

Importanza e scopi dell'analisi quali-quantitativa in campo farmaceutico

L'analisi chimica qualitativa ha come scopo **l'identificazione chimica dei componenti di un campione** ed è considerata propedeutica all'analisi chimica quantitativa che invece ha come scopo **la determinazione in termini numerici della quantità esatta di una sostanza o delle quantità relative dei componenti (esprese come percentuali) che costituiscono il campione da analizzare**. Per campione si intende la porzione del materiale che viene esaminata.

Il principio su cui si basa l'analisi quantitativa è quello di **stabilire una relazione matematica tra la quantità di sostanza presente e la caratteristica sperimentalmente sfruttata per determinare tale quantità** (ad esempio massa di composto precipitato, diverso valore di pH, potenziale redox, diversa quantità di radiazione elettromagnetica assorbita, ecc.).

Poiché ogni sostanza presenta composizione e caratteristiche strutturali proprie, è possibile mettere a punto metodi appositi per poterla identificare.

Tali metodi possono essere basati sulle caratteristiche fisiche della sostanza e quindi avvalersi di tecniche come la spettroscopia UV-Vis, saggio alla fiamma, ecc., oppure basarsi sulle caratteristiche chimiche della sostanza facendola reagire con opportuni reagenti e valutandone il comportamento (titolazione, precipitazione, saggi a umido, ecc.).

I metodi analitici permettono di separare i vari analiti presenti in un campione per precipitazione, estrazione e distillazione. Dopo la separazione i componenti vengono fatti reagire con specifici reagenti al fine di ottenere il loro riconoscimento (**analisi qualitativa**) mediante reazioni colorimetriche, dalla solubilità nei solventi, dall'attività ottica, dall'odore, in base al punto di ebollizione e di fusione, dall'indice di rifrazione. Le misure **quantitative** sfruttano invece l'*analisi gravimetrica* (determinando la massa dell'analita) o l'*analisi volumetrica* (titolazione) misurando il volume od il peso di un reagente standard richiesto per reagire completamente con l'analita (titolante).

I metodi strumentali sfruttano segnali analitici di vario tipo, ad es. conducibilità, potenziale elettrodico, assorbimento ed emissione di luce, fluorescenza, ecc.

Alcune applicazioni dell'analisi quali-quantitativa in campo farmaceutico

Analita	Matrice	Metodo analitico
Sostanze pure iscritte in Farmacopea	-	Titolazione Spettroscopia UV-Vis Analisi HPLC, GC
Principi attivi in forme farmaceutiche	Forma farmaceutica	Titolazione Spettroscopia UV-Vis Analisi HPLC, GC
Principi attivi e loro metaboliti in matrici biologiche complesse (studi ADME pre-clinici e clinici)	Plasma, urine, tessuti	Tecniche ifenate (LC-MS; GC-MS)

La Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana

La Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana (FU) è il testo normativo compilato da organismi statali di controllo costituito da un insieme di disposizioni tecniche e amministrative rivolte a permettere il controllo di qualità dei medicinali (sostanze e/o preparati finali). Essa descrive i requisiti di qualità delle sostanze ad uso farmaceutico, le caratteristiche che i medicinali preparati (farmaci galenici) debbono avere ed il loro metodo di preparazione, elencando la composizione qualitativa e quantitativa delle sostanze che lo compongono. Inoltre, indica i metodi di verifica analitica e tecnologica delle specifiche di qualità del farmaco.

La XII edizione della Farmacopea Ufficiale Italiana, edita dall'Istituto Poligrafico dello Stato, è entrata in vigore il 31 marzo del 2009. Questa nuova edizione sostituisce a tutti gli effetti il testo base ed il primo supplemento dell'XI edizione.

Il volume è articolato in **8 tabelle** che raccolgono prescrizioni con valore legale, caratteristiche e metodi di analisi e controllo di farmaci e formule. Sono presenti elenchi dei pesi atomici, delle sostanze medicinali obbligatorie (comprese quelle velenose da conservare in luogo sicuro), degli apparecchi e strumenti obbligatori e dei prodotti da vendere solo dietro prescrizione medica. Nella farmacopea è inclusa inoltre una nomenclatura completa dei composti farmaceutici con relative modalità di conservazione e di etichettatura.

La FU viene inoltre integrata dai testi della **VI edizione della Farmacopea Europea** (PhEur) (in vigore dal primo gennaio del 2008) al fine di armonizzare i testi delle principali farmacopee ufficiali degli stati europei e di individuare norme comuni riconosciute sulla qualità dei medicinali, per facilitare la libera circolazione dei prodotti medicinali in Europa ed assicurare la qualità di quelli importati.

L'Italia è uno dei paesi europei che accanto alla propria farmacopea, utilizza la farmacopea europea come farmacopea nazionale. Nelle etichette dei farmaci la sigla PE accanto al nome delle sostanze indica che la sostanza utilizzata risponde a tutte le specifiche di qualità richieste dalla farmacopea europea.

La PhEur è articolata in 2 volumi

Il primo riporta una *parte generale*, che comprende una prefazione, un'introduzione, l'elenco dei membri della commissione che si occupa di elaborare i testi, di approvarli e di pubblicarli e revisionarli, i capitoli generali e le monografie generali.

Il secondo volume riporta le *monografie specifiche delle sostanze* (prodotti chimici, organici, di sintesi o estrattivi, inorganici, vegetali, biotecnologici). Per ciascuna sostanza vengono descritte le caratteristiche chimiche e chimico-fisiche, le reazioni di identificazione, i saggi cui ciascuna sostanza deve rispondere, il metodo di determinazione quantitativa e in qualche caso anche le modalità di conservazione. Oltre ai principi attivi, in questa parte sono riportati anche i composti utilizzati come eccipienti o anche i prodotti utilizzati come materie prime per i contenitori o prodotti che comunque entrano a far parte di un medicamento. Non è prevista alcuna indicazione relativamente all'attività terapeutica, alla tossicità o al dosaggio in quanto *la farmacopea europea corrisponde ad un codice di qualità*.

Contenuto della Farmacopea Italiana XII Ed.

CAPITOLI GENERALI

1. Prescrizioni generali della Farmacopea Europea e della Farmacopea Italiana
2. Metodi di analisi (apparecchiature, metodi generali fisici e fisico-chimici, identificazione, saggi, saggi limite, saggi biologici, dosaggi biologici, metodi generali di farmacognosia, saggi e procedimenti tecnologici)
3. Materiali usati nella fabbricazione di contenitori e Contenitori
4. Reattivi
5. Argomenti generali

MONOGRAFIE

Monografie generali, forme farmaceutiche, materie prime, preparazioni farmaceutiche specifiche, preparazioni omeopatiche

TABELLE

1. Masse atomiche relative
2. Sostanze medicinali di cui le farmacie debbono essere obbligatoriamente fornite
3. Sostanze da tenere in armadio chiuso a chiave
4. Elenco dei prodotti da vendere solo dietro presentazione di ricetta medica
5. Elenco dei prodotti da vendere solo dietro presentazione di ricetta medica da rinnovare ogni volta
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 senza una dichiarazione specifica del medico

NORME DI BUONA PREPARAZIONE DEI MEDICINALI IN FARMACIA

NORME DI BUONA PREPARAZIONE DEI RADIOFARMACI PER MEDICINA NUCLEARE

Aggiornamento e correzione della Farmacopea Italiana XII Ed. (del 2 aprile 2010)

Nella gazzetta Ufficiale n. 77 del 2 aprile 2010 è riportato l'avviso di pubblicazione del decreto del Ministero della salute 26 febbraio 2010 contenente *Integrazioni e correzioni alla XII edizione della Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana*. Il decreto entra in vigore il giorno stesso della pubblicazione dell'avviso e cioè il 2 aprile 2010. Il testo integrale può essere scaricato e stampato dal sito: http://www.iss.it/binary/farc/cont/Integrazioni_e_Correzioni_alla_XII_ed_FU.pdf

Si riportano le principali modifiche introdotte, con particolare riferimento a quelle riguardanti la farmacia.

Modifiche ai "Capitoli Generali"

Pag. 672 - L'integrazione consiste nell'inserimento dei metodi per la determinazione dell'attività antisettica dei prodotti usati nella disinfezione della cute in ambito chirurgico.

Pag. 787 - Viene sostituito il capitolo 5.10 relativo all'*albero decisionale* per l'interpretazione dei criteri generali di accettazione per le impurezze non definite nelle monografie delle sostanze iscritte.

Pag. 1210 - La monografia della preparazione farmaceutica specifica (galenico officinale) *Mentolo polvere cutanea* è sostituita integralmente. Tra l'altro il principio attivo può ora essere il *levomentolo* oppure il *mentolo racemico*.

Modifiche alle Tabelle

Pag. 1342 - Tabella n. 2 - "Sostanze medicinali" di cui le farmacie debbono essere provviste obbligatoriamente:

E' eliminata la *Buprenorfina orale e p.i.*"

Le seguenti sostanze: *insulina umana p.i.*; *insulina umana bifasica p.i.* e *insulina umana zinco cristallina p.i.* sono sostituite da *insulina ad azione rapida*.

E' eliminato il *metadone cloridrato sciroppo*.

E' eliminata la *oxibuprocaina collirio*.

Pag. 1344 - Tabella n. 3 - Sostanze, le cui monografie sono presenti nella FU, da tenere in armadio chiuso a chiave:

Nelle "Note" al punto 2), l'obbligo di rispettare le varie norme di legge nella vendita e somministrazione di *sostanze tossiche e delle loro preparazioni galeniche* è stato esteso alle *sostanze incluse nella presente tabella o molto tossiche*.

Nelle "Note" al punto 3), l'obbligo di tenere in armadio chiuso a chiave separato da quello degli stupefacenti *le sostanze tossiche di cui alla presente tabella* viene riferito alle *sostanze incluse nella presente tabella, da quelle tossiche e molto tossiche*.

Pag. 1345 - Tabella n. 4 - Elenco dei prodotti che il farmacista non può vendere se non in seguito a presentazione di ricetta medica:

Sono corretti alcuni errori circa i riferimenti normativi nell'intestazione della tabella.

Le preparazioni per applicazione cutanea contenenti minoxidil (punto 9) in concentrazione fino al 2 per cento non richiedono più la ricetta medica. Permane però l'obbligo per le preparazioni magistrali che possono essere allestite solo in seguito a presentazione di ricetta.

Pag. 1347 - Tabella n. 5 - Elenco dei prodotti la cui vendita è subordinata a presentazione di ricetta medica da rinnovare volta per volta:

Nelle "Note" viene prevista la validità massima di trenta giorni per tutte le ricette non ripetibili, sostituendo il precedente limite di tre mesi che era, fino ad ora, applicabile alle preparazioni magistrali.

Pag. 1349 - Tabella n. 6 - Apparecchi ed utensili obbligatori in farmacia:

Al punto 1) relativo alle bilance vengono espresse in maniera più puntuale le caratteristiche della *sensibilità* e della *portata* che comunque rimangono immodificate rispetto a quelle finora vigenti.

Pag. 1350 - Tabella n. 7 - Elenco delle sostanze, loro sali e preparazioni ad azione stupefacente:

Le tabelle delle sostanze stupefacenti (tab. I e tab. II con relative sezz. da A a D) sono sostituite in base ai periodici provvedimenti ministeriali, presenti sul sito internet del Ministero della salute. La sez D della tabella II è qui riportata nel testo previgente la modifica di cui al D.M. 31 marzo 2010 e del quale si tratta nei comunicati U.T.I.Far relativi a *STUPEFACENTI* pubblicati sul sito in data 3 aprile 2010.

Pag. 1366 - Tabella n. 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:

Sono apportate alcune modifiche e correzioni relative, tra altre di portata minore, alle sostanze: *Ambroxolo cloridrato*, *Amitriptilina cloridrato*, *Becampicillina cloridrato*, *Benzocaina*, *Betametasona*, *Buprenorfina cloridrato*, *Idromorfone cloridrato*, *Econazolo*, *Diidrocodina*, *Prednisone*.

Di particolare rilievo appare, infine, l'integrazione introdotta nella sezione *Norme di Buona Preparazione dei Medicinali in Farmacia* con la quale viene precisato che *restano in vigore il Decreto Ministeriale 18 novembre 2003 e il Decreto Ministeriale 22 giugno 2005*. Si tratta dei due decreti, noti come *Norme di Buona Preparazione "semplificate"*, i quali, in seguito alla pubblicazione della XII edizione della Farmacopea Ufficiale, erano decaduti. Ora il Ministero ne ha disposto il ripristino della validità.

Come si legge la Farmacopea

Le **Prescrizioni Generali** si applicano a tutte le monografie.

Le **Monografie Generali** si applicano alle sostanze e preparazioni nell'ambito dello scopo riportato nella sezione Definizione della monografia generale stessa.

Le **Monografie delle Forme Farmaceutiche** si applicano a tutte le preparazioni del tipo in esse definite.

Le **Monografie di singole materie prime** sono un insieme di *specifiche* ottimali suddivise in più Sezioni. Per specifiche si intendono le procedure analitiche e i limiti di accettabilità che definiscono qualitativamente e quantitativamente le caratteristiche delle singole sostanze.

Pertanto il farmacista deve identificare le monografie di carattere generale che si applicano alle singole monografie di materie prime ed inoltre deve considerare che ogni preparazione specifica deve soddisfare ai requisiti definiti dalla pertinente monografia generale di forme farmaceutiche.

Monografie "vecchie" non ancora revisionate

- Metodi analitici superati (ad es. la TLC ha una sensibilità non adeguata ai limiti oggi richiesti per una qualità di farmacopea)
- Può non essere presente la sezione **Impurezze**.

Gli utilizzatori di queste monografie devono comunque far riferimento al capitolo "**Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico**" e alla monografia generale "**Sostanze per uso farmaceutico**".

Monografie nuove o recentemente revisionate

- Metodi analitici adeguati
- Applicazione ICH Q3A (R) a tutte le sostanze attive (API) "vecchie" e nuove (EurPh).

La sezione **Impurezze** è suddivisa in:

- **impurezze specificate**

Impurezze limitate con un criterio di accettazione; qualificate (sulla base della sperimentazione clinica) al limite indicato per la dose massima giornaliera autorizzata.

- **altre impurezze rivelabili**

Impurezze potenziali rivelabili con i metodi descritti nella monografia. Se presenti, devono esserlo in quantità non superiore alla soglia di identificazione; il produttore/utilizzatore ha la responsabilità di verificare se devono essere identificate/qualificate in funzione del loro contenuto, natura e dose massima giornaliera.

GRADO DI PUREZZA DEI PRINCIPI ATTIVI

Le impurezze descritte in una monografia di un principio attivo sono quelle che si trovano nei processi di sintesi nati al momento della stesura della monografia stessa.

A causa dell'attuale situazione socio-economica industriale (globalizzazione), si deve tener conto che le impurezze nelle materie prime derivanti da processi di fabbricazione diversi possono non essere le stesse e pertanto la monografia può non essere in grado di garantire la sicurezza d'uso di prodotti di qualsiasi origine.

Inoltre, nella produzione a livello industriale di un farmaco riveste particolare importanza l'ottimizzazione del processo di produzione di un principio attivo, in modo da avere una buona resa e soprattutto una buona riproducibilità del processo stesso.

Lo scale-up è quindi la messa a punto di tutti i parametri e della procedura da utilizzare nel processo di sintesi che permette di passare dalla produzione nell'ordine di milligrammi fino ad arrivare gradualmente a quantità maggiori, controllando come le condizioni di reazione variano al crescere delle quantità.

Ad un aumento delle quantità spesso corrispondono variazioni anche consistenti nelle condizioni di reazione, con il risultato che si abbiano tempi più lunghi per avere la formazione del prodotto desiderato o che si possano formare sottoprodotti non visibili nella reazione condotta "in piccolo".

Proprio a questo scopo, **un eccellente processo di sintesi richiede anche un'ottima analisi ed un adeguato controllo di qualità**, fondamentale per capire cosa avviene durante una reazione, durante la lavorazione e la purificazione e, una volta ottenuto il prodotto isolato, quale sia effettivamente il suo grado di purezza; in questo modo è possibile arrivare ad ottenere percentuali di purezza fino a quasi 100%.

Inoltre, l'industria farmaceutica è sottoposta ad una regolamentazione tra le più severe, poiché vi sono numerosissime linee guida da seguire per poter immettere sul mercato un prodotto per la salute; tra queste quelle correntemente utilizzate sono le **GMP (Good Manufacturing Practices)**, definite appunto per fornire un'evidenza documentata garantendo, con un alto grado di sicurezza, che uno specifico processo (o sottoprocesso) sia in grado di rendere in maniera ripetibile un prodotto conforme alle specifiche registrate ed agli standard di qualità predeterminati a priori.

Esistono delle direttive ben precise in merito alle quantità di sostanze "contaminanti" tollerate, per evitare reazioni avverse al farmaco. *La garanzia della purezza dei prodotti medicinali ha come caposaldo la determinazione delle impurezze i cui limiti sono imposti dalle farmacopee e dalle linee guida regolatorie.*

Le linee guida ad oggi esistenti definiscono in termini di percentuali i limiti massimi di tollerabilità delle impurezze, specificandoli caso per caso in base alla via di somministrazione.

FARMACOPEA UFFICIALE XI Edizione

NORME DI BUONA PREPARAZIONE DEI MEDICINALI IN FARMACIA *

* Per la loro integrale applicazione le norme sono in vigore dal 1 gennaio 2004

NBP

Metodi di analisi

2.1. APPARECCHIATURE

2.1.1. CONTAGOCCE

Il termine «gocce» si riferisce a gocce normali rilasciate da un contagocce normale come di seguito descritto. I contagocce normali (Figura 2.1.1.-1) sono costruiti con vetro praticamente incolore. L'estremità inferiore ha un orifizio circolare a bordo piano, ad angolo retto rispetto all'asse.

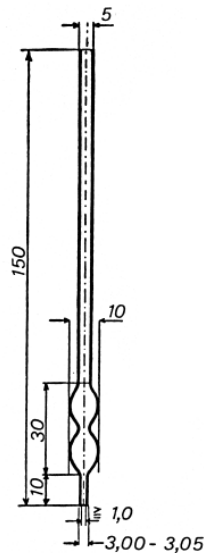


Figura 2.1.1.-1. - Contagocce normale
Dimensioni in millimetri

Possono essere usati altri contagocce, purché soddisfino al seguente saggio. Venti gocce di acqua R a 20 ± 1 °C che fluiscono liberamente dal contagocce, tenuto in posizione verticale, ad una velocità costante di una goccia al secondo, pesano 1000 ± 50 mg. Il contagocce deve essere accuratamente pulito prima dell'uso. Eseguire tre determinazioni per ciascun contagocce. Nessun risultato può deviare più del 5 per cento dalla media delle tre determinazioni.

2.1.2. TABELLA COMPARATIVA DELLA POROSITÀ DEI FILTRI A SETTO POROSO ⁽¹⁾

Tabella 2.1.2.-1.

Numero di porosità (Ph. Eur.) ⁽²⁾	Diametro massimo (in micrometri) dei fori	Germania	Francia	Regno Unito
1,6	inferiore a 1,6	5f	—	—
—	1 - 2,5	5	—	5
4	1,6 - 4	—	—	—
—	4 - 6	—	5	—
10	4 - 10	4f	—	4
16	10 - 16	4	4	—
40	16 - 40	3	3	3
—	40 - 50	—	—	2
100	40 - 100	2	2	—
—	100 - 120	—	—	1
160	100 - 160	1	1	—
—	150 - 200	0	0	—
250	160 - 250	—	—	—
—	200 - 500	—	00	—

Diametri in micrometri

Usi speciali

- < 2,5 Filtrazione batteriologica
- 4 - 10 Filtrazione ultra-fine, separazione di microrganismi di grosso diametro
- 10 - 40 Filtrazione analitica, filtrazione molto fine del mercurio, dispersione molto fine dei gas
- 40 - 100 Filtrazione fine, filtrazione del mercurio, dispersione fine dei gas
- 100 - 160 Filtrazione di materiale grossolano, dispersione e lavaggio dei gas, supporto per altri materiali filtranti
- 160 - 500 Filtrazione di materiali molto grossolani, dispersione e lavaggio dei gas.

(1) I limiti indicati sono solo approssimativi.

(2) La Farmacopea Europea ha adottato il sistema proposto dalla Organizzazione Internazionale per la Standardizzazione (ISO).

Metodi di analisi

2.2.6. INDICE DI RIFRAZIONE

L'indice di rifrazione di un mezzo rispetto all'aria è uguale al rapporto tra il seno dell'angolo di incidenza di un raggio luminoso nell'aria ed il seno dell'angolo di rifrazione del raggio rifratto nel mezzo considerato.

Se non è diversamente prescritto, l'indice di rifrazione viene determinato a $20 \pm 0,5$ °C con riferimento alla lunghezza d'onda della riga D del sodio ($\lambda = 589,3$ nm); il simbolo è n_D^{20} .

I rifrattometri normalmente determinano l'angolo limite. In questi apparecchi la parte essenziale è un prisma, ad indice di rifrazione conosciuto, messo a contatto con il liquido da esaminare.

Per tarare l'apparecchio usare i liquidi di riferimento elencati nella Tabella 2.2.6.-1. Il valore dell'indice di rifrazione di ciascun liquido di riferimento è riportato in etichetta.

Tabella 2.2.6.-1.

Liquido di riferimento	$\Delta n/\Delta t$ (coefficiente di temperatura)
Trimetilpentano SCR	- 0,00049
Toluene SCR	- 0,00056
Metilnaftalene SCR	- 0,00048

Quando si usa la luce bianca, il rifrattometro deve avere un sistema di compensazione. L'apparecchio dà letture esatte almeno alla terza cifra decimale e possiede un dispositivo che permette di lavorare alla temperatura prescritta. Il termometro è graduato ad intervalli di 0,5 °C o meno.

2.2.19. TITOLAZIONE AMPEROMETRICA

Nella titolazione amperometrica il punto di fine titolazione si determina seguendo la variazione dell'intensità di corrente misurata tra due elettrodi (un elettrodo indicatore e uno di riferimento, oppure due elettrodi indicatori) immersi nella soluzione in esame e mantenuti ad una differenza di potenziale costante, in funzione della quantità di titolante aggiunta.

Il potenziale dell'elettrodo indicatore è sufficiente ad assicurare una corrente di diffusione per la sostanza elettroattiva.

Apparecchio. L'apparecchio è costituito da una sorgente di corrente a voltaggio regolabile e un microamperometro ad alta sensibilità; il sistema di misura è costituito di solito da un elettrodo indicatore (per esempio un elettrodo di platino, o un elettrodo a goccia di mercurio, o un elettrodo a disco rotante o un elettrodo di carbone) e da un elettrodo di riferimento (per esempio un elettrodo a calomelano o un elettrodo ad argento-cloruro di argento).

Talvolta si usa un apparecchio a tre elettrodi: un elettrodo indicatore, un elettrodo di riferimento e un elettrodo ausiliario polarizzato.

Metodo. Aggiustare il potenziale dell'elettrodo indicatore al valore prescritto e riportare in un grafico l'intensità di corrente iniziale ed i valori ottenuti durante la titolazione in funzione della quantità di titolante aggiunto. Aggiungere il titolante in non meno di tre porzioni successive per un totale di circa l'80 per cento del volume teorico corrispondente al punto di equivalenza presunto. I tre valori devono trovarsi su una linea retta. Continuare ad aggiungere il titolante oltre il punto di equivalenza presunto in non meno di tre porzioni successive. I valori ottenuti devono trovarsi su una linea retta. Il punto di intersezione delle due rette rappresenta il punto di fine titolazione.

Nella titolazione amperometrica con due elettrodi indicatori l'intera curva di titolazione riportata sul grafico è usata per determinare il punto di fine titolazione.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Garofano essenza (1091)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

N-Acetilglucosammina. $C_8H_{15}NO_6$. (M_r 221,2). 1133600. [7512-17-6]. 2-(Acetilammino)-2-desossi-D-glucopiranosio.

p.f.: circa 202 °C.

Acetiltirosina estere etilico. $C_{13}H_{17}NO_4 \cdot H_2O$. (M_r 269,3). 1001200. [36546-50-6]. N-Acetil-L-tirosina estere etilico monoidrato. Etile (S)-2-acetammido-3-(4-idrossifenil)-propionato monoidrato.

Polvere cristallina bianca idonea per il dosaggio della chimotripsina.

$[\alpha]_D^{20}$: da + 21 a + 25, determinato su una soluzione 10 g/l in *alcool R*.

$A_{1cm}^{1\%}$: da 60 a 68, determinata a 278 nm in *alcool R*.

Acetiltirosina estere etilico 0,2 M. 1001201.

Disciogliere 0,54 g di *acetiltirosina estere etilico R* in *alcool R* e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente.

N-Acetilriptofano. $C_{13}H_{14}N_2O_3$. (M_r 246,3). 1102800. [1218-34-4]. Acido 2-acetilammino-3-(indol-3-il)propionico.

Polvere bianca o quasi bianca o cristalli incolori, moderatamente solubile in acqua. Si scioglie nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

p.f.: circa 205 °C.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 10,0 mg in una miscela di 10 volumi di *acetone R* e 90 volumi di *acqua R* e diluire a 100,0 ml con la stessa miscela di solventi. Esaminare come prescritto nella monografia *Triptofano (1272)* nel paragrafo "1,1'-Etilidenebis(triptofano) e altre sostanze correlate". L'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto non è inferiore al 99,0 per cento delle aree di tutti i picchi.

Acetone. 1000600. [67-64-1]. Vedere la monografia *Acetone (0872)*.

Acetone deuterato. $C_3^2H_6O$. (M_r 64,1). 1024900. [666-52-4]. Acetone- d_6 . (2H_6)-Acetone.

Il grado di deuterazione non è inferiore al 99,7 per cento.

Liquido limpido, incolore, miscibile con acqua, con dimetilformammide, con etanolo, con etere e con metanolo.

d_{20}^{20} : circa 0,87.

n_D^{20} : circa 1,357.

p.e.: circa 55 °C.

Acqua e deuterio ossido: Non più dello 0,1 per cento.

Acetonitrile. C_2H_3N . (M_r 41,05). 1000700. [75-05-8]. Metile cianuro. Etanonitrile.

Liquido, limpido, incolore, miscibile con acqua, con acetone, con etere e con metanolo.

d_{20}^{20} : circa 0,78.

n_D^{20} : circa 1,344.

Una soluzione 100 g/l è neutra al tornasole cartina.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 80 °C e 82 °C.

L'acetone R utilizzato in spettrofotometria soddisfa all'ulteriore requisito seguente:

Trasmittanza minima (2.2.25) 98 per cento da 255 nm a 420 nm, usando *acqua R* come bianco.

Acetonitrile R1. 1000702.

Soddisfa ai requisiti prescritti per l'*acetone R* e agli ulteriori requisiti seguenti:

Contiene non meno del 99,9 per cento di C_2H_3N .

Assorbanza (2.2.25). L'assorbanza a 200 nm, usando *acqua R* come liquido di compensazione, non è superiore a 0,10.

Acetonitrile per cromatografia. 1000701. Vedere *acetone R*.

L'acetone R utilizzato in cromatografia soddisfa agli ulteriori requisiti seguenti:

Trasmittanza minima (2.2.25). 98 per cento a 240 nm, usando *acqua R* come bianco.

Purezza minima (2.2.28). 99,8 per cento.

Acido acetico anidro. $C_2H_4O_2$. (M_r 60,1). 1000300. [64-19-7].

Contiene non meno del 99,6 per cento *m/m* di $C_2H_4O_2$.

Liquido incolore miscibile con acqua, o cristalli lamellari, lucenti, bianchi, solubilissimi in acqua, in alcool, in etere, in glicerolo 85 per cento e nella maggior parte degli oli grassi ed essenziali.

d_{20}^{20} : da 1,052 a 1,053.

p.e.: da 117 °C a 119 °C.

Una soluzione 100 g/l è fortemente acida (2.2.4).

Una soluzione 5 g/l neutralizzata con *ammoniaca diluita R2* dà la reazione caratteristica (b) degli acetati (2.3.1).

Punto di solidificazione (2.2.18). Non inferiore a 15,8 °C.

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,4 per cento. Se il contenuto di acqua è superiore allo 0,4 per cento deve essere compensato per aggiunta di una quantità calcolata di *anidride acetica R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Acido acetico deuterato. $C_2^2H_4O_2$. (M_r 64,1). 1101100. [1186-52-3]. Acido tetradeuteroacetico. Acido-*d* acetico- d_3 .

2.9. SAGGI E PROCEDIMENTI TECNOLOGICI

2.9.1. DISAGGREGAZIONE DELLE COMPRESSE E DELLE CAPSULE

Questo saggio di disaggregazione determina se le compresse o le capsule si disaggregano entro il tempo prescritto quando sono poste in un mezzo liquido nelle condizioni sperimentali di seguito indicate.

La disaggregazione si intende raggiunta quando:

- a) nessun residuo rimane sulla rete del cestello, o
- b) se c'è un residuo, è costituito da una massa molle, senza nucleo palpabile, duro, non inumidito, o
- c) rimangono solo frammenti del rivestimento (compresse), o solo frammenti dell'involucro (capsule) sulla rete del cestello; se si è usato un disco (capsule), frammenti dell'involucro possono aderire alla superficie inferiore del disco.

Applicare uno dei seguenti metodi come appropriato.

SAGGIO A - CAPSULE E COMPRESSE DI DIMENSIONE NORMALE

Apparecchiatura. La parte principale dell'apparecchio (vedi Figura 2.9.1.-1) è costituita da un sistema rigido a cestello che sostiene sei tubi cilindrici in vetro lunghi $77,5 \pm 2,5$ mm, del diametro interno di 21,5 mm, con pareti dello spessore di circa 2 mm. Ciascun tubo è dotato di un disco cilindrico del diametro di $20,7 \pm 0,15$ mm e dello spessore di $9,5 \pm 0,15$ mm, realizzato in plastica trasparente con densità relativa di 1,18-1,20. Ciascun disco ha cinque fori del diametro di 2 mm, uno al centro e gli altri quattro disposti regolarmente su un cerchio del raggio di 6 mm dal centro del disco. Sulla superficie laterale del disco, quattro scanalature equidistanti sono tagliate in modo che sulla superficie superiore del disco siano 9,5 mm di larghezza e 2,55 mm di profondità e nella parte inferiore 1,6 mm quadrati. I tubi sono tenuti verticali da due dischi di plastica trasparente, separati e sovrapposti, di 90 mm di diametro e 6 mm di spessore, con sei fori. I fori sono equidistanti dal centro del disco ed equamente distanziati tra di loro. Sotto il disco inferiore è fissata una rete metallica costituita da fili di acciaio inossidabile del diametro di 0,635 mm e con apertura delle maglie di 2,00 mm. I dischi sono tenuti rigidamente in posizione, ad una distanza di 77,5 mm, da barre metalliche verticali situate nella parte periferica; una barra metallica è anche fissata al centro del disco superiore per permettere di collegare il cestello ad un dispositivo meccanico

in grado di alzarlo e abbassarlo in modo uniforme ad una frequenza costante compresa tra 28 e 32 cicli per minuto per un'ampiezza di 50-60 mm.

Il sistema è sospeso nel liquido indicato e in un adatto recipiente, preferibilmente un becher da un litro. Il volume del liquido è tale che, quando il cestello è nella posizione più alta, la rete è almeno 15 mm sotto la superficie del liquido e, quando è nella posizione più bassa, la rete è almeno 25 mm sopra la base del becher e le estremità superiori aperte dei tubi rimangono sopra la superficie del liquido. Un opportuno termostato mantiene la temperatura del liquido a 36-38 °C.

Gli elementi meccanici descritti possono subire modifiche purché rimangano inalterate le caratteristiche descritte dei tubi di vetro e della rete.

Metodo. Introdurre in ciascuno dei sei tubi una compressa o una capsula e, se indicato, aggiungere un disco; sospendere il sistema nel becher contenente il liquido indicato. Mettere in funzione l'apparecchio e, trascorso il tempo prescritto, sollevare il cestello e osservare lo stato delle compresse o delle capsule. Perché il saggio sia considerato positivo, tutte le compresse o le capsule devono essersi disaggregate.

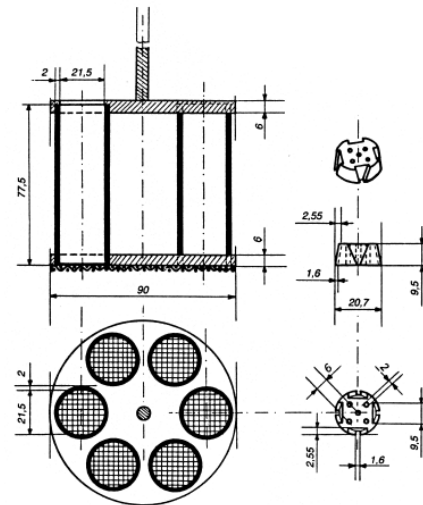


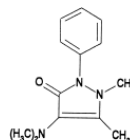
Figura 2.9.1-1
Dimensioni in millimetri

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

AMINOFENAZONE

Aminophenazonum



$C_{13}H_{17}N_3O$

M_r 231,3

DEFINIZIONE

L'aminofenazone contiene non meno del 99,0 per cento di 4-dimetilammino-1,5-dimetil-2-fenil-pirazolin-3-one, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, solubile in acqua e in etere, molto solubile in alcool e in cloroformio.

IDENTIFICAZIONE

- Punto di fusione (2.2.14): da 107 °C a 109 °C.
- Disciogliere 50 mg in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere 0,5 ml di *acido solforico diluito R* e 0,1 ml di *sodio nitrato soluzione R*. Si sviluppa una colorazione blu-violetta instabile.
- A 1 ml della soluzione S (vedi Saggi) aggiungere 5 ml di *argento nitrato 0,1 M*. La soluzione è violetta e, dopo alcuni minuti, si ottiene un precipitato grigiastro.

SAGGI

Soluzione S. Disciogliere 2,5 g in *acqua R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1) ed incolora (*Metodo II*, 2.2.2).

pH (2.2.3). Il pH della soluzione S è compreso tra 7,5 e 9,0.

Sostanze facilmente carbonizzabili. Disciogliere 0,5 g in 5 ml di *acido solforico R*. La soluzione non è più intensamente colorata della soluzione di riferimento GB₆ (*Metodo II*, 2.2.2).

Fenazone. Scaldare a b.m., evaporando fino a secco, circa 20 mg della sostanza in esame con 0,15 ml di *dimetilaminobenzaldeide soluzione R2*. Non si sviluppa una colorazione rossa prima di 10 min.

Solfati (2.4.13). 15 ml della soluzione S soddisfano al saggio limite per i solfati (200 ppm).

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore all'1,0 per cento, determinata su 1,000 g per essiccamento nel vuoto a 80 °C per 4 h.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 2,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,200 g in 25 ml di *acido acetico anidro R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M*, usando come indicatore 0,5 ml di *cristal violetto soluzione R*.

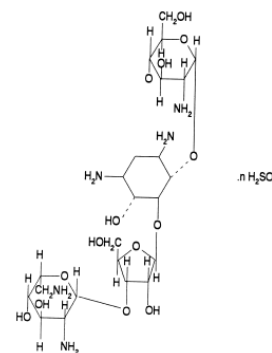
1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 23,13 mg di $C_{13}H_{17}N_3O$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

AMINOSIDINA SOLFATO

Aminosidinum sulfuricum



$C_{23}H_{45}N_5O_{14} \cdot nH_2SO_4$

M_r della base 615,6

DEFINIZIONE

L'aminosidina solfato è una miscela di solfati di una base organica ad azione antibatterica prodotta per fermentazione dello *Streptomyces chrestomycetus*. Il sale di normale produzione corrisponde alla formula