC, son en este caso considerados como correctos, con el valor de referencia y el valor determinado por el procedimiento según la invención desviándose uno de otro no más del 5%, preferiblemente no más del 3%, en particular preferiblemente no más del 1%.

65 El producto puede contener soluciones o dispersiones, normalmente en un recipiente que sea transparente para la radiación NIR. Si el producto contiene una dispersión, ésta será en general una dispersión líquida tal como una emulsión o suspensión. La sustancia contenida en la dispersión, y cuyo contenido se determina cuantitativamente

- por el procedimiento según la invención, puede estar presente solamente en la fase continua o solamente en la fase dispersa, o alternativamente distribuida en ambas fases. Las dispersiones o soluciones pueden ser productos farmacéuticos, que contienen un principio activo disuelto y/o disperso. La sustancia cuyo contenido se intenta determinar cuantitativamente puede, por ejemplo, ser un principio farmacéuticamente activo o un excipiente. Por ejemplo, la solución puede ser una solución de insulina o la dispersión puede ser una suspensión de insulina, que contiene insulina cristalina y disuelta, por ejemplo insulinas del tipo NPH (preparaciones de insulina Hagedorn de protamina neutra), mezclas de insulinas NPH e insulinas disueltas o suspensiones de zinc de insulina. En el caso de las insulinas se puede tratar, por ejemplo, de insulina humana o sus análogos modificadas genética o enzimáticamente.
- 5
- 10 Las soluciones o dispersiones pueden estar presentes en un envase primario, por ejemplo en cartuchos, viales o frascos, por ejemplo hechos de vidrio o plástico. Pueden estar colocadas sobre una cinta transportadora y pueden ser estudiadas con el procedimiento según la invención durante el proceso de distribución, por ejemplo de un sistema de llenado a una máquina empaquetadora.
- 15 El procedimiento según la invención se lleva a cabo en una configuración de transmisión, es decir se recibe la radiación transmitida a través del producto.
- El producto cuya composición se debe verificar se irradia con una fuente de radiación en el intervalo del infrarrojo cercano. El infrarrojo cercano convencionalmente comprende el intervalo de longitud de onda de 800 a 2.500 nm. Fuentes de radiación adecuadas son, por ejemplo, las lámparas de halógeno de mercurio.
- 20
- La radiación reflejada o transmitida por el producto es recibida por un dispositivo de recepción de la radiación. Se obtiene una señal de salida que corresponde a la intensidad de la radiación recibida a un número de longitudes de onda diferentes. Puede hacerse esto dividiendo la radiación recibida en un número de longitudes de onda en un espectrómetro y detectándolo con un detector de fotiododo. La corriente de cada fotiododo puede integrarse en un tiempo preseleccionado y posteriormente convertirse en una señal digital por un convertidor analógico digital (A/D).
- 25
- El tiempo de integración puede iniciarse por un disparador, por ejemplo una barrera fotoeléctrica, como función de la posición del objeto en movimiento.
- 30
- El contenido de al menos una de las sustancias contenidas en la dispersión o solución se determina cuantitativamente usando un procedimiento matemático en base a la señal de salida obtenida a diferentes longitudes de onda. Procedimientos matemáticos adecuados son métodos de análisis multivariado de datos. Procedimientos adecuados son, por ejemplo, el procedimiento de PLS (mínimos cuadrados parciales) o análisis de componente principal (PCA). Tales procedimientos son conocidos para las personas expertas en la técnica.
- 35
- Los procedimientos matemáticos pueden emplear factores de peso para reducir el efecto de las falsas variabilidades, no atribuibles a la composición, en el espectro registrado de NIR durante la evaluación, y para enfatizar las características del espectro que no varían entre las muestras del mismo tipo de producto.
- 40
- Convencionalmente, la calibración se lleva a cabo al menos una vez por determinación cuantitativa del contenido de al menos un compuesto de la solución o dispersión por un procedimiento alternativo.
- 45 Un procedimiento alternativo preferido que se emplea para la calibración es la HPLC. La calibración puede repetirse a intervalos regulares mientras se está realizando el procedimiento según la invención.
- En una realización del procedimiento según la invención, se emplea el procedimiento matemático descrito en la página 5, línea 47 a la página 8, línea 12 del documento de patente europea EP-B 0 887 638. Los factores de peso se emplean en el procedimiento matemático descrito aquí.
- 50
- Los datos de los espectros iniciales, que reflejan las intensidades de la radiación a intervalos (por ejemplo de 3,8 nm), se corrigen en este caso, y se obtiene un valor patrón que es independiente de las características del espectrómetro y del aparato de recepción de la radiación. Las intensidades calibradas de esta forma se aminoran para minimizar los efectos debidos a la señal de ruido, empleando una función de minimización Gaussiana. Los datos pueden autoescalarsen para minimizar los efectos sistemáticos. Para esto se normalizan las intensidades individuales del espectro con respecto a una desviación estándar cero y una varianza de uno sobre todo el intervalo de longitudes de onda. Las diferencias del espectro individual con respecto a la pendiente y a las características del espectro de la muestra del producto individual pueden enfatizarse formando la 1ª derivada. En lugar de la 1ª derivada, es posible también usar la 2ª o la 0 derivada.
- 55
- 60 Las diferencias entre un espectro modelo y el espectro de la muestra de producto (espectro de la muestra) se calculan entonces para cada longitud de onda medida. Si las diferencias exceden un límite especificado, entonces la muestra se identifica como que es significativamente diferente del modelo.
- 65 El modelo (modelo maestro) se determina de los registros de los datos de calibración de un número de muestras equivalentes de los diferentes tipos de producto. Se calcula después un espectro medio. Si se considera la varianza

del modelo por punto de medida (longitud de onda), entonces se determinan los intervalos con desviaciones estándar significativas altas. Estas regiones reflejan la variabilidad de las muestras de calibración (equivalentes con respecto a su composición) con respecto a varios factores externos, por ejemplo diferencias en el vidrio o en la posición de un cartucho. Con objeto de minimizar el efecto de estas varianzas falsas, se calculan factores de peso. Estos factores de peso consideran más los intervalos del espectro con una desviación estándar más pequeña que los intervalos con una desviación estándar más alta. El factor de peso se halla por medio de la desviación estándar de la diferencia entre los valores de la intensidad y el valor de la intensidad del modelo a cada longitud de onda.

La distancia euclidiana de cada registro de datos en los registros de las muestras de calibración es a continuación calculada usando los factores de peso. La media de este valor corresponde a la desviación estándar del modelo. La media de la distancia euclidiana del modelo se calcula también al final de la modelización. Este valor se da como una cantidad de referencia en términos de desviaciones estándar del modelo.

Cuando se lleva a cabo el procedimiento según la invención, el espectro obtenido para cada muestra del producto se contrasta frente al espectro del modelo. Para este fin, se calcula la distancia euclidiana entre la intensidad a cada longitud de onda y la intensidad correspondiente para el modelo, aplicándose el factor de peso en cada longitud de onda. Los factores de peso que se usan se hallaron en la modelización. El resultado se usa para calcular la distancia euclidiana de la muestra. Esta se da como una cantidad de referencia en términos de desviaciones estándar tipo del modelo.

El valor de la distancia euclidiana de la muestra se compara a continuación con un valor límite fijado. El valor límite se deriva de la distancia euclidiana media del modelo y un intervalo de probabilidad.

Con el procedimiento matemático descrito anteriormente se puede verificar la composición de las soluciones y dispersiones. Si la composición de las dispersiones se está verificando, entonces, en una realización particularmente preferente del procedimiento, esos factores de peso que se determinaron en base a una solución se usan en la etapa de determinación. La solución, sobre la base de que se encontraron los factores de peso, en este caso preferiblemente contiene la misma sustancia que se determina que la dispersión. En la dispersión, la sustancia puede estar dispersa así como también disuelta o, más generalmente, distribuida entre las fases continua y dispersa.

Por ejemplo, las suspensiones de insulina contienen una proporción de insulina disuelta y una proporción de insulina suspendida en forma cristalina. Esta proporción de insulina cristalina puede variar en amplios intervalos incluso si el contenido de insulina es constante. En este caso, puede ser ventajoso usar en la etapa de determinación los factores de peso que se hallaron sobre la base de una solución de insulina pura. El uso de los factores de peso de la solución pura elimina la influencia de los efectos de dispersión que son causados por los cristales en suspensión.

Con los procedimientos de evaluación matemáticos descritos, la evaluación de los productos puede llevarse a cabo a gran velocidad, por ejemplo dentro de una ventana de tiempo de sólo 5 ms. Esto hace posible analizar un gran número de productos en un tiempo breve. El procedimiento además no es invasivo y puede funcionar sin contacto. Por ejemplo, es por tanto muy adecuado para el análisis de productos en una línea de empaquetado o en conjunción con un sistema de llenado para cartuchos o botellas. Este análisis puede llevarse a cabo en tiempo real e incluye el 100% de los productos que son transportados en la línea de empaquetado. Al menos 3, preferiblemente al menos 8 o incluso 50 o más productos pueden ser sucesivamente analizados por segundo por el procedimiento según la invención. Es por tanto adecuado, por ejemplo, para la línea de control de unidades de producto en la producción, llenado y/o empaquetado de soluciones o dispersiones de uso farmacéutico.

Con el procedimiento según la invención es posible, por ejemplo, mejorar el control de muestreo a control del 100% cuando se llenan soluciones o dispersiones para uso farmacéutico.

Un aparato para llevar a cabo el procedimiento comprende

una fuente de radiación para la irradiación del producto que emite radiación en el intervalo del infrarrojo cercano;

un dispositivo de recepción de la radiación, que recibe la radiación reflejada por o transmitida a través del producto;

un espectrómetro para recibir la radiación desde el dispositivo de recepción de la radiación y para proporcionar una señal de salida que se corresponde con la intensidad de la radiación recibida a un número diferente de longitudes de onda;

un dispositivo para la determinación cuantitativa del contenido de al menos una sustancia contenida en la dispersión o solución sobre la base de la señal de salida.

El dispositivo de recepción de la radiación puede tener unas lentes convergentes y una fibra óptica. El dispositivo de recepción de la radiación puede tener un fotodiodo como su detector.

El aparato preferentemente posee además un dispositivo de calibración con el cual puede determinarse el contenido cuantitativo de al menos una sustancia por un procedimiento alternativo, por ejemplo, un cromatógrafo líquido de alta presión.

5 El aparato puede tener adicionalmente un dispositivo de selección que se usa para rechazar aquellos productos que no cumplen las especificaciones que se han determinado según el procedimiento de acuerdo con la invención. Los productos que no cumplen especificaciones son aquellos que no caen dentro del criterio de integridad predeterminado.

10 Si se usa también el aparato para el análisis cuantitativo de las dispersiones es preferible entonces que también contenga un dispositivo para la homogeneización de las dispersiones que hay que cuantificar antes de que sean analizadas. Las dispersiones pueden, por ejemplo, homogeneizarse en los recipientes por medio de un mecanismo de agitación o de rotación. La homogeneización puede, sin embargo, conseguirse directamente durante el proceso de llenado.

15 El aparato puede sin embargo también tener un dispositivo para detectar la posición del producto, por ejemplo una proyección de imagen o una barrera foto eléctrica.

20 El aparato puede usarse junto a un dispositivo de llenado, en el cual el empaquetado primario se llena con las soluciones o dispersiones. El aparato puede también ser un componente de dicho dispositivo de llenado.

En una realización, el dispositivo tiene una fibra óptica que conduce la radiación emitida por la fuente de radiación a la posición del producto.

25 Se explicará la invención en más detalle a continuación con referencia a las figuras.

La Figura 1 muestra esquemáticamente un dispositivo para llevar a cabo el procedimiento. El dispositivo comprende una fuente de radiación (1), por ejemplo una lámpara halógena de tungsteno. La radiación del infrarrojo cercano emitido por la fuente de radiación se alinea con una lente convergente (2) y se conduce a la posición del producto (4) por medio de una fibra óptica (3). El producto puede ser, por ejemplo, un cartucho de cristal que contiene una suspensión de insulina y que viniendo, por ejemplo, de un dispositivo de llenado se transporta más allá del final de la fibra óptica (3) en una cinta transportadora. La radiación transmitida por el producto (4) se alinea con una lente convergente (5) y se introduce en el espectrómetro (6) por medio de una fibra óptica. En el espectrómetro (6) la radiación transmitida que contiene la información espectral del producto (4) irradiado en la forma de transmisión se divide en radiación de distintas longitudes de onda por medio de una rejilla (7) y se detecta por un detector de fotodiodo (8). Las intensidades detectadas por el detector de fotodiodo como función de la longitud de onda se convierten en señales digitales por medio de un convertidor A/D (9) y se evalúan en el dispositivo de determinación (10), por ejemplo un PC.

40 Ejemplo 1

El propósito de la monitorización en línea del llenado de la insulina es el control cuantitativo del contenido de la insulina en el 100% de los viales de insulina llenos. El contenido de insulina de las suspensiones de insulina envasadas debería desviarse en este caso del valor nominal solamente no más de $\pm 5\%$. Las anomalías deberían ser impecablemente detectables.

50 Para simular la monitorización del llenado de la insulina, se hicieron calibraciones con un lote de muestras de calibración, que contenían insulina Insuman Basal® cristalina en empaquetado primario (cartuchos de cristal), y a continuación se estudiaron las muestras de producción de insulina. Se usaron para la calibración paquetes de insulina con contenidos de insulina conocidos exactamente desde 90 a 120% del contenido establecido. Los valores de referencia se determinaron por HPLC. Los cartuchos se agitaron muy bien antes de la medición de manera que hubiera una suspensión homogénea.

55 Se registraron los espectros de insulina en la forma de transmisión con un espectrómetro de fotodiodo (MCS 511 NIR 1,7). El intervalo de longitud de onda de medida fue de 960 a 1760 nm, y se evaluó el intervalo de longitud de onda de 960 a 1360 nm. Se usó una lámpara de halógeno de 20 W como fuente de radiación NIR. El espectrómetro se comparó regularmente con patrones de referencia. Se usó un filtro BG5 y un filtro BG9 como referencia.

60 Se aminoraron y normalizaron los espectros para preprocesarlos. Los espectros se usaron en la derivada 0. Las propiedades de dispersión de las muestras de insulina se mantuvieron de esta forma en los espectros.

65 A continuación los espectros fueron evaluados por medio de un procedimiento de evaluación multivariada. Se usó una regresión PLS (de mínimos cuadrados parcial) como procedimiento de regresión, aunque es también posible usar otros procedimientos multivariados de evaluación. Se obtiene una relación matemática entre la información de los espectros de las muestras de insulina y el contenido de insulina de la regresión. Más tarde con la ayuda de esta relación puede calcularse el contenido de insulina de una muestra desconocida a partir de su espectro.

La figura 2 muestran la correlación entre los valores medidos por HPLC y los valores determinados con los espectros de transmisión NIR de las muestras de calibración de la insulina Basal® (en % del contenido definido, respectivamente). Está claro que hay una buena correlación en los valores determinados con los espectros de NIR y los valores determinados por medio de HPLC.

Se estudiaron a continuación muestras de proceso procedentes de la fabricación de la insulina. Son estas muestras las que se obtuvieron en el proceso de fabricación regular y que se habían desechado como no apropiadas para uso. Se obtuvo el contenido total de insulina a partir del espectro NIR con la ayuda de la ecuación de regresión multivariada. A continuación se estudiaron los mismos viales por medio de HPLC.

La Figura 3 muestran el contenido total de insulina de las muestras estudiadas determinado por HPLC, y la Figura 4 muestra su contenido total de insulina según los espectros de NIR, determinado por el procedimiento de evaluación descrito (ambos en UI).

Los valores determinados por medio de los espectros de transmisión NIR y los valores determinados por HPLC muestran buena similitud. Está claro que las anomalías encontradas por medio de HPLC pueden detectarse inequívocamente con la ayuda de los espectros de transmisión NIR aminorados y normalizados.

Ejemplo 2

El propósito de la monitorización en línea del llenado de la insulina es el control cuantitativo del contenido de la insulina en 100% de los frascos de insulina llenos. El contenido de insulina de las suspensiones de insulina llenas debería en este caso desviarse solamente del valor nominal por no más de +/-5%. Las anomalías deberían ser impecablemente detectadas. La monitorización puede producirse o durante el llenado, en cartuchos de insulina en movimiento, o después del llenado, en cartuchos ya llenos. En cualquier caso, la medición ocurre a través del empaquetado primario (cartuchos de cristal) y en los contenidos en movimiento.

Para simular las velocidades que ocurren cuando se llenan los tubos de insulina, se usó una máquina de control óptico del tipo 288 de la firma EISAI Machinery. Esta máquina puede ser equipada con cartuchos de insulina (suspensiones) y hace que los cartuchos giren, de manera que se forma una suspensión homogénea por medio de las bolas metálicas en los cartuchos. En esta máquina se instaló el aparato de medición de NIR, construido similarmente al de la Figura 1. La medición ocurrió en el cartucho en movimiento rotando a una velocidad de 150 cartuchos por minuto. Hay que tener cuidado de asegurarse de que haya una suspensión homogénea en el momento de la medición. El aparato de medición instalado consiste en una lámpara de hidrógeno de 50 W (Comar 12LL50), un soporte para la lámpara con lentes convergentes integradas (por ejemplo, Comar 20LH00), que enfoca el foco de la radiación en el punto medio del cartucho de la insulina, una segunda lente convergente (por ejemplo, Comar 80TC50), que alinea la radiación transmitida y la transmite vía un acoplador, (por ejemplo Zeiss N° 772571-9020-000) y una fibra óptica (por ejemplo Zeiss, CZ# 1050-724), a un detector de fotodiodo (Zeiss, MMS NIR N° 301261). Las señales analógicas en el detector se convierten en señales digitales y se leen a un archivo de texto. Concretando, la radiación se mide a 128 fotodiodos en un intervalo de alrededor de 900 a 1670 nm. El momento de la medición se señaló con una barrera de luz (Wenglor UM55PA2 & 083-101-202) que causa que se registre un espectro cuando el cartucho pasa a través del camino óptico. El detector de PDA se comparó inicialmente con el Spectralon cada día de medición.

El aparato descrito se usó para medir preparaciones de insulina (suspensiones) del tipo Insuman Basal, Insuman Comb 25 e Insuman Comb 50. Cada espectro tardó 8 milisegundos (ms) en registrarse.

Los espectros de insulina se compararon con espectros patrón usando el método descrito en la parte descriptiva. Se obtuvieron los espectros patrón y su variabilidad midiendo ocho cartuchos llenos de agua. Los espectros patrón y de insulina se aminoraron y autoescalaron. Se calculó después la distancia euclidiana de cada espectro de insulina en relación con la media del espectro patrón usando factores de peso específicos de la longitud de onda.

Se prepararon muestras de distintas concentraciones y se calcularon las distancias euclidianas del espectro patrón para cada una de las preparaciones, Insuman Basal, Insuman Comb 25 e Insuman Comb 50. La dependencia del contenido de insulina de la distancia euclidiana se muestra en la Figura 5 para Insuman Comb 25 como ejemplo de los distintos tipos de preparaciones. La precisión del método está igualmente ilustrada, puesto que se representan 4 mediciones repetidas. Se obtiene una función de calibración (2° grado polinómico) para cada tipo de preparación en la que la distancia euclidiana puede ser convertida en contenidos de insulina. Después de la conversión de la distancia euclidiana en contenidos de insulina, hay que tener en cuenta dos factores de corrección. El contenido de insulina tiene que ser corregido en cuanto a la temperatura del material medido. Adicionalmente hay que aplicar un factor específico para la preparación para reflejar las distintas distribuciones del tamaño de los cristales en la suspensión. Como resultado el contenido puede expresarse como un porcentaje en relación con los primeros 20 resultados. En ese caso el contenido se obtiene como un porcentaje del valor diana, basado en los primeros cartuchos del llenado. Por otra parte, el contenido de insulina encontrado puede también corregirse por un factor que resulta de la relación del valor no corregido de una muestra con el contenido de insulina medido concomitantemente. En la Figura 6, se ha determinado este factor de corrección para la muestra 16 y se han evaluado una serie de cartuchos de contenido desconocido de Insuman Comb 25 como ejemplo para otros tipos de preparaciones. Estas muestras se habían obtenido en el proceso normal de fabricación y se habían desechado como no apropiadas para el uso. El factor de

corrección de la temperatura no se aplicó, puesto que no hubo diferencias durante la medición. Muestras adicionales se analizaron por HPLC por muestreo. Puede verse que los resultados usando el método de la presente invención (rectángulos negros) concuerdan bien con los resultados del método convencional (HPLC, cruces negras). Es posible sin ambigüedad y con precisión juzgar si un valor está dentro de los límites del 95 a 105% o fuera de ellos.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para cuantificar la composición de un producto en movimiento, con las etapas siguientes:
irradiar el producto con una fuente de radiación en el intervalo del infrarrojo cercano;
5 recibir la radiación que se transmite a través del producto, y que proporciona una señal de salida que se corresponde con la intensidad de la radiación recibida a un número de longitudes de onda diferentes;
determinar si el producto cae o no dentro de un criterio de integridad predeterminado sobre la base de la señal de salida usando un procedimiento matemático,
caracterizado porque
10 el producto en movimiento contiene una solución o dispersión en un envase primario, y el contenido de al menos una de las sustancias contenidas en la dispersión o solución se determina cuantitativamente sobre la base de la señal de salida, y la al menos una sustancia está presente en la fase dispersa y en la fase continua de la dispersión, y en donde la dispersión contiene insulina cristalina y disuelta.
- 15 2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la calibración se realiza al menos una vez determinando cuantitativamente el contenido de al menos una sustancia en la solución o dispersión por medio de un procedimiento alternativo.
- 20 3. Procedimiento según la reivindicación 2, caracterizado porque se usa HPLC como procedimiento alternativo.
4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque la etapa de determinación usa factores de peso.
- 25 5. Procedimiento según la reivindicación 4, caracterizado porque el producto contiene una dispersión, y se usan en la etapa de determinación factores de peso que se determinan en base a una solución.
6. Procedimiento según la reivindicación 5, caracterizado porque la solución para hallar los factores de peso y la dispersión contiene la misma sustancia que se tiene que determinar cuantitativamente.
- 30 7. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el producto en movimiento es un vial de insulina o un cartucho de insulina.

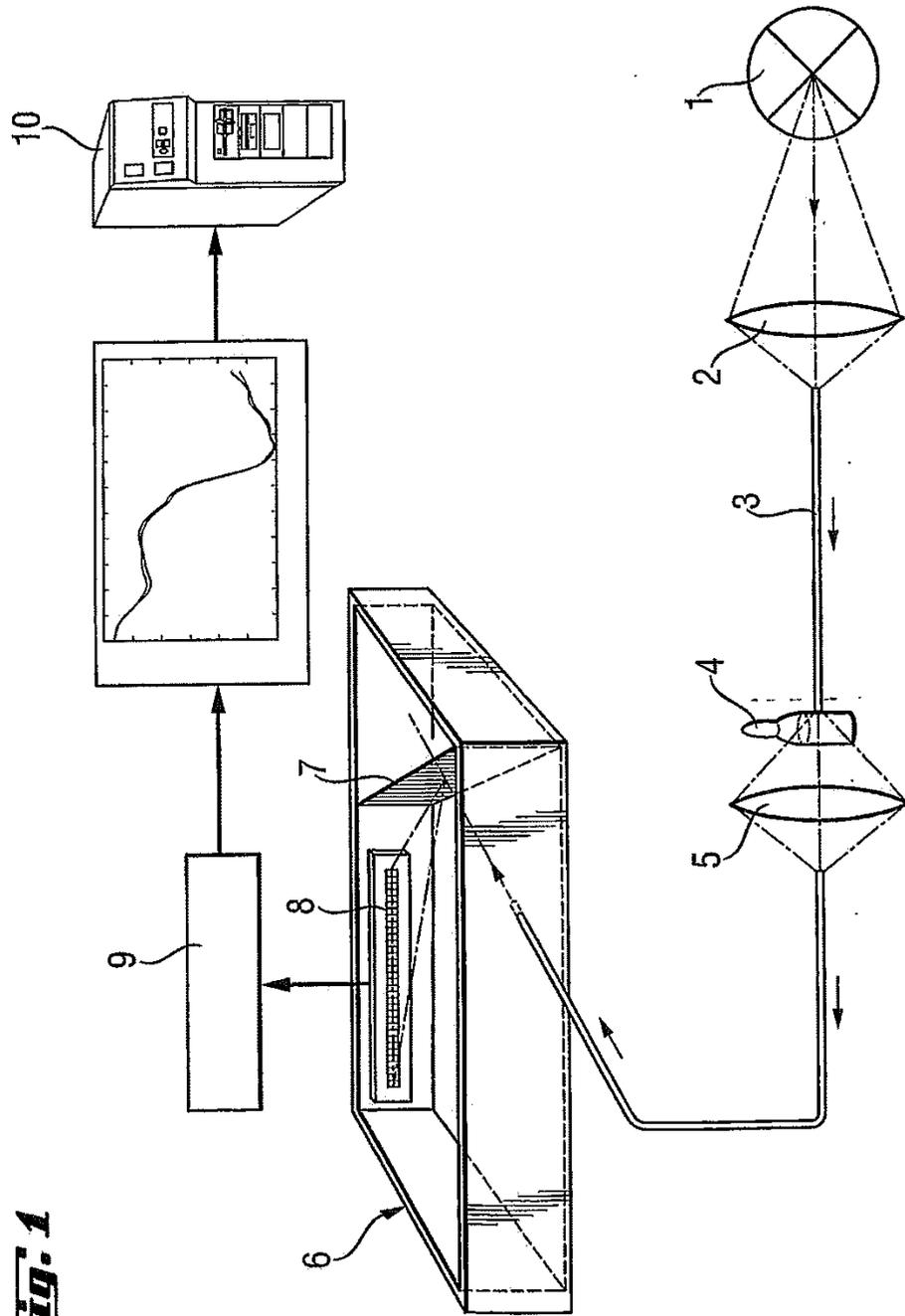


Fig. 1

Fig. 2

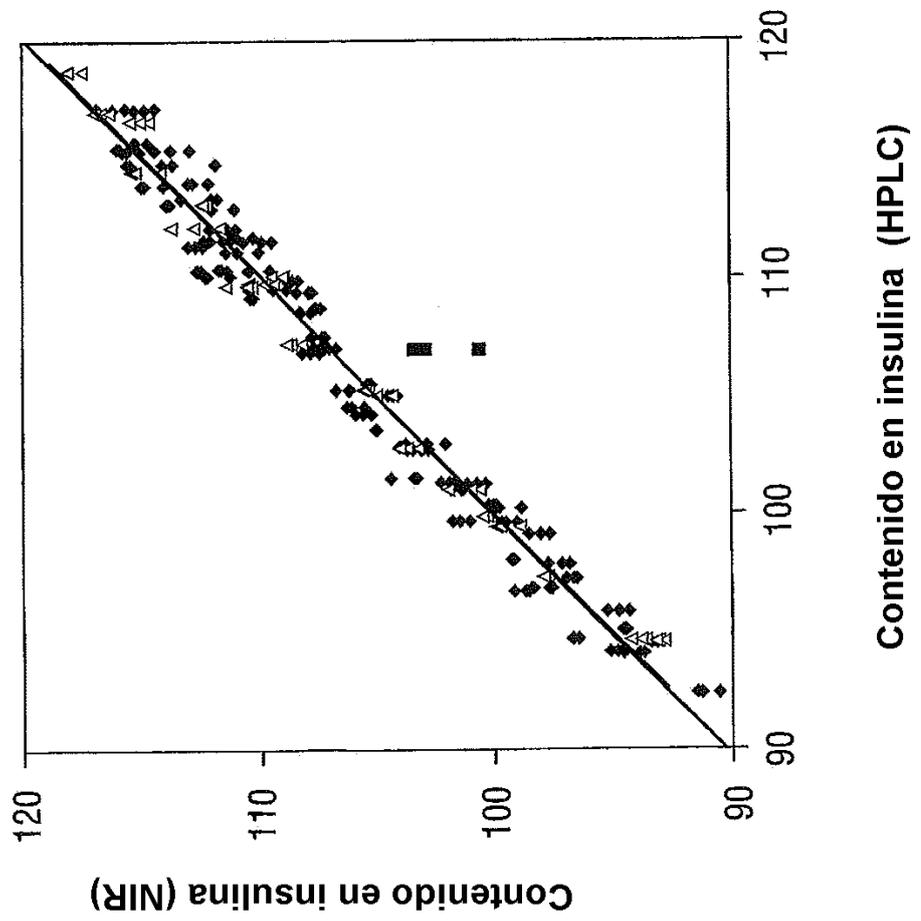


Fig. 3

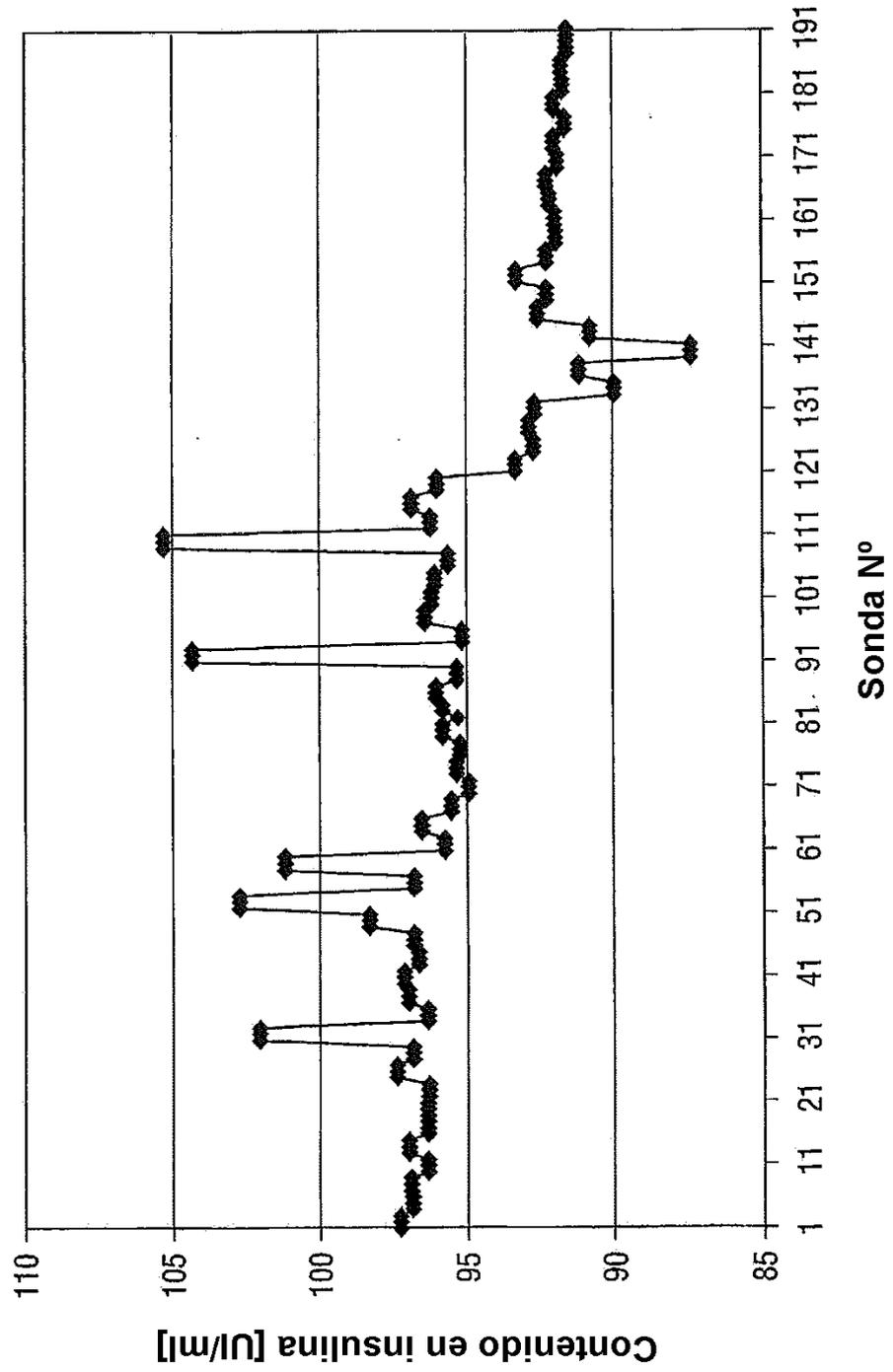


Fig. 4

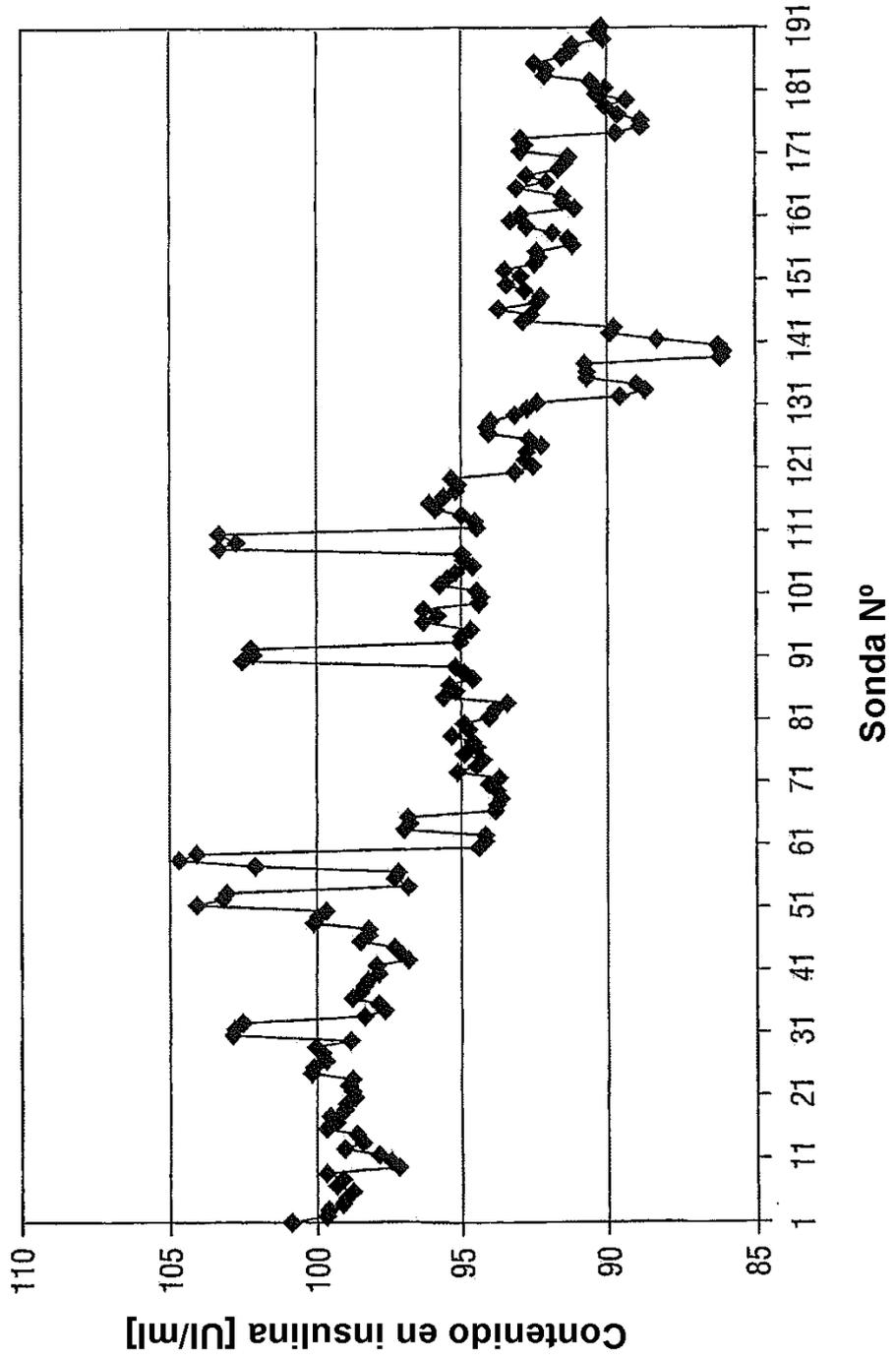


Fig. 5

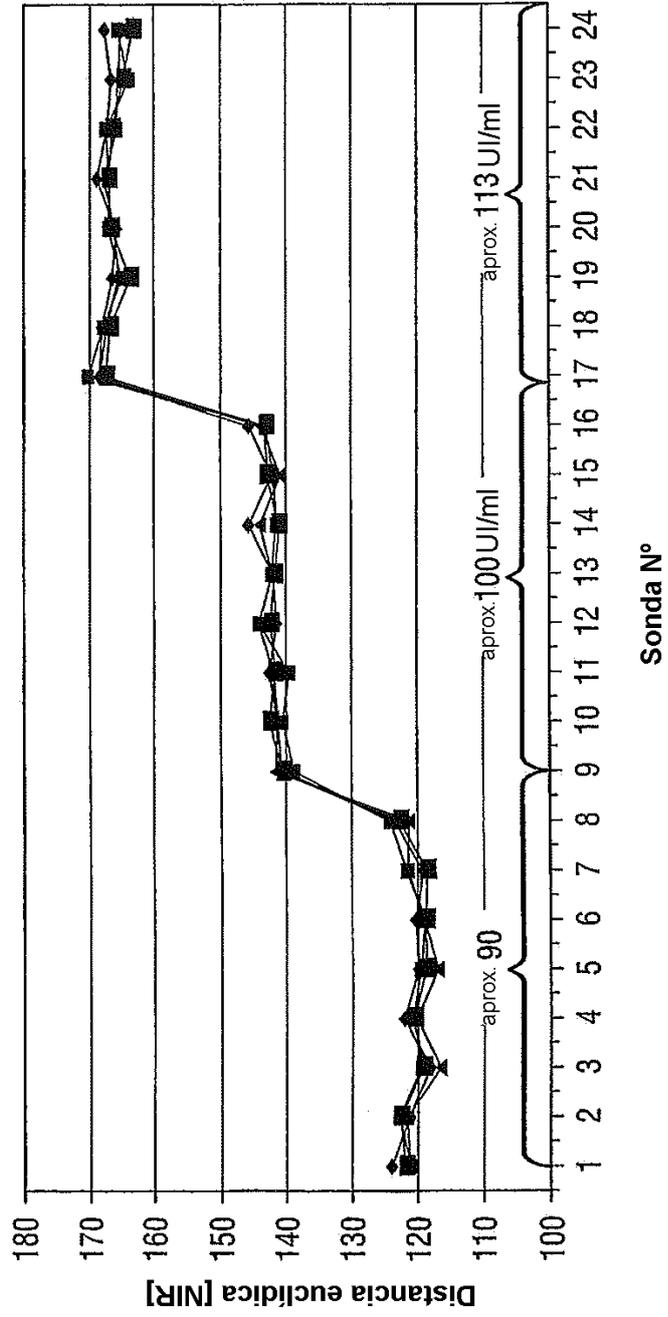


Fig. 6

