

# CHIMICA ANALITICA

## ed

# ANALISI DEI MEDICINALI 1

### INTRODUZIONE

#### Che cos'è la Chimica Analitica?

E' l'arte e la scienza di separare, riconoscere le diverse sostanze e determinare le quantità relative dei vari costituenti di un campione.

#### Che cos'è la Chimica Analitica Oggi?

La chimica analitica è la branca della chimica che copre le attività volte all'ANALISI di SPECEAZIONE intesa come il processo di identificazione e/o quantificazione, di una o più singole specie chimiche presenti in un campione.

In questa definizione si individuano due termini importantissimi:

1. **ANALISI QUALITATIVA** → È il processo di identificazione degli elementi (analiti) (es: identificazione dell'acido acetilsalicilico nella compressa, oppure l'acido citrico in un vino) e dei composti presenti in un campione.
2. **ANALISI QUANTITATIVA** → E' il processo che serve a stabilire in termini numerici la quantità di uno o più sostanze presenti nel campione.

ANALITA è la specie o è la specie o sostanza chimica sostanza chimica che deve essere che deve essere identificata o quantificata (es. principio attivo in una forma es. principio attivo in una forma farmaceutica, clorofilla in una foglia ecc.).

La chimica analitica è spesso definita la **scienza centrale**. La natura interdisciplinare dell'analisi chimica la rende uno strumento cruciale in tutti i laboratori: Medici, Industriali...

Le aree di applicazione della chimica analitica riguardano la maggior parte delle attività umane:

- Controllo ambientale (acque, aria, suoli)
- Analisi chimico-fisiche (sangue, urine) (MEDICINA). Analisi Tossicologica: determinazione di elementi tossici in sistemi biologici (omicidi-avvelenamenti); analisi di pasticche utilizzate in discoteca.
- Controllo della qualità degli alimenti (AGRARIA). Alimenti: determinazione quantitativa dell'azoto nei cibi per stabilirne il contenuto proteico. Esempio: La melamina (2,4,6-triammino-1,3,5triazina) è un composto eterociclico fortemente azotato, importante come materia prima per la realizzazione di polimeri. L'utilizzo di melamina, si configura quale frode in commercio, per aumentare il tenore di azoto nella farina proteica e quindi simulare un più elevato contenuto di proteine.
- Analisi merceologiche
- Analisi farmacologiche
- Controllo di qualità nelle industrie manifatturiere
- Analisi legali (conformità limiti legali, contestazioni)
- Sviluppo di materiali tecnologici

In farmacia troverà larghissimo impiego in:

**CONTROLLO DI QUALITA'** → La maggior parte delle industrie manifatturiere comprese quelle Farmaceutiche richiedono una qualità uniforme del prodotto. Perciò sia la materia prima che il prodotto finito sono sottoposti ad analisi chimiche approfondite. Si vuole conoscere ad esempio:

- **Componenti di base:** devono essere ai livelli ottimali;
- **Impurezze** (es. contaminanti negli alimenti): non devono superare il limite massimo permesso dalla legge.

Nell'ambito farmaceutico nello specifico, trova un importantissimo impiego, perché dietro un farmaco ci sono molte ricerche, affinché quest'ultimo rispetti tali parametri:

1. **EFFICACIA** → Per efficacia di una preparazione farmaceutica si intende che siano previsti dei benefici dalla somministrazione e l'esistenza dei benefici attesi dalla sua somministrazione è stata dimostrata in una ampia popolazione di pazienti.
2. **SICUREZZA** → Per sicurezza di una preparazione farmaceutica si intende che alle dosi e nelle condizioni d'uso prescritte, i benefici attesi dalla sua somministrazione sono superiori ai rischi tossici (o, se si vuole, che i rischi della malattia sono superiori ai rischi della terapia).

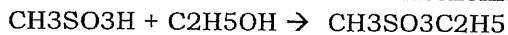
L'efficacia e la sicurezza vengono definiti dalla **normativa del settore farmaceutico**, cioè prima di immettere un farmaco ne è stata valutata l'efficacia attraverso anche la sperimentazione sull'uomo, prima su quello sano, poi su quello che presenta la patologia (questo richiede molti anni).

3. **QUALITA'** → Per qualità di una preparazione farmaceutica si intende che:
  - gli ingredienti che la costituiscono, in primis la sostanza attiva, devono essere effettivamente quelli dichiarati dal produttore (identità);
  - tali ingredienti non devono contenere impurezze in quantità superiori rispetto a standard prestabiliti (purezza);
  - le quantità di sostanza attiva contenute devono essere tali da assicurare l'effetto terapeutico richiesto (potenza).

La qualità del prodotto finito, è data dalla qualità del **principio attivo** e dalla qualità degli **eccipienti**. Ad esempio: nell'aspirina è presente l'acido acetilsalicilico che corrisponde al principio attivo e poi gli eccipienti che hanno la funzione di facilitare la formulazione, di veicolare il principio attivo in un certo modo e per definizione sono inerti anche se ciò non è sempre vero, soprattutto perché anche gli eccipienti sono sostanze chimiche e in quanto tali avranno sempre degli effetti. Un effetto più accentuato lo hanno quegli eccipienti che hanno un'attività antibatterica (vengono utilizzati ad esempio come conservanti). Devono quindi rispettare determinati requisiti in termini di **identità**, quindi devono essere quelli dichiarati, devono essere in **quantità giusta**, cioè deve corrispondere a quella dichiarata e inoltre **NON** devono essere presenti **impurezze**. Le impurezze sono presenti quasi inevitabilmente in un principio attivo, perché quest'ultimo non può essere puro al 100%, questo perché il principio attivo può derivare da un processo di sintesi, per sintetizzarlo significa che sono stati utilizzati dei materiali di partenza, che potrebbero non essere a loro volta completamente puri. Le impurezze quindi derivano sia da processi di produzione che di conservazione del farmaco, perché se non conservato in maniera corretta può degradare, può formare dei sottoprodotti indesiderati.

Un'impurezza si classifica Genotossica quando mostra di avere effetti potenzialmente dannosi a livello del DNA quando testata in specifici test di laboratorio (in vitro e/o in vivo).

Ad esempio per i medicinali la cui sintesi del p.a. prevede l'utilizzo di acido metansolfonico ed etanolo (es. acido Zoledronico) che può portare alla formazione dell'estere etilico dell'acido metansolfonico noto per avere caratteristiche genotossiche.



Viene richiesto di dimostrare l'assenza dell'acido metansolfonico e del suo estere.

L'applicant dovrà fornire ad es:

- Il metodo di analisi GC

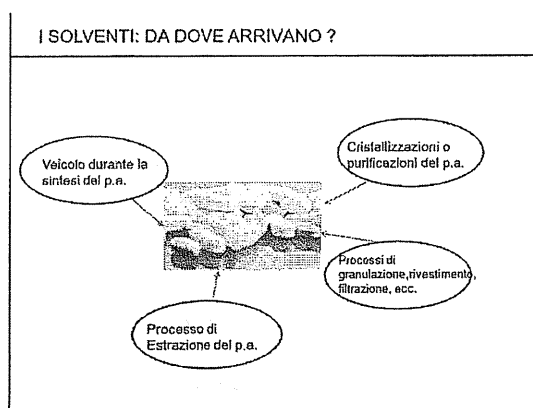
- tutto ciò che non è il principio attivo nel prod. finito

•Il valore di LOQ e i risultati derivanti dall'analisi di 15 lotti ottenuti durante lo sviluppo e durante la produzione al fine di dimostrare che non c'era carry over dell'acido metansulfonico utilizzato nella sintesi, né la formazione del suo estere.

•Effettuare uno studio di risk assessment dopo aver dimostrato di aver eliminato la contaminazione.

Quindi tra le impurezze troviamo:

- a. materiali di partenza: in molti casi, è prevedibile quale sostanza possa contaminare il prodotto finito, come ad esempio:
  1. NaCl proveniente dai giacimenti minerali può contenere tracce di  $\text{CaSO}_4$  e di  $\text{MgCl}_2$ .
  2. Molti principi attivi estratti da piante possono contenere tracce di acidi organici o di altri alcaloidi presenti o dello stesso solvente usato per l'estrazione.
- b. Produzione: è questa una fonte assai vasta di contaminazione, ad esempio:
  1. Presenza nel prodotto finito di sostanze usate nel processo di lavorazione, come ad esempio acidi, basi e solventi. Gran parte delle reazioni chimiche (nonostante si cerchi di effettuare le reazioni senza o con bassissima quantità di solvente, ossia solvent-free) avvengono con la presenza di solventi. Alcuni solventi utilizzati in laboratorio, non sono puri, come ad esempio alcol etilico ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) e metilico ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), contengono infatti piccole tracce di benzene, che è una sostanza tossica.
  2. Presenza di reagenti usati per rimuovere altre impurezze (ad esempio tracce di  $\text{Ba}^{++}$  usata per eliminare gli ioni  $\text{SO}_4^-$ );
  3. Presenza di ioni  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{CO}_3^-$  per uso di acque distillate ma non deionizzate;
  4. Contaminazioni particolari dovute a errori di lavorazione (un aumento di temperatura durante una reazione enzimatica o durante una reazione microbiologica può portare alla formazione di sottoprodotti tossici);
  5. Contaminazioni accidentali dovute a corpi estranei (plastica, metalli, vetro)
  6. Contaminazione microbiologica per difettoso funzionamento degli impianti di sterilizzazione;
  7. sottoprodotti che si generano durante la sintesi;
  8. intermedi di reazione;
  9. Oppure possono essere dovute a catalizzatori, come metalli pesanti.
- c. Conservazione: le contaminazioni possono derivare:
  1. dalla instabilità chimica del prodotto che nelle condizioni di immagazzinamento (umidità, presenza di luce, temperatura non idonea) si decompone;
  2. Dall'attacco del prodotto sul recipiente (plastica, vetro, tubi per creme) e cessione da parte di quest'ultimo di elementi a volte molto pericolosi e cancerogeni (propilene, polistirolo)



Qualità, efficacia e sicurezza dei medicinali di origine industriale vengono assicurate mediante due diverse autorizzazioni preventive necessarie alla loro immissione sul mercato:

1. **Autorizzazione all'immissione in commercio (AIC)**

2. **Autorizzazione alla produzione (AP)**

Le Autorità con cui le Aziende Farmaceutiche devono confrontarsi, in Italia, sono:

1. **Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA)**

2. **Ministero della Salute**

3. **Istituto Superiore di Sanità**

4. **Agenzia Europea per i Medicinali (EMA: European Medicinal Agency)** → Responsabile della valutazione scientifica delle domande finalizzate ad ottenere l'autorizzazione europea di immissione in commercio per i medicinali (procedura centralizzata).

L'agenzia italiana e europea si concentrano sulla produzione di intermedi altamente pericolosi, quali ad esempio composti genotossici (una sostanza si definisce tale quando mostra di avere effetti potenzialmente dannosi a livello del DNA). Non pochi sono i processi sintetici che portano o che richiedono come reattivo di base composti che possono essere genotossici, come ad esempio gli epossidi oppure etanolo. Un esempio è quello del farmaco Viracept.

[Qualsiasi esso sia il farmaco, cioè sia che esso sia preparato in farmacia (preparazione che può essere sia galenica che magistrale), oppure che sia un prodotto dell'industria farmaceutica, ossia un farmaco preconfezionato che può essere sia un generico o equivalente (farmaci per i quali è scaduto il brevetto per cui chiunque, fatte le dovute procedure), può produrre quel farmaco e metterne quindi in commercio la stessa formulazione ad un prezzo ridotto.]

La qualità deve quindi rispecchiare i requisiti della **FARMACOPEA**. Ci sono diverse farmacopee in vigore:

- **FARMACOPEA ITALIANA** (arrivata alla 12 esima edizione)
- **FARMACOPEE di tutti gli stati membri**
- **FARMACOPEA EUROPEA** (arriva all'ottava edizione)

Sono tutte farmacopee ufficiali.

Il ruolo della Farmacopea Europea è la promozione della salute pubblica mediante la messa a punto di norme comuni riconosciute che devono essere utilizzate dal personale sanitario e da chi è coinvolto con la qualità dei medicinali. Tali norme o specifiche debbono essere appropriate e costituire, per i pazienti e consumatori, la garanzia in materia di sicurezza d'uso dei medicinali. La loro esistenza:

- facilita la libera circolazione dei prodotti medicinali in Europa;
- assicura la qualità dei prodotti medicinali e dei loro componenti importati o esportati dall'Europa.

Le monografie e gli altri testi della Farmacopea Europea vengono elaborati in modo da rispondere alle esigenze:

- delle autorità regolatorie;
- chi è coinvolto nel controllo della qualità dei prodotti medicinali ed i loro componenti;
- dei produttori delle materie prime e dei prodotti medicinali.

La Farmacopea Europea è largamente usata a livello internazionale. È intenzione della Commissione lavorare sempre più a contatto con tutti gli utilizzatori della Farmacopea per poter meglio soddisfare alle loro esigenze e facilitare la loro collaborazione.

La Farmacopea Europea è coinvolta in un processo di armonizzazione con la Farmacopea Giapponese (JP) e la Farmacopea degli Stati Uniti (USP), in accordo con le attività già sviluppate dalla CONFERENZA INTERNAZIONALE sulla ARMONIZZAZIONE (ICH).

E' un **codice farmaceutico (normativo e di qualità)** cioè un insieme di disposizioni amministrative e tecniche rivolte a permettere il controllo della qualità dei medicinali, sostanze e preparati finali, mediante l'indicazione di:

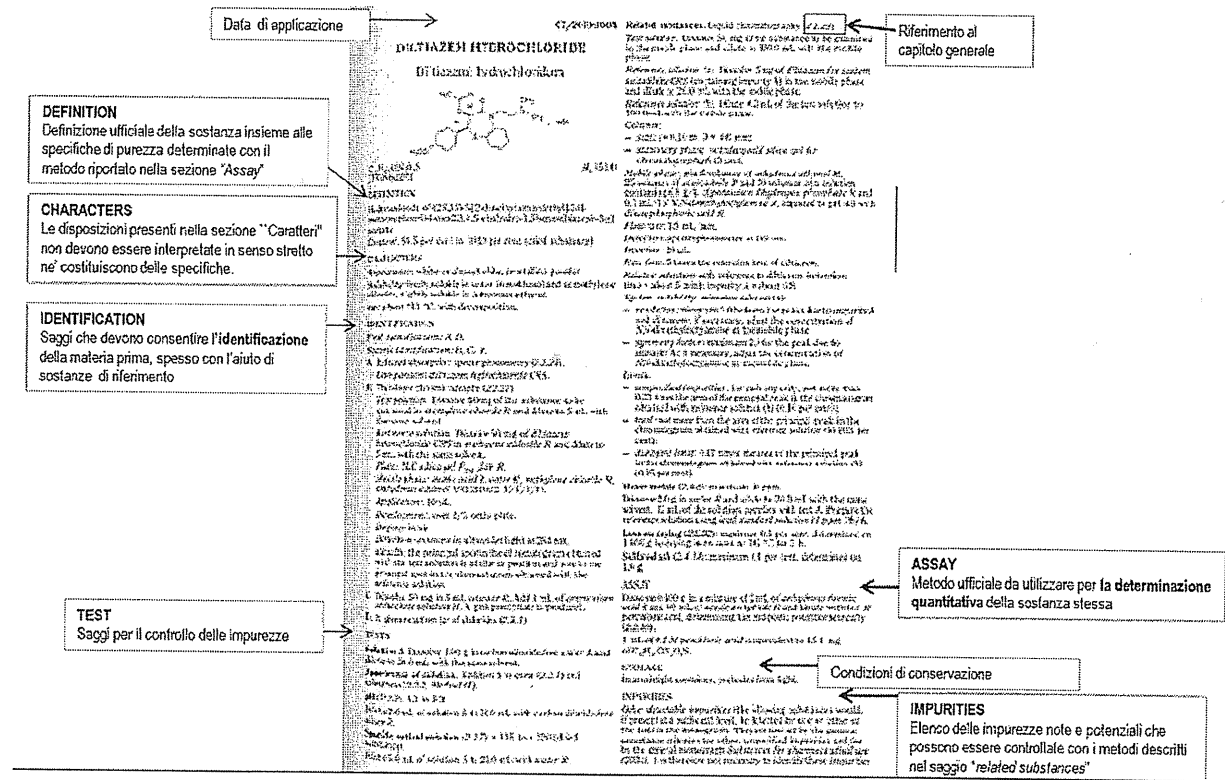
- metodiche di verifica analitica e tecnologica
- specifiche di qualità
- metodi di preparazione
- formulazione

Contiene una serie di tabelle che attengono alla legislazione farmaceutica, ad esempio:

1. Masse atomiche relative.
2. "Sostanze medicinali" di cui le farmacie debbono essere provviste obbligatoriamente.
3. Sostanze, le cui monografie sono presenti nella FU, da tenere in armadio chiuso a chiave.
4. Elenco dei prodotti che il farmacista non può vendere se non in seguito a presentazione di ricetta medica.
5. Elenco dei prodotti la cui vendita e' subordinata a presentazione di ricetta medica da rinnovare volta per volta e da ritirare dal farmacista.
6. Apparecchi ed utensili obbligatori in farmacia.
7. Elenco delle sostanze, loro sali e preparazioni ad azione stupefacente o psicotropa.
8. Dosi dei medicinali per l'adulto, oltre le quali il farmacista non può fare la spedizione, salvo il caso di dichiarazione speciale del medico.

Un prodotto è di qualità "Farmacopea" qualità "Farmacopea" quando è conforme a tutte le specifiche descritte nella conforme a tutte le specifiche descritte nella monografia.

La Farmacopea contiene inoltre dei capitoli di argomento generale, come le monografie, ossia una o più procedure analitiche che insieme con i limiti di accettabilità, definiscono qualitativamente (identificazione) e quantitativamente (limiti per le impurezze, contenuti del principio attivo ecc.) le caratteristiche della sostanza stessa o della preparazione.



- STRUTTURA
- FORMULA
- B.C.A.A.
- p. Mole
- DEFINIZIONE (def. assai)
- CARATTERI
- IDENTIFICAZIONE
- SAGGI (+) controllo delle impurezze
- Spettro IR x identificazione 100%
- analisi accurata impurezze
- HPLC

Nelle monografie quindi si trova quello che si deve fare per un principio attivo, ma ci sono monografie anche delle forme farmaceutiche.

Nella monografia c'è innanzitutto una **data**, che corrisponde alla data di quando il principio attivo è entrato in farmacopea, poi c'è il **nome in latino e inglese** del principio attivo e poi c'è la **struttura**. Dalla struttura è possibile intuire la quantità nonché il tipo di reazione che può effettuare. E' poi presente la **formula bruta** ed il **peso molecolare**, che è dato dalla somma dei pesi atomici. Il peso molecolare è fondamentale nei controlli perché permette di calcolare le moli, facendo grammi/PM. C'è poi una sezione denominata **definizione** che definisce ufficialmente la sostanza insieme alle specifiche di purezza che verranno determinate con i metodi riportati nella sezione **assay**. La sezione di assay ci dice ad esempio che il DILTIAZEM CLORIDRATO dovrà contenere non meno del 99,5% e non più del 102% di diltiazem. Viene preso in considerazione il 102% e non il 100% perché non c'è nessun metodo analitico a cui non è associata una incertezza e quindi ciò fa sì che il risultato finale non sia esattamente quello realmente presente nel campione ma potrà essere presente una lieve oscillazione. Per quantificare la quantità di diltiazem presente si dovrà applicare un **saggio volumetrico**, quindi è una reazione acido-base. Sono poi descritti i **caratteri** che deve avere questa sostanza, quindi da delle informazioni di tipo qualitativo es: polvere bianca, cristallina, solubile in... Poi c'è l'**identificazione** che è un processo molto importante che precede la quantificazione. Nella farmacopea sono presenti una prima ed una seconda identificazione. La prima identificazione (si può anche saltare) è più impegnativa e la si effettua quando ho ricevuto un certificato dal produttore che certifica quel determinato prodotto come un prodotto di farmacopea. Se non è certificato tale prodotto, bisogna effettuare sia la prima che la seconda identificazione. La prima identificazione è di tipo strumentale, si deve avere uno spettro che dovrà essere sovrapponibile a quello di un prodotto certificato. I **prodotti standard** sono soluzioni di cui sono esattamente note la composizione quali-quantitativa. Per verificare che una sostanza sia realmente, ad esempio, diltiazem cloridrato, è quello di avere del diltiazem già