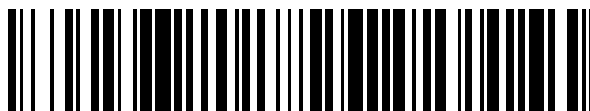


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 511 165**

51 Int. Cl.:

G01N 21/65 (2006.01)

G01N 21/95 (2006.01)

G01N 21/03 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2011 E 11767432 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.09.2014 EP 2625506**

54 Título: **Cámara de iluminación para espectroscopia Raman**

30 Prioridad:

07.10.2010 FR 1058167

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.10.2014

73 Titular/es:

**ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE PARIS
(100.0%)
3 Avenue Victoria
75004 Paris 4, FR**

72 Inventor/es:

**BOURGET, PHILIPPE y
CASSARD, BRUNO**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 511 165 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

Cámara de iluminación para espectroscopia Raman

5 La invención se refiere al campo del control de la naturaleza de muestras por espectroscopia Raman. Concretamente, la invención es de particular aplicación en el Control de Calidad Analítica (CCA) de productos preparados de manera extemporánea en farmacias hospitalarias.

10 La “certificación de Objetos Terapéuticos (OT)”, a través del concepto del CCA de liberación *in situ*, está encaminada efectivamente a garantizar los parámetros, identidad, pureza y concentración de las moléculas de interés. Estos productos pueden ser de gran valor añadido (por ejemplo, anticuerpos monoclonales), o requerir precauciones de utilización (por ejemplo, una citotoxicidad para los productos destinados a las quimioterapias).

15 En el mejor de los casos, este análisis debe ser rápido (resultado en unos minutos y antes de la perfusión al paciente), sin consecuencias para la muestra y sin que sea necesario extraer muestra a efectos de control (al no poder ser tomadas ciertas muestras sin ser destruidas).

Desde esta perspectiva, la espectroscopia Raman presenta un cierto número de ventajas:

- 20 - respeto de la integridad del objeto terapéutico: ni extracción ni destrucción alguna de muestras,
- análisis directo/extemporáneo y a través de las paredes del objeto terapéutico,
- 25 - análisis llevados a cabo en condiciones ambientales,
- obtención simultánea de las firmas espectrales de las cubiertas, vehículos, moléculas de interés,
- gran rapidez (< 2 min) / flexibilidad funcional compatible con los principios del CCA de liberación, es decir, justo antes de la administración del OT al paciente. Esta rapidez de respuesta también permite preparar nuevamente un
- 30 OT declarado “no conforme”,
- ausencia de utilización de elementos desechables o de generación de residuos de producción: preservación medioambiental y desarrollo sostenible,
- 35 - especificidad destacable (obliga a una valoración analítica),
- puesta en práctica relativamente simple, con relación a los procedimientos separativos de referencia,
- inversión económica relativamente reducida (algunas decenas de miles de euros),
- 40 - reducido coste de mantenimiento: escasas piezas móviles, motores...,
- tamaño del equipo que lo hace utilizable en CPCI (centro de producción hospitalaria o no de los inyectables o de las quimioterapias),
- 45 - campo de aplicación potencialmente muy amplio,
- el agua prácticamente no dispersa en espectroscopia Raman, haciéndola útil como “espectro testigo”.

50 El empleo de la tecnología Raman también habilita la identificación, y siempre sin intrusión, del vehículo (NaCl 0,9 %, G al 5 %, agua ppi...) portador de la molécula de interés.

El principio de la espectroscopia Raman es el siguiente: las radiaciones de una potente fuente monocromática (láser) se conducen por una fibra óptica y se focalizan sobre la muestra que se va a analizar, provocando así su excitación. La luz dispersada por la muestra es recogida por un sensor y luego conducida por una fibra óptica hasta el separador (monocromador). Este, acoplado a un detector, proporciona entonces datos sobre la muestra que ya sólo tienen que ser procesados informáticamente. En general, se recoge la luz dispersada bien sea a 180°, o bien a 90°.

60 Mediante comparación con espectros de referencia, se tiene así la posibilidad de caracterizar la naturaleza del producto presente en la muestra, su concentración, así como la presencia de impurezas ocasionales.

Se trata de una técnica de medida local: el haz láser es focalizado sobre una pequeña parte de la muestra y permite estudiar las propiedades de esa muestra sobre un volumen de algunos micrómetros cúbicos.

65 Esta tecnología se ha utilizado ya para el análisis de cápsulas duras, o soluciones inyectables, y en particular directamente en botellas de plástico.

La problemática particular que se plantea en el ámbito hospitalario para la puesta en práctica del CCA es la diversidad de los objetos terapéuticos que han de estudiarse, tanto en su composición como en la naturaleza y la forma del contenedor. En efecto, estos objetos terapéuticos, cuando se trata de soluciones inyectables, pueden presentarse dentro de jeringas (de variados volúmenes), de bolsas de perfusiones, de botellas, de vasos de precipitados o recipientes similares, de ampollas o de infusores portátiles.

Los infusores portátiles son dispositivos ligeros y desechables para permitir una perfusión lenta y continua de quimioterapia. El producto de quimioterapia se halla contenido en una bolsa de depósito flexible, el cual a su vez se halla emplazado en el interior de una cubierta rígida.

La gran variedad de objetos terapéuticos y de su geometría requiere disponer de un sistema que permita aplicar de manera sencilla el procedimiento de espectroscopia Raman a estos objetos. Por otro lado, al preparar las farmacias hospitalarias múltiples objetos terapéuticos, es preciso poder sustituir rápidamente un objeto por otro, sin que la parametrización de la fuente luminosa de excitación sea difícil de efectuar. Finalmente, conviene asimismo proteger a los operarios de cualquier exposición eventual al haz láser o a la luz dispersada.

El documento WO 2009/147252 A1 da a conocer una cámara para análisis de una muestra por espectroscopia Raman que comprende una fuente de luz y un módulo de recepción.

La invención se refiere así a una cámara para el análisis de una muestra por espectroscopia Raman, caracterizada porque se materializa en forma de un paralelepípedo opaco, que presenta:

(a) una compuerta de introducción de una muestra, sobre una de sus paredes verticales,

(b) un primer orificio y medios de fijación (4) de una fuente de luz para proporcionar una radiación de excitación y de una lente que permite la convergencia de la radiación de excitación con el fin de definir un punto de focalización de la radiación de excitación, sobre la pared inferior,

(c) un segundo orificio y medios de fijación de un sensor que permite detectar la luz dispersada Raman, sobre una pared vertical o sobre la pared inferior;

comprendiendo dichos medios de fijación (4) unos medios de graduación (8) que permiten hacer variar dicho punto de focalización de la radiación de excitación en un eje vertical, con el fin de permitir una graduación de la altura de dicho punto de focalización en el seno de la cámara de análisis.

Los términos "vertical", "inferior" se relacionan con la manera en que preferiblemente se coloca la cámara en su utilización para analizar una muestra. De hecho, esto significa claramente que la compuerta de introducción de una muestra se ubica en una primera pared. El primer orificio y los medios de fijación (4) de una fuente de luz para proporcionar una radiación de excitación y de una lente (22) que permite la convergencia de la radiación de excitación, con el fin de definir un punto de focalización de la radiación de excitación, se ubican sobre una segunda pared que, por lo tanto, es perpendicular a la primera pared.

El segundo orificio y los medios de fijación de un sensor que permite detectar la luz dispersada Raman se ubican sobre una pared, que no es paralela (enfrentada) a la segunda pared.

En este modo de realización, la fuente luminosa (cabeza de láser) y la lente se ubican sobre la pared inferior de la cámara según la invención. La luz es enviada de este modo de abajo hacia arriba. Este modo de realización es preferido, ya que permite caracterizar la muestra que se deposita sobre la solera de la pared inferior, por encima del primer orificio.

No obstante, en otros modos de realización que también forman parte de la invención, es posible implantar la cabeza del láser sobre un costado (hallándose entonces el primer orificio en una pared lateral de la cámara), equivaliendo esto, de hecho, a "girar" la cámara en su utilización. Se pueden implantar asimismo varias cabezas de láser, para la adquisición de datos Raman en diferentes puntos de la muestra. En tal caso, conviene comprobar, no obstante, que no haya interferencias entre los diferentes detectores, con el fin de que cada uno de ellos detecte la luz dispersada tras la excitación mediante una cabeza específica.

Tal como se ha visto, la espectroscopia Raman equivale a recoger y analizar la luz dispersada por la muestra tras una excitación, generalmente a 90° o 180° del eje del haz láser de excitación.

En un modo preferido de realización, el segundo orificio coincide con el primer orificio. En este modo de realización, se recoge la luz dispersada a 180°. En este modo de realización, los medios de fijación (4) y los medios de fijación de dicho sensor también coinciden. Contienen entonces dos fibras ópticas (llevando una la luz emitida a través de la cabeza de láser y transportando la segunda la luz dispersada por la muestra hacia el monocromador y el detector).

Como consecuencia de la gran variabilidad de los objetos terapéuticos que se han de someter a ensayo, y en particular del espesor de las cubiertas, conviene poder desplazar el punto de focalización de la luz de excitación, con el fin de que quede este ubicado dentro de la muestra, a aproximadamente 1 cm por encima de la cubierta del Objeto Terapéutico. Esta distancia permite en particular evitar los “efectos de borde” relacionados con la cubierta.

5 Tal como se ha referido anteriormente, el láser (fuente de luz monocromática paralela) está acoplado a una lente que permite la convergencia de los haces luminosos en un pequeño volumen de la muestra que se pretende analizar. La distancia entre la lente y el punto de convergencia es conocida por el operario, y viene expresada por la focal de la lente.

10 En un modo de realización, los medios de fijación (4) permiten desplazar de manera solidaria a la vez la fuente de luz (la cabeza de láser) y la lente.

15 En otro modo de realización, la cabeza de láser es fija con relación a la pared inferior de la cámara de análisis, y sólo la lente es móvil en el eje vertical.

En un modo preferido de realización, dichos medios de fijación (4) de dicha fuente de luz y de la lente comprenden un manguito estanco a la luz, fijado a la pared inferior de la cámara.

20 En un modo particular de realización, este manguito va atornillado a la pared inferior de la cámara de iluminación. En este modo de realización, se pueden mecanizar retranqueos en la solera, para introducir los tornillos, con el fin de mantener la planicidad de la solera tras la fijación del manguito.

25 La estanqueidad a la luz del manguito se obtiene realizando el mismo en un material opaco (tal como policarbonato). Esto permite a la vez evitar la “contaminación” del haz luminoso por la luz ambiente y proteger a los operarios.

30 En un modo particular de realización, los medios de graduación del conjunto móvil (que es la fuente de luz y la lente cuando estos dos elementos son solidarios, o la lente sola) comprenden un tornillo milimétrico. La utilización de un tornillo milimétrico permite así desplazar los elementos que tienen que ser móviles en el eje vertical de manera muy precisa. Se puede utilizar así un tornillo milimétrico que permite un posicionamiento con una precisión de la centésima de milímetro. El fundamento del tornillo milimétrico está en inducir un movimiento de traslación a partir de un movimiento de giro del tornillo. El paso de rosca permite definir la precisión del tornillo (desplazamiento a traslación por cada vuelta de tornillo).

35 En un modo preferido de realización, este tornillo está relacionado con un contador que permite conocer el desplazamiento del tornillo, igual al del conjunto móvil y, por tanto, la altura del punto de focalización en el seno de la cámara según la invención.

40 A título de ilustración, se asume que la focal de la lente es de 20 mm y que el conjunto móvil se halla, en el punto 0 del contador, a ras de la solera de la cámara. Ello implica que el punto de focalización de la luz se encuentra 20 mm por encima de la solera.

45 Si se pretende analizar una muestra presente dentro de una cubierta de plástico de 1 mm de espesor, se procurará por tanto obtener la focalización a 11 mm por encima de la solera (aproximadamente 1 cm dentro de la muestra). Por lo tanto, se debe bajar el objeto móvil 9 mm.

Si la muestra se halla presente dentro de una jeringa que presenta un espesor de 3 mm, se baja el objeto móvil 7 mm.

50 Un experto en la materia determina así la graduación que habrá de introducir en el objeto móvil en función de la focal de la lente, y de la naturaleza del objeto terapéutico y, en particular, del espesor de la cubierta.

La cámara según la invención (cámara de iluminación Raman) puede ir fijada en un chasis que comprende pies.

55 Este chasis puede comprender asimismo unos medios que permitan graduar la altura de la cámara con relación al chasis (por ejemplo, pies graduables en gato de rosca). En tal caso, puede ser ventajoso que la cámara lleve embarcados unos medios de medida de la planicidad, tales como un nivel de aire, con el fin de tener la seguridad de que la solera está perfectamente horizontal.

60 Las paredes de la cámara están mecanizadas en cualquier material opaco. Es de señalar que las diferentes paredes pueden ser de materiales diferentes. En un modo preferido de realización, se utiliza, al menos para la solera, un material que permite garantizar la mejor planicidad posible, evitando al máximo las irregularidades de relieve sobre la solera. Se puede utilizar así policarbonato o material de carbono. El espesor de las paredes de la cámara según la invención lo define el experto en la materia, es generalmente superior a 0,5 cm y generalmente no excede de unos centímetros. Se pueden utilizar así paredes de carbono de un espesor de 1 cm.

65

La opacidad de la cámara permite evitar las interferencias de medición de las que podría ser originante la luz ambiente en la puesta en práctica de la medida de espectroscopia Raman. Esta permite asimismo proteger a los operarios.

5 La compuerta de introducción de la muestra en la cámara según la invención puede ser de cualquier índole. Es, sin embargo, importante que, una vez cerrada, preserve la opacidad de la cámara. Por lo tanto, para tal fin se puede prever una junta.

10 Así, la compuerta puede resbalar en guillotina a lo largo de una pared lateral (de arriba abajo o de abajo hacia arriba). También se puede abrir por intermedio de un sistema de bisagras, o una cremallera (motorizada o no). Cabe también contemplar sistemas de recuperación (tales como muelles) que permitan auxiliar al operario para volver a cerrar esta compuerta tras la colocación de la muestra. Puede quedar fijada en la posición de cerrada por cualquier medio (imán, gancho...).

15 La invención se refiere asimismo a un procedimiento de análisis de una muestra presente dentro de una cubierta que comprende las etapas consistentes en

(a) emplazar dicha muestra sobre la solera de la cámara según la invención, en la vertical de dicho primer orificio y encarada con dicho segundo orificio,

20 (b) accionar los medios de graduación (8) con el fin de posicionar el punto de focalización de la radiación de excitación dentro de la muestra a aproximadamente 1 cm por encima de dicha cubierta,

(c) emitir dicha radiación de excitación y detectar la luz dispersada Raman.

25 Está claro que la radiación de excitación es emitida por mediación de una fuente de luz fijada en los medios de fijación (4).

30 Lógicamente, la detección de la luz dispersada Raman se efectúa por mediación de un sensor fijado en los medios de fijación de un sensor de dicha cámara.

Tal como se ha visto, este procedimiento es particularmente útil cuando dicha muestra es una solución líquida y dicha cubierta se selecciona de entre una jeringa, una bolsa para perfusión, una botella, un vaso de precipitados o recipiente similar, una ampolla, un infusor portátil.

35 En otro modo de realización, se lleva a la práctica el procedimiento con una muestra que es sólida, seleccionándose dicha cubierta de entre una cápsula dura, una cápsula, un recubrimiento sólido.

40 Sin embargo, también cabe la posibilidad de llevar a la práctica este procedimiento con muestras sólidas sin cubierta, y en particular comprimidos. Este modo de realización queda comprendido igualmente dentro del ámbito de la invención.

En un modo de realización, la radiación de excitación es emitida durante un tiempo comprendido entre 1 segundo y un minuto.

45 El tiempo de excitación lo define el operario y depende en particular de la potencia del láser y de la naturaleza de la muestra que se va analizar.

50 Con objeto de aumentar la calidad del análisis, muchas veces se somete la muestra a varias radiaciones de excitación y se toma la media de los datos recogidos para cada excitación.

Es de señalar que la presente invención cubre asimismo la utilización de la espectroscopia Raman, en general, para caracterizar el contenido de un infusor portátil.

55 La invención cubre asimismo la utilización de la espectroscopia Raman, en general, para caracterizar un anticancerígeno, tal y como se describe en los ejemplos.

Descripción de los dibujos

60 La figura 1 representa una vista en sección de un modo de realización de medios de fijación y graduación según la invención. Se ven los medios de fijación de la fuente luminosa (4), materializados en forma de un manguito, así como los medios de graduación (8), materializados en forma de un tornillo milimétrico. También resulta visible un agujero (14) que permite la fijación con un tornillo.

65 La figura 2 representa una vista desde arriba de los medios ilustrados en la figura 1. Se ven perfectamente los tres agujeros para tornillos (14), así como la ubicación de la lente (22). La fuente luminosa queda ubicada detrás de la

lente (22). El sensor se puede ubicar igualmente en el mismo lugar que la lente (22).

La figura 3 muestra una vista general de medios de fijación (4) y de graduación (8) aplicables según la invención. Se ve el tornillo milimétrico (8) (ruleta de mando y paso de rosca), así como un manguito (4) que contiene la cabeza de láser, la lente (22) y eventualmente el sensor. Se representa asimismo la funda de la fibra óptica (15) que permite la llegada de la luz a la cabeza de láser a partir de la fuente de energía. Esta también puede contener una segunda fibra óptica que permite transferir la luz dispersada recibida por el sensor al monocromador y al detector.

La figura 4 representa una cámara según la invención. Se representan los medios de fijación (4) y de graduación (8), fijados en la pared inferior de la cámara, así como la funda de fibra óptica (15).

Ejemplos

EJEMPLO I - APLICACIÓN A LAS OXAZAFOSFORINAS (IFOSFAMIDA)

Modo operativo

Equipo: espectrómetro Raman RXN1 785 nm Kaiser Optical®

Láser: 785 nm - potencia de 450 mW

Tiempo de adquisición: 1 min (cámara)

- 5 puntos de margen (0 - 1 - 5 - 10 - 15 - 20 mg/ml) (3x)

- 3 CCs (2 - 8 - 16 mg/ml) (6x)

- 3 bolsas para perfusión (2 - 4 - 6 mg/ml) (3x)

- Dos disolventes de dilución: NaCl 0,9 % y G 5 %

Validación a lo largo de 3 días

Protocolo HPLC: idéntico (mismas muestras)

Resultados

Se obtiene un margen de intensidad de picos lineal en función de la concentración (1 a 20 mg/ml); $r^2 > 0,99$ (n = 9); pendiente significativa (P < 0,001 - Prueba F). La variación de las pendientes de los márgenes de calibración < 5 %, y se observa una reproducibilidad de los datos dentro de un mismo día y entre varios días.

Estos resultados muestran que esta tecnología es aplicable a las oxazafosforinas.

EJEMPLO II - APLICACIÓN A LAS ANTRACICLINAS (IFOSFAMIDA)

Se utiliza el mismo equipo que en el ejemplo 1.

Aplicación de la Espectroscopia Raman (ER) en el CCA de jeringas de doxorubicina y de epirubicina, con vehículo NaCl 0,9 % o Glucosa al 5%.

Estas moléculas presentan una epimerización: inversión de configuración estérica del 4º carbono de la fracción glucídica y espectros UV: idénticos ($\lambda_{\text{máx.}}$ 254 nm).

Los resultados obtenidos muestran que la espectroscopia Raman permite medir la concentración de los dos productos en disolución, cualquiera que sea el vehículo utilizado, con una buena linealidad.

Por otro lado, son observables para la doxorubicina dos longitudes de onda características (465 cm^{-1} y 350 cm^{-1}), que permiten diferenciarla de la epirubicina.

La naturaleza de los espectros observados también permite diferenciar el vehículo utilizado.

EJEMPLO III - APLICACIÓN EN LOS INFUSORES PORTÁTILES

Se utiliza el mismo equipo que en el ejemplo 1.

La problemática de los infusores portátiles está en que, una vez introducida en el infusor, es imposible tomar la

muestra sin destruir el infusor. Por otro lado, la presencia de dos cubiertas rodeando la muestra disminuye la fuerza de la señal de excitación (al absorber cada cubierta una parte de la energía de excitación).

5 Se ha podido mostrar que, pese a la presencia de dos cubiertas, la espectroscopia Raman permite cualificar la naturaleza del producto contenido en los infusores portátiles.

REIVINDICACIONES

1. Cámara para análisis de una muestra por espectroscopia Raman, caracterizada porque se presenta en forma de paralelepípedo opaco, que presenta, en su utilización para analizar una muestra:
- 5 (a) sobre una de sus paredes verticales, una compuerta de introducción de dicha muestra,
- (b) sobre la pared inferior, un primer orificio y medios de fijación (4) de una fuente de luz para proporcionar una radiación de excitación y de una lente (22) que permite la convergencia de la radiación de excitación con el fin de
- 10 definir un punto de focalización de la radiación de excitación,
- (c) un segundo orificio y medios de fijación de un sensor que permite detectar la luz dispersada Raman, sobre una pared vertical o sobre la pared inferior;
- 15 comprendiendo dichos medios de fijación (4) unos medios de graduación (8) que permiten hacer variar dicho punto de focalización de la radiación de excitación en un eje vertical, con el fin de permitir una graduación de la altura de dicho punto de focalización en el seno de la cámara de análisis.
2. Cámara de análisis según la reivindicación 1, caracterizada porque el segundo orificio coincide con el primer
- 20 orificio.
3. Cámara de análisis según la reivindicación 1 ó 2, caracterizada porque dichos medios de fijación (4) permiten desplazar de manera solidaria a la vez dicha fuente de luz y dicha lente (22) que permite la convergencia de la radiación de excitación en el punto de focalización.
- 25 4. Cámara de análisis según la reivindicación 1 ó 2, caracterizada porque dichos medios de fijación (4) permiten desplazar dicha lente (22) que permite la convergencia de la radiación de excitación en el punto de focalización, siendo fija dicha fuente de luz con relación a la pared inferior de la cámara de análisis.
- 30 5. Cámara de análisis según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque dichos medios de fijación (4) de dicha fuente de luz y de dicha lente (22) comprenden un manguito estanco a la luz, fijado a la pared inferior de la cámara.
- 35 6. Cámara de análisis según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada porque dichos medios de graduación (8) que permiten la variación del punto de focalización de la radiación de excitación comprenden un tornillo milimétrico.
7. Procedimiento de análisis de una muestra presente dentro de una cubierta, que comprende las etapas consistentes en:
- 40 (a) emplazar dicha muestra sobre la solera de la cámara según una de las reivindicaciones 1 a 6, en la vertical de dicho primer orificio y encarada con dicho segundo orificio,
- (b) accionar los medios de graduación (8) con el fin de posicionar el punto de focalización de la radiación de
- 45 excitación emitida por mediación de una fuente de luz fijada en los medios de fijación (4) dentro de la muestra a aproximadamente 1 cm por encima de dicha cubierta,
- (c) emitir dicha radiación de excitación y detectar la luz dispersada Raman, por mediación de un sensor fijado en los
- 50 medios de fijación de un sensor de dicha cámara.
8. Procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado porque dicha muestra es una solución líquida y porque dicha cubierta se selecciona de entre una jeringa, una bolsa para perfusión, una botella, un vaso de precipitados o recipiente similar, una ampolla, un infusor portátil.
- 55 9. Procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado porque dicha muestra es sólida y porque dicha cubierta se selecciona de entre una cápsula dura, una cápsula, un recubrimiento sólido.
10. Procedimiento según una de las reivindicaciones 8 a 9, caracterizado porque dicha radiación de excitación es emitida durante un tiempo comprendido entre un segundo y un minuto.

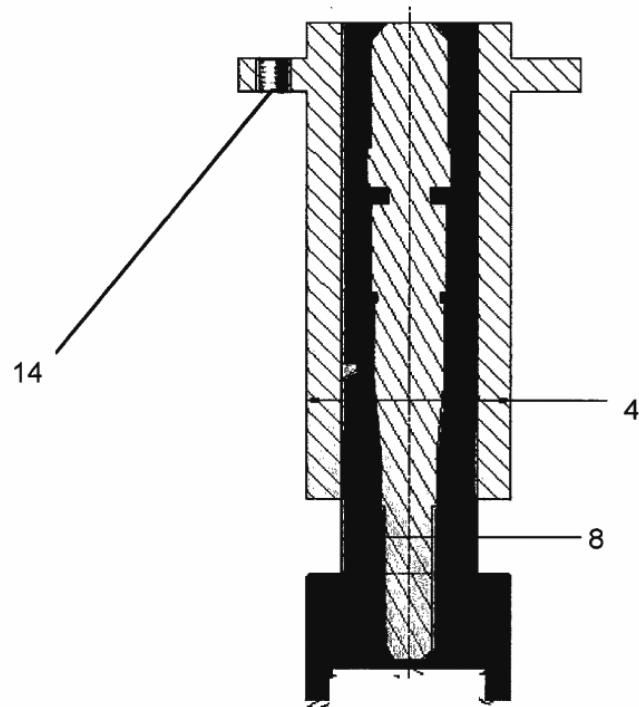


Figura 1

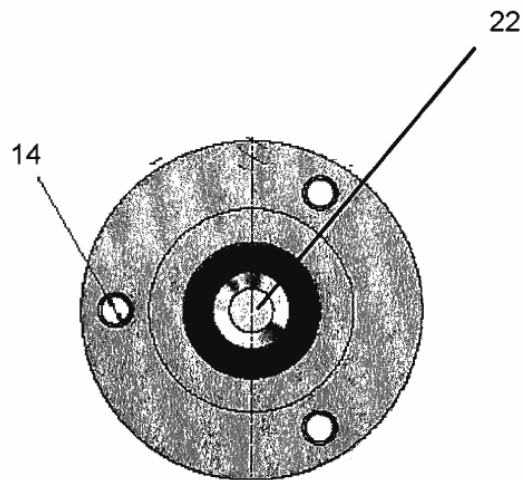


Figura 2

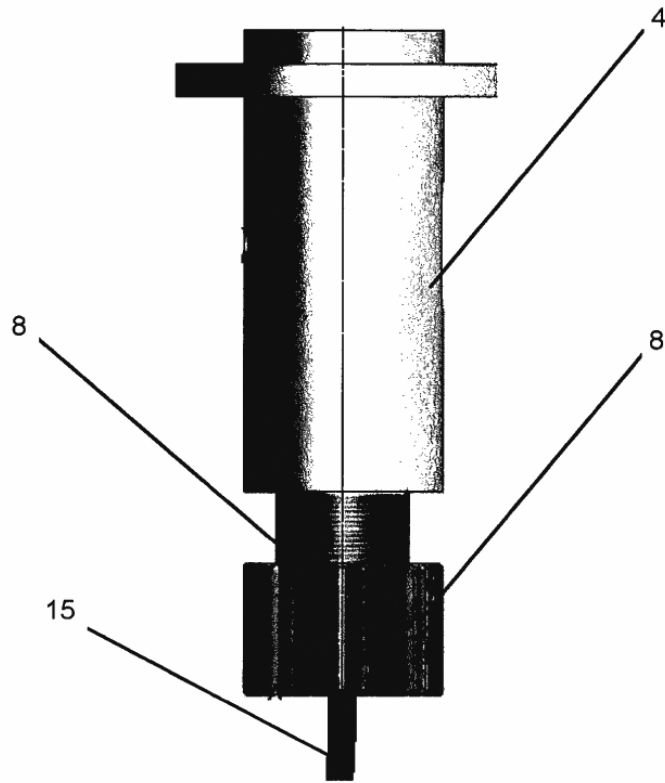


Figura 3

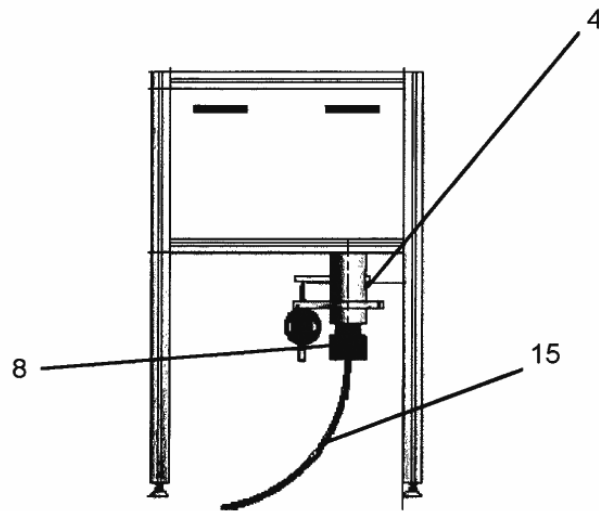


Figura 4