

Caso práctico de Agilent

## Entrevista: Evaluación de una innovadora estrategia de pruebas de identificación analítica de oligonucleótidos

### Facítenos información sobre su empresa.

Vetter es una organización familiar de desarrollo y fabricación por contrato (CDMO, por sus siglas en inglés) cuya sede se encuentra en Ravensburg (Alemania) y que cuenta con plantas de producción en Alemania, Austria y Estados Unidos. Actualmente tiene más de 5.700 trabajadores en todo el mundo y la empresa está especializada en productos estériles inyectables que vienen en un amplio abanico de formatos (jeringas, cartuchos, viales y sistemas de doble cámara). Entre sus servicios esenciales figuran la fabricación clínica y comercial, el empaquetamiento secundario y el montaje de dispositivos de medicación por vía parenteral.

Vetter cuenta con amplia experiencia en el apoyo a los procesos de producción de sus clientes del sector farmacéutico y de la biotecnología a través de servicios analíticos como las pruebas de control de calidad (CC) de los materiales suministrados, los productos farmacéuticos en desarrollo y los fármacos rellenables, los estudios de estabilidad y los análisis de desarrollo.

Puede obtener más información acerca de Vetter en [vetter-pharma.com](http://vetter-pharma.com).

### ¿Qué tipo de trabajo desarrolla su laboratorio?

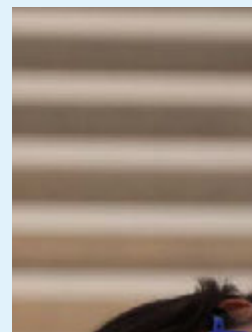
El Laboratorio de Ciencias Analíticas (ASL, por sus siglas en inglés) del Servicio de Desarrollo de Vetter (VDS, por sus siglas en inglés) está especializado en el análisis con fines de desarrollo y de caracterización de procesos de conformidad con los requisitos cGMP. VDS apoya el desarrollo de los productos de sus clientes, especialmente los procesos de producción y empaquetamiento.

El ASL ofrece apoyo analítico para el desarrollo y la implantación de procesos de producción y llenado, por ejemplo, mediante la medición de la humedad residual en los estudios de liofilización en desarrollo, a través de la determinación de la concentración de proteínas y su estabilidad en los estudios de desarrollo de mezclas o de bombeo o mediante el apoyo a los procesos de desarrollo de la higienización de salas blancas con nuestro "Centro de excelencia en la determinación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>" de ASL.



Dra. Alexandra Heussner

Directora de laboratorio  
Laboratorio de Ciencias Analíticas (ASL),  
Servicio de Desarrollo,  
Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG,  
Ravensburg (Alemania)



Dra. Melanie Zerulla-Wernitz

Jefa del Laboratorio de Ciencias Analíticas  
(ASL), Servicio de Desarrollo,  
Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG,  
Ravensburg (Alemania)

Vetter es uno de los especialistas líderes en el ámbito del llenado de fármacos parenterales, como los productos oftalmológicos; por tanto, una parte importante de las competencias de nuestro laboratorio pasan por el análisis de partículas subvisibles en nuestro "Centro de excelencia en la materia particulada" de ASL.

Además, promovemos la transferencia de los métodos analíticos de nuestros clientes tanto a Vetter como dentro de la empresa a través de estudios de viabilidad y de cualificación de laboratorio o de validación de procedimientos.

Por último, respaldamos la implantación en la totalidad de la empresa de procedimientos nuevos de análisis y tecnologías a fin de modernizar y actualizar de forma constante nuestros sistemas de análisis y ofrecer tecnologías de última generación para los nuevos productos.

### **Describa algunos de los problemas a los que se ha tenido que enfrentar.**

Los oligonucleótidos son un tipo incipiente de productos biofarmacéuticos que no cuentan con una estrategia de tramitación de última generación para conseguir la aprobación del producto en cuanto a las técnicas analíticas. Al ser una CDMO, Vetter necesita soluciones analíticas inteligentes para satisfacer las necesidades de muchos clientes con una gran variedad de productos diferentes. Tenemos que anticiparnos a los procedimientos o a los sistemas que con mayor probabilidad se convertirán en candidatos para satisfacer las necesidades de nuestros clientes en el futuro en cuanto al desarrollo y la producción comercial, de forma que podamos facilitar los datos analíticos esenciales para garantizar la seguridad del paciente y para cumplir con los requisitos reglamentarios dentro de unos plazos y una carga de trabajo razonables.

Otro de los problemas es que, en los entornos cGMP, el sistema analítico, la innovación en los procedimientos o las actualizaciones de los sistemas son muy exigentes en cuanto a las normativas y a menudo muy complejos técnicamente. Es necesario un enfoque integral que contenga especialistas en tecnología analítica, expertos en garantía de calidad y profesionales de IT. Puede ser muy complejo encontrar una solución que cumpla con los requisitos de integridad de datos y que ofrezca, al mismo tiempo, un uso práctico del sistema analítico sin que se pierdan las funciones necesarias. Nos esforzamos por anticiparnos a las necesidades que nuestros clientes puedan tener en el futuro, así como a las que pueda tener la propia Vetter, especialmente en el ámbito de la conformidad en entorno regulado, en el menor tiempo posible.

### **¿Cómo les ha ayudado el espectrofotómetro UV-vis Cary 3500 de Agilent a solucionar estos problemas?**

Uno de nuestros proyectos actuales busca optimizar los análisis de productos farmacéuticos con oligonucleótidos. Por ejemplo, las pruebas estándar de confirmación de la identidad (ID), como los procedimientos basados en HPLC o en UPLC no suelen confirmar correctamente la identidad de estos productos.

Existe una tendencia a utilizar la temperatura de fusión (Tm) en combinación con una determinación de la masa intacta, de forma que se combinen la secuencia y la masa para lograr una identificación inequívoca. Si bien se han revisado en profundidad diferentes técnicas analíticas, esta estrategia basada en la Tm se ha debatido en conferencias de especialistas y muchas empresas de desarrollo de oligonucleótidos y de producción de productos farmacéuticos la respaldan.

Para este tipo de enfoque, el sistema UV-vis Cary 3500 de Agilent ofrece una tecnología de última generación. La temperatura se puede establecer de forma precisa con el elemento Peltier integrado y se controla con las sondas que se encuentran en el interior de la cubeta. El diseño del instrumento con varias zonas y cuatro pares de cubetas permite la medición de las muestras y de las referencias en paralelo, con un máximo de cuatro valores de temperatura distintos.

### **¿Por qué utilizan el sistema UV-vis como prueba de identificación de oligonucleótidos?**

El objetivo principal de cualquier proceso de fabricación en el ámbito farmacéutico es garantizar que cada unidad del producto farmacológico contiene la cantidad correcta y la calidad del producto farmacológico correspondiente. Todo ello se logra mediante procesos de fabricación de gran calidad y con pruebas de control de calidad (CC).

Entre otras prácticas actuales de CC en las pruebas de identificación figuran algunas tecnologías con gran nivel de sofisticación, como la confirmación de la secuencia de novo mediante la secuenciación MS/MS o el análisis de la secuencia de fallo. En concreto, con los oligonucleótidos monocatenarios, la determinación de la masa intacta se puede combinar con una segunda técnica sensible a la secuencia, como el perfil de fragmentación con MS, la Tm o el análisis de resonancia magnética nuclear y compararlo con un estándar de referencia completamente caracterizado. En el caso de los oligonucleótidos bicatenarios, las pruebas de identificación se pueden incluso reducir a una determinación de la masa intacta junto con la confirmación de la cadena doble que se forma si las masas intactas de las cadenas simples se miden también antes del alineamiento.<sup>1</sup>

Aunque existen otras posibilidades, estamos convencidos de que la combinación de la medición de la Tm y la masa se convertirá en la estrategia analítica estándar para las pruebas de control de calidad de identificación en el futuro.

Todo ello resulta muy sólido tanto desde el punto de vista científico como desde la perspectiva normativa y de negocio; la implantación de sistemas de Tm basados en UV y de procedimientos en los laboratorios de control de calidad es relativamente sencilla y tiene un reducido coste de propiedad. Los métodos son menos complejos que otros enfoques, como la secuenciación MS/MS o la resonancia magnética nuclear, y siempre suele haber personal cualificado disponible al que se puede formar con rapidez para que puedan utilizar los nuevos instrumentos y procedimientos, en lugar de tener que contratar especialistas con un elevado grado de formación.

En estos instrumentos también se pueden llevar a cabo los métodos estándar UV-vis, por lo que se pueden integrar en el grupo instrumental que ya tenemos y ofrecerán un elevado nivel de capacidad de uso desde el principio. En Vetter, lo hemos implantado con éxito en ASL y en el laboratorio de control de calidad.

### ¿Cómo se utilizó la tecnología UV-vis mediante Cary 3500 en una prueba de identificación de oligonucleótidos?

Llevamos a cabo varios estudios para adquirir conocimientos en mayor profundidad sobre el instrumento y la aplicación en Tm. La investigación del rendimiento del instrumento con diferentes ajustes de parámetros dio lugar a un rendimiento muy sólido. La labor se debatió con público experto en la materia y se detalla en un documento técnico informativo publicado recientemente.<sup>2-4</sup>

En otro estudio, que buscaba determinar la sensibilidad de las mediciones de Tm para las pruebas de identificación, investigamos la especificidad del procedimiento con varias secuencias de oligonucleótidos. Las secuencias modelo de oligonucleótidos y las variantes se designaron, se sintetizaron y se analizaron; descubrimos que incluso un intercambio de una sola base o las deleciones o las inserciones de un solo nucleótido daban lugar a cambios significativos en la Tm medida de los dúplex de oligonucleótidos. La elevada especificidad general del método a los cambios sutiles en las secuencias de oligonucleótidos confirmó su idoneidad para las pruebas de identificación de oligonucleótidos en los entornos de control de calidad de productos farmacéuticos. El procedimiento es lo suficientemente sólido y sensible para cumplir con los requisitos internos, así como con aquellos que exigen los clientes de Vetter y las autoridades reguladoras.<sup>5</sup>

Estos estudios y otros que todavía están en curso han aumentado la experiencia de Vetter en el campo de los oligonucleótidos y de los análisis especiales.

### ¿Cuánto tiempo se tarda en hacer una medición? ¿Es complicado?

Un análisis de una muestra en un entorno GMP tarda menos de una hora, en función de los parámetros que se elijan. La velocidad de rampa de temperatura es crucial en el tiempo necesario. Entre nuestras opciones preferidas figura una velocidad de rampa de temperatura de 10 °C/min, que da como resultado una medición de 10 minutos.

El sistema UV-vis Cary 3500 de Agilent es muy fácil de utilizar. Cualquier técnico de laboratorio o investigador cualificado puede utilizar tanto el sistema como el procedimiento tras una breve formación.

### Describe su experiencia de trabajo con Agilent.

A la hora de elegir un instrumento para el análisis de la Tm en ASL y en el control de calidad, nos decantamos por Agilent y fuimos de los primeros usuarios del sistema UV-vis Cary 3500. Además, por lo que sabemos, fuimos los usuarios pioneros en el uso del software para entornos regulados que cumple con las pautas de conformidad de la FDA 21 CFR Parte 11.

Hemos tenido una experiencia muy positiva trabajando con Agilent a largo plazo.

Utilizamos varios instrumentos Agilent en el control de calidad, como los sistemas HPLC de Agilent, así como en ASL, que utiliza habitualmente el sistema ICP-MS serie 7800 de Agilent. Agilent ha sido un socio fiable y profesional en cuanto al mantenimiento y a las dudas; incluso con los problemas complicados, los técnicos de Agilent estaban disponibles con gran brevedad y nos facilitaron una asistencia integral.

### ¿Cómo cree que va a ser el futuro de esta tecnología?

Seguiremos estudiando el rendimiento de estas pruebas de identificación, a medida que surjan nuevas oportunidades. Queremos establecer un procedimiento de plataforma analítica y validarlo en función del conocimiento actual, que podría permitir una rápida implantación de una medición de identificación, concretamente para los nuevos productos o los nuevos clientes que no cuenten con un procedimiento analítico adecuado para la transferencia de métodos.

Este objetivo también engloba una actualización de sistema de nuestros instrumentos, que podría mejorar aún más la precisión del análisis de datos. Implantamos el sistema y lo cualificamos justo después de su introducción en el mercado a finales de 2019 y seguimos trabajando con la primera versión del software, que cuenta con ciertas funciones necesarias en los entornos regulados según 21 CFR Parte 11.

Ahora, el software actualizado ofrece nuevos cálculos incorporados para el análisis de datos, como la función de suavizado y mejoras en la función de derivada. Todas ellas se pueden guardar en un método y aplicarse de forma automática al final de la recogida de datos. Actualmente, estamos trabajando con Agilent para evaluar cómo se pueden cualificar estas funciones a nivel de sistema en lugar de en las validaciones de procedimiento específicas de los productos.

### Información sobre los autores

La Dra. Alexandra Heussner es una consumada científica interdisciplinaria y directora de laboratorio en el Servicio de desarrollo de Vetter en Ravensburg (Alemania). La doctora Heussner ha contribuido a nuestro conocimiento de la toxicología de las toxinas naturales y los fármacos y ha respaldado el desarrollo de método y la implantación mediante la integración de las ciencias biológicas, la tecnología de la información y la estadística. Recibió su doctorado en Ciencias Aplicadas en la Universidad de Sunderland (Reino Unido) y, tras años en la investigación académica, comenzó a trabajar en Vetter en 2016. Actualmente participa en la implantación, el desarrollo y la validación de procedimientos analíticos con su equipo en el Laboratorio de Ciencias Analíticas (ASL). Es miembro de la Asociación de Fármacos Parenterales (PDA, por sus siglas en inglés).

La Dra. Melanie Zerulla-Wernitz es la directora del Laboratorio de Ciencias Analíticas (ASL) donde lidera un equipo diverso de científicos en el que se combinan las ciencias naturales y las aplicadas. Tiene un doctorado en Ciencias Naturales de la Universidad de Konstanz (Alemania). Tras muchos años en el desarrollo preclínico, la doctora Zerulla-Wernitz empezó a trabajar en Vetter en 2004. Su carrera profesional comenzó en el Departamento de Control de Calidad, donde progresó hasta el Servicio de Desarrollo. Con una estancia de un año en el Servicio de Desarrollo de Vetter en Chicago, sigue liderando el Laboratorio de Ciencias Analíticas y trabaja ampliando sus servicios y la gama de productos analíticos.

### Referencias

1. Capaldi, D. *et al.* Strategies for Identity Testing of Therapeutic Oligonucleotide Drug Substances and Drug Products. *Nucleic Acid Therapeutics* **2020**, 30(5), 249-264. doi: 10.1089/nat.2020.0878.
2. Schuler, S. *et al.* Challenging Oligonucleotide ID Testing. *8th Annual Oligo Networking Event*, 23-25 de marzo de **2021**.
3. Schuler, S. *et al.* Emerging Therapeutic Oligonucleotides – ID Testing. *PDA UPS Conference*, 05-06 de octubre de **2021**.
4. Heussner A. H. Emerging Therapeutic Oligonucleotides – Analytical Challenges Accepted. *PDA UPS Conference* 05-06 de octubre de **2021**.
5. Heussner, A. H. *et al.* Investigating Tm Method Specificity Using Oligonucleotide Sequence Variants. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology* **2022**, (enviado).

[www.agilent.com/chem/cary3500uv-vis](http://www.agilent.com/chem/cary3500uv-vis)

RA44813.3348032407

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2022  
Publicado en EE. UU., 30 de septiembre de 2022  
5994-5144ES