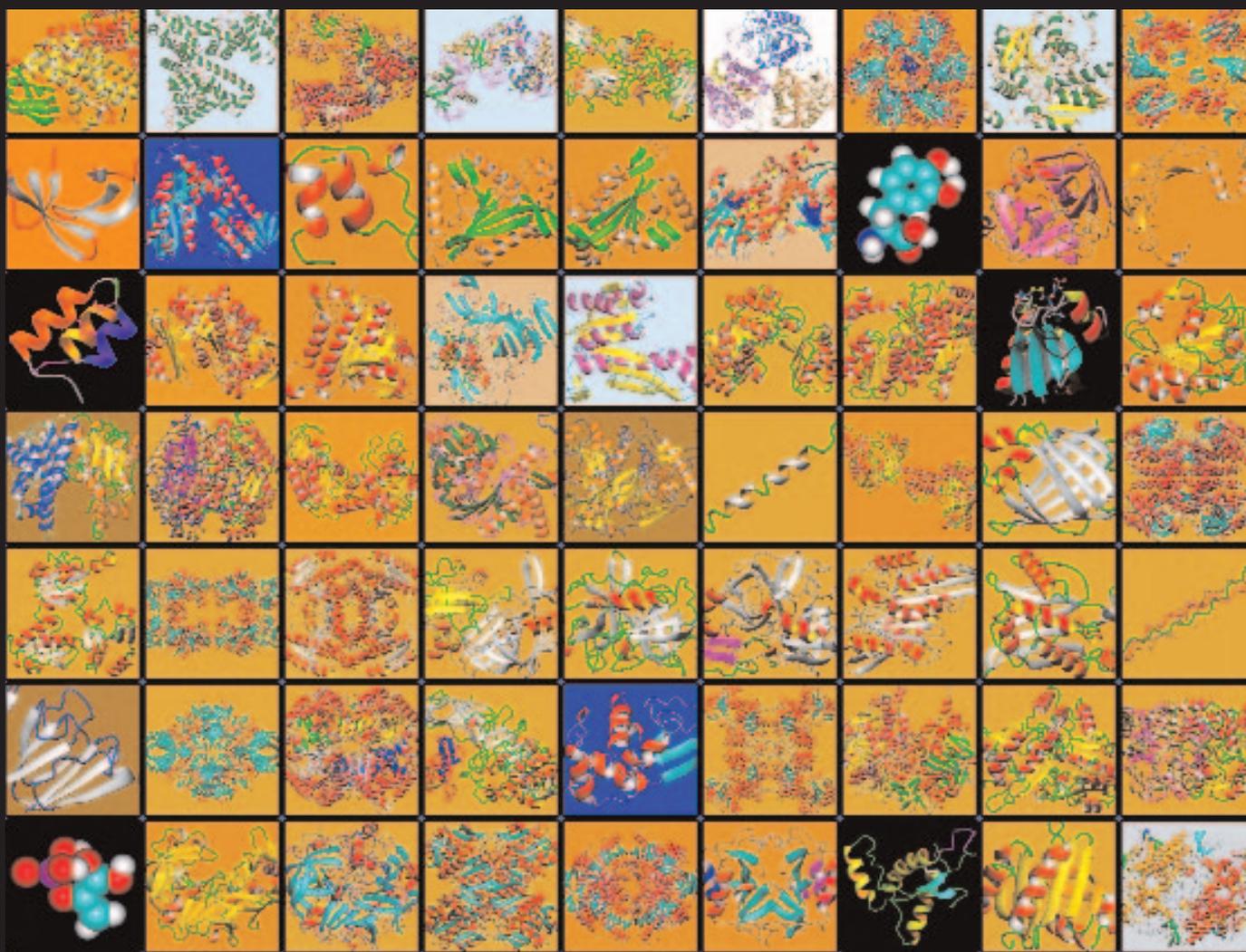


È TUTTA QUESTIONE DI METODICHE



In campo farmaceutico risulta quanto mai utile che il reparto produttivo venga supportato da un laboratorio, in grado di fornire le indicazioni e i suggerimenti richiesti in tempi decisamente brevi.

Allo scopo, un tipico imperativo categorico è stato ed è quello di dar vita a metodiche analitiche con strumentazioni capaci di coniugare velocità, sensibilità e affidabilità del dato. A tali

necessità soddisfa la Near Infrared Spectroscopy, impiegata in questo settore, quale mezzo per riconoscere le materie prime.

In tale contesto specifico, merita particolare attenzione un accessorio, che consente l'analisi, in automatico e senza dover preparare il campione, di polveri in vial e compresse. Di questo autocampionatore e di altre tecnologie, sofisticate quanto auspi-

cate dal mercato, vengono forniti utili approfondimenti nelle pagine a seguire. A cominciare dai metodi di Comparative Protein Modeling ai quali si fa ricorso per generare strutture tridimensionali di proteine di cui è nota soltanto la sequenza primaria e che si basano sull'osservazione che un'alta similarità di sequenza si riflette generalmente in un'elevata similarità strutturale.

di Maria Silvia Allegri e Annamaria Cavalleri
FT-IR Line Leader e Application Support Specialist - PerkinElmer Italia

Riconoscere e quantificare il principio attivo

L'approccio tecnologico FT-NIR fornisce una risposta analitica immediata.
Un esempio? La determinazione dell'uniformità di contenuto delle compresse



Sempre più spesso l'industria farmaceutica chiede al laboratorio di "seguire" la produzione utilizzando tecniche che possano dare risposte in tempi molto brevi. Si è cercato quindi, in questi anni, di sviluppare metodiche analitiche con strumentazioni che abbinassero velocità, sensibilità e affidabilità del dato analitico. La Near Infrared Spectroscopy (NIR o NIRS), introdotta circa venti anni fa nel segmento mangimistico e alimentare per la determinazione quantitativa di acqua nelle farine, ha trovato ampia applicazione nel settore farmaceutico per dare una risposta a queste esigenze. Numerose soluzioni strumentali e innovazioni tecnologiche sono state introdotte: fibre ottiche, accessori per l'analisi diretta di polveri, granuli, liquidi direttamente nella confezione, nonché potenti software chemiometrici. L'industria farmaceutica ha impiegato il NIR come strumento per il riconoscimento di materie prime: il sistema, accessorato con fibre ottiche, può essere installato in magazzino per il controllo fusto per fusto, come richiesto dagli enti di controllo, quali FDA, ecc.

La **PerkinElmer** propone con FT-NIR Spectrum One NTS una soluzione innovativa in questo campo: a un banco ottico a Trasformata di Fourier si abbina un'elevata gamma di accessori e la possibilità di poter utilizzare potenti algoritmi chemiometrici sia qualitativi che quantitativi, quali SIMCA, Compare, PCR, PLS1 e PLS2.

Tra gli accessori di più recente introduzione è da annoverare il Tablet Autosampler (figura 1), che permette di analizzare in modo automatico e senza preparazione del campione, polveri in vial e compresse. In questo articolo vengono descritte alcune tipiche applicazioni, che forniscono la misura delle potenzialità analitiche di tale moderna strumentazione.

Il mix sistema NIR-autocampionatore

Tablet Autosampler è un autocampionatore dotato di una sfera di integrazione rivestita da materiale completamente

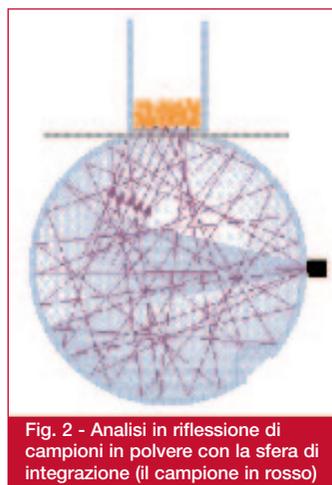
riflettente Spectralon™, nel cui interno è posizionato un detector InGaAs ad alta linearità e velocità di risposta. Un secondo detector InGaAs "esterno" consente di ottenere lo spettro della compressa in trasmissione.

L'accessorio, quindi, ha la possibilità di lavorare in 3 modi diversi:

- analisi in riflessione di campioni in polvere sfruttando la tecnica della riflettanza diffusa: il sistema attiva automaticamente il detector interno InGaAs e può operare nell'intervallo di analisi da 10.000 a 4.000 cm^{-1} (figura 2).
- Analisi in riflessione di compresse, operando in riflettanza diffusa come nel punto precedente.

La possibilità di poter facilmente realizzare un supporto in resina, sagomato sulla forma della compressa, permette un impiego "universale" dell'autocampionatore (figura 3).

- Analisi in trasmissione di compresse: la radiazione NIR proveniente dalla parte inferiore dell'accessorio attraverso



sa la compressa e la componente di trasmissione diffusa viene acquisita e letta dal secondo detector InGaAS, posto sopra il piatto dell'autocampionatore e operante nell'intervallo da 12.000 a 6.000 cm^{-1} . I dati acquisiti dal sistema NIR vengono elaborati con il software Spectrum Quant+, che consente di estrapolare dall'intero spettro le informazioni utili per determinare quantitativamente il componente o i componenti di interesse.

Il suddetto programma è un potente software di analisi quantitativa chemiometrica, sviluppato per l'analisi spettroscopica multicomponente.

L'approccio utilizzato da Spectrum Quant+ è valido sia per l'analisi di miscele sia per la valutazione di proprietà fisiche di materiali, quali per esempio il numero di ottano nelle benzine, la densità del polietilene e la viscosità del PET. Il software permette in pratica di determinare qualsiasi caratteristica di un campione che provochi una variazione del suo spettro, anche se piccola. Si ricorda che i metodi tradizionali per

l'analisi quantitativa all'infrarosso richiedono la presenza nello spettro di un picco "isolato" per ogni componente in esame, di intensità proporzionale alla sua concentrazione, nonché la completa conoscenza delle sostanze presenti nel campione.

Spectrum Quant+ non risente di queste limitazioni e ha permesso l'estensione dell'analisi quantitativa in infrarosso a settori praticamente impensabili fino a pochi anni fa (un recente esempio, la sua utilizzazione nel settore vinicolo).

Il programma utilizza un approccio chemiometrico alla quantitativa, permettendo la scelta tra tre algoritmi di calibrazione: PCR+, PLS1 e PLS2. PCR+ è

una forma avanzata di analisi di regressione dei componenti principali.

PLS1 e PLS2 sono forme di regressione ai minimi quadrati, rispettivamente a singolo componente o multicomponente. Questi algoritmi stabiliscono correlazioni, per ogni componente o proprietà di interesse, tra gli spettri di un set di calibrazione e i corrispondenti valori degli standard. Tali correlazioni saranno poi utilizzate per l'analisi dei campioni inco-

gniti. È importante sottolineare che viene impiegato il maggior numero possibile di informazioni ottenibile dagli spettri, in modo da poter disporre di metodiche analitiche "robuste" e affidabili. Scopo di questo articolo è dimostrare le potenzialità di un sistema FT-NIR per il controllo qualitativo e quantitativo di compresse farmaceutiche.

Le analisi sono state eseguite utilizzando lo spettrofotometro PerkinElmer Spectrum ONE NTS con accessorio Tablet Autosampler e software di gestione e rielaborazione AssureIDTM, che consente di eseguire l'analisi qualitativa e quantitativa, conforme alla normativa 21 CFR p11 della FDA.

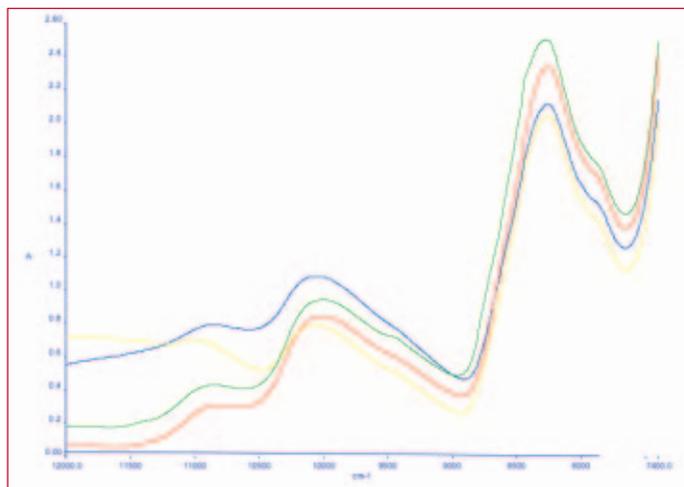


Fig. 4 - Spettri delle compresse a titolo diverso, acquisiti con Tablet Autosampler in trasmissione

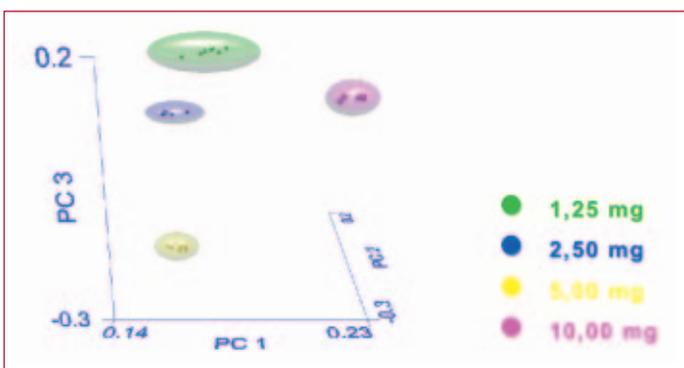


Fig. 5 - Rappresentazione 3D della distribuzione delle classi a diversa concentrazione di principio attivo

Esempio 1: uniformità di contenuto quali-quantitativo

In questo studio si è voluto dimostrare la notevole capacità di elaborazione matematica dell'algoritmo SIMCA (Soft Independent Cluster Analysis), che fa parte del pacchetto software ed è utilizzato per la classificazione dei materiali. I campioni sottoposti all'analisi erano compresse con identica formulazione, ma contenenti quantità diverse di principio attivo. Predisponendo un set di standard (circa otto per famiglia) e un set per la validazione, si è accertato che il sistema riesce a distinguere facilmente le quattro famiglie di compresse contenenti quantità diverse di principio attivo (figure 4 e 5).

La validazione del metodo con quattro campioni (**tabella 1**), estranei al set di standard, fornisce un'ulteriore conferma della validità e robustezza del metodo. Il secondo passaggio è stato affrontare l'analisi quantitativa del principio attivo su queste compresse.

I valori di concentrazione effettivi sono stati ottenuti mediante analisi HPLC (**tabella 2**): Concentrazioni del principio attivo provenienti dall'analisi HPLC. Vengono evidenziati i campioni che verranno impiegati in fase di predizione, considerati cioè come campioni incogniti).

Questi valori sono stati utilizzati come standard di calibrazione e inseriti nel programma chemiometrico Quant+.

Il software estrapola, da queste informazioni e dallo spettro completo, i fattori con cui poter ricostruire la proprietà in esame (in tal caso il titolo del principio attivo). Nella tabella 3 è riportato il risultato della calibrazione.



Fig. 6 - Particolare del rivelatore esterno InGaAs operante in trasmissione (in primo piano la compressa e il suo adattatore che viene modellato sul campione)

Tabella 1 - Report di validazione. Ogni compressa incognita è stata riconosciuta

Results:					
	Specified Material	Identified Material	Result	Specified Material Total Distance Ratio	Specified Material Distance Ratio Limit
1	1.25 mg	1.25 mg	Passed	0.3273	1.0000
2	2.50 mg	2.50 mg	Passed	0.4971	1.0000
3	5.00 mg	5.00 mg	Passed	0.5128	1.0000
4	10.00 mg	10.00 mg	Passed	0.4167	1.0000

Tabella 2 - Concentrazioni del principio attivo provenienti dall'analisi HPLC. Vengono evidenziati i campioni che verranno impiegati in fase di predizione, considerati cioè come campioni incogniti

Lotto 1 1,25 mg		Lotto 2 2,50 mg		Lotto 3 5,00 mg	
N° cpr	Mg/cpr	N° cpr	mg/cpr	N° cpr	mg/cpr
1	1,26090	1	2,51197	1	5,01940
2	1,25729	2	2,48714	2	5,05804
3	1,36635	3	2,52609	3	5,07085
4	1,23562	4	2,51127	4	5,12320
5	1,28910	5	2,62948	5	4,93764
6	1,30453	6	2,47867	6	5,18089
7	1,23526	7	2,54080	7	5,03411
8	1,24051	8	2,54099	8	5,12330
9	1,27558	9	2,49845	9	4,94244
10	1,22711	10	2,43472	10	5,06271
Media 1,27		Media 2,52		Media 5,06	
RSD 3,34		RSD 2,03		RSD 1,53	

Tabella 3 - Regression summary: 1,25 mg 2,50 mg 5,00 mg

Property	No. of LV	% Variance	SEE	SEP	Mean value
Pr. attivo	3	99.93	0.04328	0.04747	2.947

- Numero di LV: numero di fattori necessari alla costruzione del modello.
- %Variance: indice della capacità del modello di riprodurre la proprietà che si sta analizzando: tanto più il valore è prossimo a 100, tanto meglio il modello descrive la proprietà indagata.
- SEE (Standard Error of Estimate): indice della capacità descrittiva del modello.
- SEP (Standard Error of Prediction): indice della capacità predittiva del modello, calcolata rispetto al valor medio.
- Mean value: valor medio.

ANALISI DI CAMPIONI INCOGNITI

CAMPIONE	Valore Nominale	Valore Calcolato	-	Errore %
Lotto 1,25 mg	1,26090	1,26100	0,00010	0,01
Lotto 2,50 mg	2,51197	2,55500	0,04300	1,70
Lotto 5,00 mg	5,01940	5,05300	0,03360	0,67

Tabella 4 - Concentrazioni del principio attivo ottenute dall'analisi HPLC. Vengono evidenziati i campioni che saranno impiegati in fase di predizione. (% di principio attivo in compresse da 250 mg)

N° cpr	%	N° cpr	%	N° cpr	%
1	98,957	16	98,123	31	98,811
2	96,952	17	95,347	32	97,688
3	97,270	18	94,994	33	97,962
4	95,766	19	98,260	34	98,181
5	97,081	20	97,714	35	98,953
6	97,994	21	96,558	36	98,425
7	97,385	22	95,973	37	98,877
8	97,194	23	98,004	38	99,363
9	96,561	24	97,736	39	96,104
10	96,303	25	97,351	40	95,696
11	99,163	26	96,626	41	95,917
12	97,213	27	99,761	42	96,732
13	99,055	28	99,182	43	97,994
14	97,960	29	98,747	44	94,742
15	98,927	30	96,628	45	100,418

Fig. 7 - Retta di validazione "leave one out" degli standard: in evidenza la qualità degli standard e la robustezza del metodo

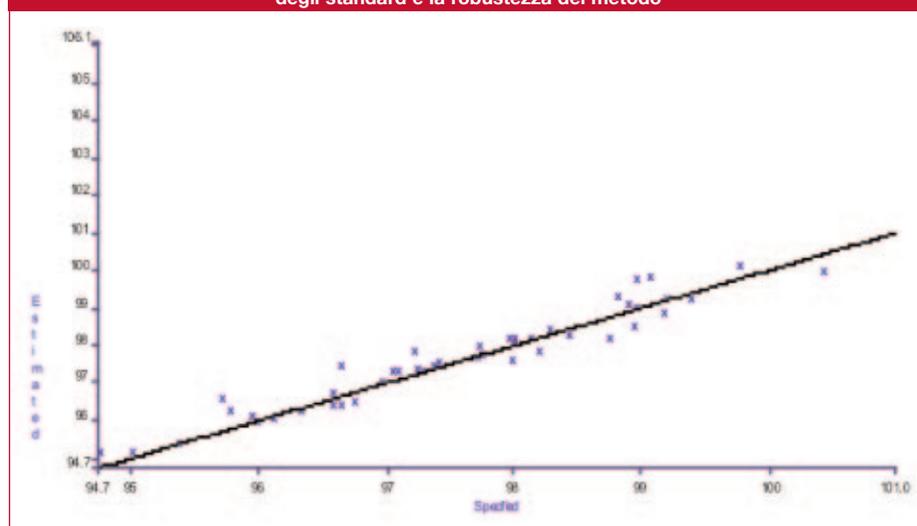


Tabella 5 - Regression summary: Serie B

Property TITOLO	No. of LV's 6	% Variance 93.45	SEE 0.3657	SEP 0.6216	Mean value 97.55
PREDIZIONE DEI CAMPIONI N. 10-19					
CAMPIONE	Valore Nominale	Valore Calcolato	-	Errore %	
10	96,303	95,940	0,363	0,38	
19	98,260	98,340	0,080	0,08	

Esempio 2 - uniformità di contenuto quantitativo

In questo esempio si ricorre all'FT-NIR per il Controllo Qualità quantitativo. La compressa, di forma ellittica, poteva non risultare omogenea utilizzando il supporto standard circolare dell'auto-campionatore. Grazie però alla possibilità di sagomare il porta compresse con una maschera di resina intorno al campione (figura 6), è stato possibile ottenere risultati ottimali. Campioni di lotti reali vengono analizzati con tecnica HPLC e sottoposti quindi all'esame FT-NIR: 43 campioni sono utilizzati come standard per l'analisi chemiometrica quantitativa, 2 campioni sono analizzati come campioni incogniti. Nella tabella 4 si possono leggere i risultati di calibrazione e di predizione. Il software chemiometrico Quant+ può applicare il controllo "Leave one out" o "Leave one more" per valutare la bontà del valore degli standard o degli spettri acquisiti. Con la rappresentazione grafica riportata in figura 7, si ha l'immediata visione della qualità degli standard e della robustezza del metodo. Gli esempi qui riportati dimostrano le potenzialità della moderna tecnica FT-NIR nel settore farmaceutico, su matrici complesse e quando l'esigenza di precisione e qualità del dato analitico si abbina alla richiesta di risposte in tempi brevissimi.

Al servizio della salute

Nell'ambito della ricerca farmaceutica internazionale, un'adeguata struttura scientifica consolida la propria posizione per ciò che concerne lo sviluppo di diverse molecole in varie aree terapeutiche



Abiogen Pharma è un'azienda italiana che opera nel campo farmaceutico, con un fatturato stimato in oltre 70 milioni di euro nel 2004. La ricerca costituisce il cuore delle attività della società: la visione strategica di R&D è basata sul presupposto di rappresentare un innovativo strumento di spinta nell'ambito della ricerca farmaceutica internazionale, con l'obiettivo di ottenere importanti traguardi di business attraverso la valorizzazione dei propri assetti strategici. Ne sono testimonianza le capacità del Centro Ricerche Abiogen (in passato Gentili) riconosciute nel mondo grazie alla scoperta e alla successiva affermazione sul mercato di importanti molecole nel campo del Metabolismo osseo, quali i bifosfonati, in particolare l'Alendronato, meglio noto con il nome commerciale Fosamax (MSD), che ha raggiunto un fatturato di oltre 3 miliardi di dollari nel 2004.

Il centro ricerche

Presso questa struttura scientifica sono in fase di sviluppo diverse molecole in varie aree terapeutiche, alcune delle quali già in fase clinica I o II.

Oltre ai tradizionali studi sul metabolismo osseo, l'azienda ha recentemente sviluppato ricerche nel campo del Sistema nervoso centrale e dei Tumori, per lo più lavorando con partner internazionali e con centri di ricerca di università statunitensi. Negli ultimi tre anni un impulso particolare è stato dato all'attività di biotecnologia. Per tale motivo è stata avviata una stretta collaborazione con Areta International, una società privata di servizi di biotecnologia nata nel 1999 e

situata nell'area industriale di bioricerca di Gerenzano (VA). Areta coopera con Abiogen nello sviluppo di molecole biotecnologiche, nel processo di produzione - ottimizzazione e in quello di fabbricazione di lotti di prodotto che sono necessari allo svolgimento della fase preclinica e clinica. Per le strutture tecnologiche di cui è dotato, il Centro è in grado di condurre la maggior parte dello sviluppo preclinico dei progetti di ricerca.

Laboratorio di tossicologia

- Acute, sub-acute and chronic toxicity
- Teratogenesis studies
- Reproduction and fertility studies
- Mutagenesis studies
- Histopathology studies
- Histomorphometry

Laboratorio farmacologico

- In vitro e in vivo methodologies
- Radiochemical Laboratory
- Pharmacodynamics
- Hybridoma culture
- Immunology Studies
- Cytotoxicity



La sede di Abiogen a Ospedaletto (Pisa)



Laboratorio di biologia molecolare e biotecnologie

- Prokaryote and Eukariote cells culture
- Monoclonal antibodies production from Hybridoma
- Nucleic acids extraction and purification
- PCR (polymerase chain reaction)
- Cloning and transformation
- Construction of phage display libraries for recombinant protein expression

Stabulario

(Topi, gatti, cani e conigli)

Progetti di ricerca nel settore biotecnologico

ABIO 05/01

È rappresentato da cellule "killer" derivate da quelle di un bambino con una rara forma di leucemia. In vitro e in vivo, le cellule Abio 05/01 hanno consentito la regressione e la scomparsa di alcuni tumori senza intaccare il normale tessuto o senza produrre effetti collaterali. Al momento, una fase clinica I-II su pazienti con cancro peritoneale viene condotta presso il Dipartimento di Oncologia ed Ematologia dell'Università di Modena. Dati preclinici mostrano che tali cellule sono efficaci contro un certo numero di tumori,

incluso la leucemia, il linfoma, tumori alle ovaie, alla prostata, ai polmoni e al cervello. La tossicità è stata valutata in varie specie, inclusi gatti non ammalati e con tumori, primati sani e cuccioli di cane con tumori spontanei. La sicurezza è stata dimostrata in questi studi preclinici usando sia cellule Abio 05/01 non irradiate che letalmente irradiate. Queste cellule sono confezionate come prodotto finale in sacche da parte di Areta

International che le produce in GLP/GMP e a norma ISO 9001.

IMTOX

Gli anticorpi monoclonali, quando sono stati somministrati nel corpo, scovano e si legano alle cellule che hanno una specifica proteina al loro interno. Imtox, specifico nei pazienti con linfonodi che hanno un antigene (proteina) chiamata CD22 nelle loro cellule tumorali, è un immunotossina contenente un anticorpo monoclonale e una proteina tossica ricombinante che può uccidere le cellule umane se cerca di entrarvi. Tale farmaco, che sta iniziando la fase I ed è in fase II negli USA contro il linfoma non-Hodgkin, è sviluppato da Abiogen Pharma in collaborazione con l'università del Texas. Lo sviluppo biotecnologico del prodotto è stato realizzato in collaborazione con Areta International che è responsabile dello scale-up.

ANTI-CD54

Il recettore ICAM-1 (CD54) è coinvolto nella patogenesi del mieloma multiplo umano. Anti-CD54 è un anticorpo monoclonale che ha mostrato risultati promettenti nella terapia del mieloma. Al momento è in stadio preclinico avanzato.

ABP-101

Dall'esplorazione delle grandi proprietà antigeniche degli anticorpi, Abiogen Pharma ha ideato strategie sperimentali per produrre anticorpi che catalizzano reazioni chimiche rilevanti nei confronti delle molecole dei corticosteroidi. Questi anticorpi catalitici, o abzymi, sono all'inizio della fase preclinica dello sviluppo nel settore del Pronto Soccorso (Emergency), dove l'attività catalitica di ABP-101 può migliorare la rapida bio-disponibilità del cortisone.

AT1-ATE

Abiogen Pharma sta sviluppando anticorpi monoclonali specifici per la tossina tetanica (AT1) e per il virus dell'Epatite C usando una specifica tecnologia in collaborazione con Philogen (Italia), che ha sviluppato un'innovativa metodologia che permette l'isolamento di frammenti anticorpali da vaste librerie di anticorpi umani.

Name	Compound	Therapeutic Target	Preclinical Indication Phase	Evaluation Phase Indication	Clinical Phase I II III	Filed
IMTODOR	Midostaurin 1500 mg	Tyrosin Kinase	Phase I	Phase II	Phase III	
D-9456	Docetaxel 10 mg	Epidermal Growth Factor	Phase I	Phase II	Phase III	
HER002	Herceptin	Epidermal Growth Factor	Phase I	Phase II	Phase III	
EL-1A	Erlotinib	Epidermal Growth Factor	Phase I	Phase II	Phase III	
HER003	Herceptin	Epidermal Growth Factor	Phase I	Phase II	Phase III	
ICKPV-12	Imatinib 400 mg	Imatinib	Phase I	Phase II	Phase III	
OPPL	Oprelvekin (Granulocyte Colony-Stimulating Factor)	Myeloid Growth Factor	Phase I	Phase II	Phase III	
BTG 3649	Bortezomib	Proteasome Inhibitor	Phase I	Phase II	Phase III	
TALL 104	Tamoxifen 20 mg	Estrogen Receptor	Phase I	Phase II	Phase III	
KPV	Kinase Inhibitor	Protein Kinase	Phase I	Phase II	Phase III	
IMTOX 22	Immunotoxin	CD22	Phase I	Phase II	Phase III	
BTG 3670A	Bortezomib	Proteasome Inhibitor	Phase I	Phase II	Phase III	
OND-C9	Oncology	Protein Kinase	Phase I	Phase II	Phase III	
PE-C	Protein Kinase Inhibitor	Protein Kinase	Phase I	Phase II	Phase III	
PT-C	Protein Kinase Inhibitor	Protein Kinase	Phase I	Phase II	Phase III	
ABP 102	Monoclonal Antibody	Abzyme	Phase I	Phase II	Phase III	
ANTI-HER 2	Monoclonal Antibody	Epidermal Growth Factor	Phase I	Phase II	Phase III	
ANTI-CD 54	Monoclonal Antibody	ICAM-1	Phase I	Phase II	Phase III	
ABP 101	Monoclonal Antibody	Abzyme	Phase I	Phase II	Phase III	
AT1	Monoclonal Antibody	Tetanus Toxin	Phase I	Phase II	Phase III	
AT1	Monoclonal Antibody	Hepatitis C Virus	Phase I	Phase II	Phase III	

di Marco Defraia e Maurizio De Francesco:
Emerson Process Management

Strategie di automazione in impianti in regime cGMP

Qualità del prodotto, incremento della produzione, ottimizzazione di processo, rintracciabilità e sicurezza: questi i ritorni derivanti dall'adozione di una soluzione globale Multi Unit



Gli impianti di produzione in regime cGMP richiedono attenzione agli aspetti legati a qualità dei prodotti, convalida dei sistemi di automazione e registrazione dei dati critici di processo.

Le strategie adottate per l'automazione degli impianti farmaceutici considerano la necessità di soddisfare particolari regole imposte da enti nazionali e internazionali mantenendo flessibilità per rispondere alle esigenze di mercato.

Cambia il modo di investire

L'economia degli investimenti in automazione è mutata. I sistemi DCS sono cambiati: fino a ieri complessi e costosi, oggi la scalabilità consente costi di ingresso decisamente ridotti. Piccole aziende e

impianti pilota possono permettersi un sistema integrato di automazione.

La riduzione degli investimenti avviene anche con l'adozione di automazione batch e gestione elettronica dei dati di processo, migliorando il rispetto delle normative e la flessibilità produttiva.

È il caso dell'impianto pilota utilizzato per la produzione del farmaco durante i test clinici di fase III che, può essere convertito in unità produttiva.

Se la produzione richiesta è decisamente superiore alla potenzialità dell'impianto, è necessario passare dalla scala pilota a una scala superiore.

Con l'adozione delle stesse strategie di controllo, si riduce il tempo di transizione tra le due installazioni e, di conseguenza, si minimizza il time to market.

Automazione con Integrated Batch Management

Le soluzioni di automazione per impianti pilota e/o produzione a oggi disponibili si dividono in due tecnologie possibili: automazione Single Unit, che non gestisce l'impianto nella sua globalità, o automazione Multi Unit con utilizzo di software rispondenti allo standard ISAS88. Quest'ultima soluzione globale, proposta da Emerson Process Management, comporta i vantaggi riportati di seguito.

Qualità superiore del prodotto

I processi con particolare sensibilità alle variazioni produttive mostreranno forti scostamenti nella qualità del prodotto, se condotti con operazioni manuali. L'automazione completa a ricette consente di ottenere una ripetibilità del prodotto decisamente elevata.

Incremento della produzione

La maggior parte dei processi biotecnologici è caratterizzata da tempi di reazione estremamente lunghi e, allo stesso tempo, da elevata sensibilità alle condizioni di processo. Più è lungo il tempo di reazione e più il processo è sensibile alle condizioni operative, più è giustificato considerare di adottare l'automazione batch.

Ottimizzazione di processo

L'incremento della resa produttiva può essere ottenuto attraverso piccoli cambiamenti nelle condizioni di processo, difficilmente realizzabili con controlli manuali. I computer possono eseguire il controllo con precisione molto elevata e strumenti

per il controllo avanzato, come i modelli di monitoraggio predittivo, possono favorire l'ottimizzazione di processo. Il risultato sarà un incremento di produzione contemporaneo alla diminuzione dei costi.

Rintracciabilità

Un sistema di controllo a ricette su unità multiple può ricevere e registrare tutti gli eventi correlati al codice identificativo di ogni batch. Questi dati sono utilizzabili per il report della qualità, per l'analisi delle deviazioni e per l'analisi di processo.

Sicurezza

In un sistema completamente automatizzato, gli operatori sono meno esposti agli agenti chimici di quanto non lo siano in un impianto a conduzione manuale.

Riduzione del costo di ingegneria e convalida

Nell'area della convalida vige il detto "meno è meglio". È evidente una prima riduzione di costo per l'eliminazione della convalida dell'integrazione tra diversi pacchetti software tipica del PLC, SCADA e pacchetto Batch separati. Per quanto riguarda la configurazione è necessario fare considerazioni più ampie. Nella maggior parte dei processi sono presenti Unit, Equipment, sequenze logiche e ricette identiche.

La logica del Class-Based Engineering (CBE) permette una singola configurazione per classe di apparecchiatura e ne consente la successiva adozione sulle apparecchiature fisicamente presenti in impianto. Si riduce a una volta sola la



necessità di progettazione, implementazione e collaudo.

Una volta definito lo stesso codice per elementi simili, si esegue solamente una convalida.

I dettagli più significativi in merito all'utilizzo di CBE con il sistema DeltaV sono descritti nei paragrafi successivi.

Classi di fasi

Una fase è una sequenza logica così come definito dallo standard S88 associata a una Unit o a un Equipment. Usualmente vengono utilizzate sequenze logiche identiche per più Unit del processo. Ad esempio, tutti i serbatoi di un impianto richiedono una fase di riempimento. Lo stesso codice, validato una volta sola, può essere impiegato per il riempimento di tutti i serbatoi.

Classi di apparecchiature

Le classi di apparecchiature consentono di configurare e validare un'apparecchiatura generica con il codice creato per tutte le apparecchiature dello stesso tipo. Per esempio, una classe è costituita dai serbatoi per le lavorazioni intermedie. Nel sistema DeltaV, questa classe è definita attraverso parametri specifici, quali le classi di fasi associate e lo pseudonimo specifico. I codici specifici per i serbatoi delle lavorazioni intermedie vengono creati semplicemente definendo il nome dell'apparecchiatura e la corrispondenza tra pseudonimo e control module reale.

Formula della ricetta

Spesso le ricette utilizzate per produzioni diverse sono identiche nella logica, anche se differiscono per i reagenti, le quantità in



gioco e i valori dei parametri di processo. Il sistema DeltaV supporta il concetto di formula della ricetta, impiegando una singola ricetta per differenti produzioni. La ricetta di base è sviluppata e validata una singola volta; le differenti formulazioni richiedono solamente la convalida dei singoli parametri.

Riduzione del costo di tracciabilità

Gli impianti di produzione GMP richiedono la registrazione di ogni evento significativo e degli indicatori della qualità. Le normative danno ampio risalto all'accuratezza e completezza delle registrazioni di produzione; ogni omissione alla corretta registrazione impone un'azione.

La registrazione dei dati di qualità è una sfida decisamente complicata, se affrontata manualmente. La registrazione automatica nei processi batch è pienamente giustificata per molte ragioni: errori di



imperfetta registrazione di informazioni possono produrre lo scarto di prodotto buono, mentre una buona registrazione può fornire le informazioni necessarie per comprendere le deviazioni del processo e consente risparmi altrimenti impossibili da

ottenere; le registrazioni elettroniche, inoltre, consentono un accesso rapido alle informazioni richiesto dalla certificazione di qualità dei prodotti e permettono di contenere le risorse necessarie per le operazioni di analisi dei dati e la registrazione elettronica è più completa e precisa. DeltaV Historian è stato pensato come una funzione integrata: una volta che DeltaV Batch esegue una ricetta, genera anche il relativo evento.

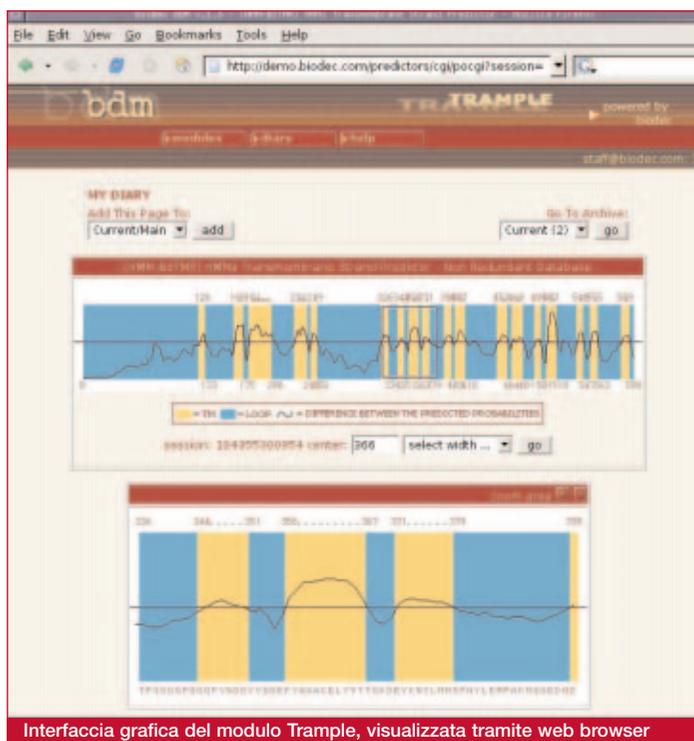
Gli eventi sono registrati nel Batch Historian e organizzati secondo l'identificativo del batch. Molti produttori offrono strumenti per la registrazione storica, ma devono essere configurati perché riconoscano eventi specifici.

Nel caso in esame si ottengono minori necessità di configurazione, ingegnerizzazione e documentazione che significano anche minori sforzi per la convalida. Una volta adottato il sistema DeltaV, l'automazione batch integrata garantisce notevoli vantaggi rispetto ad altre architetture. La diminuzione di costi durante l'intero ciclo di vita è realizzata attraverso la riduzione delle operazioni di integrazione, ingegnerizzazione e convalida.

Marco Parenti, Elena Fioravanzo:
S-IN Soluzioni informatiche Ivan Rossi, Michele Finelli: BioDec

Dalla sequenza alla struttura in pochi click

Recenti sviluppi tecnologici rendono più semplice l'acquisizione di informazioni strutturali e funzionali fondamentali su target biomolecolari, favorendo il processo di drug discovery



Interfaccia grafica del modulo Trample, visualizzata tramite web browser

Grazie alle attuali tecniche di modellistica molecolare, divenute strumenti di quotidiana applicazione nel settore della ricerca farmaceutica, si è fatta pressante la necessità di disporre di accurate strutture tridimensionali di possibili target biologici. I successi della genomica e della proteomica hanno generato un'enorme quantità di dati sia a livello di codice genetico sia del proteoma in esso codificato.

Si conoscono ormai milioni di sequenze, ma solo di poche migliaia di proteine e' nota la struttura tridimensionale. Il problema di conoscere la sequenza, ma

contenuti i risultati generati dall'applicazione di strumenti di analisi di sequenza proprietari o di altra origine. Sono stati sviluppati diversi moduli: Trample (Trans-Membrane Protein Labelling Environment) basato su artificial neural network e hidden markov model, specifico per l'identificazione e la caratterizzazione di regioni trans-membrana; Angler, classificatore concepito per l'analisi massiva di interi proteomi batterici, ideale per l'identificazione delle proteine associate alla membrana esterna; Tangram, studiato per l'identificazione di omologhi remoti di sequenze e fold

non la funzione o la struttura di una proteina, può essere affrontato mediante l'analisi di sequenze proteiche, che permette di derivare dalla sequenza il massimo delle informazioni possibili.

BioDec sviluppa sia strumenti integrati (BioDecoding Machines) per la decodifica e l'annotazione di sequenze proteiche, che database di sequenze annotate dove sono

recognition; Zendock, pensato per la predizione dei siti di interazione proteina-proteina e basato, ancora una volta, su artificial neural network in grado di analizzare la superficie esposta di una struttura proteica ed evidenziare le regioni sulla superficie dove è massima la probabilità di interazione.

Applicando Zendock a tutte le strutture note del Protein Data Bank, è stato generato il database Zenpatches. Dove possibile, i prodotti sono basati su application server, utilizzabili attraverso un'interfaccia web, che ne rende facile e immediato l'utilizzo anche a un utente non specializzato.

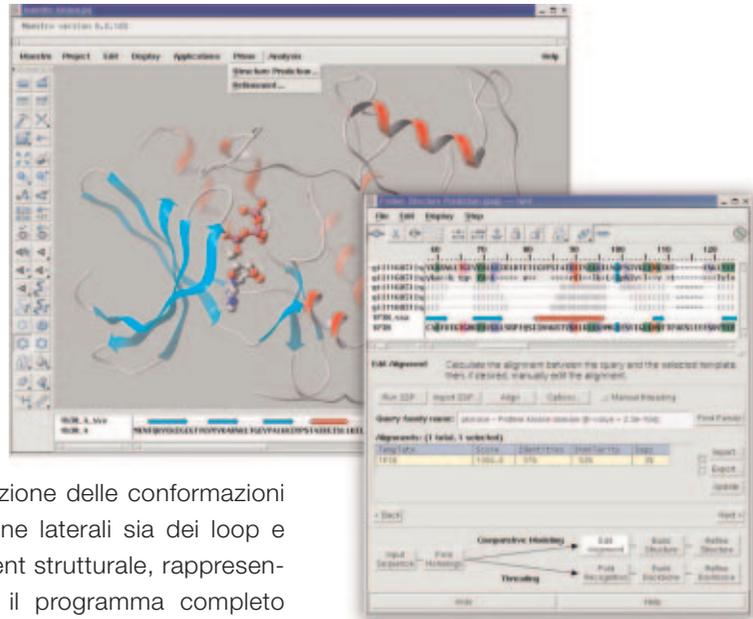
Un software per il Comparative Protein Modelling

I metodi di Comparative Protein Modeling, impiegati per generare strutture tridimensionali di proteine di cui è nota solo la sequenza primaria, si basano sull'osservazione che un'alta similarità di sequenza si riflette generalmente in un'elevata similarità strutturale.

È quindi possibile ipotizzare strutture 3D di proteine in base a strutture note di una o più proteine omologhe. Innovativo, in questo campo, è Prime (Schrodinger, Inc., distribuito in Italia da S-IN Soluzioni Informatiche), un software che combina tecniche di Homology Modeling/Comparative Modeling, utilizzabili solo quando si ha

un'alta omologia di sequenza, con tecniche di Fold Recognition/Threading, impiegabili anche quando l'omologia di sequenza è bassa. Originariamente sviluppato dal gruppo del professor Jacobson presso la Ucsf, il suddetto software si rivela ottimale sia per gli utenti meno esperti, che sono guidati passo a passo verso la costruzione del modello per omologia da Maestro, semplice e intuitiva interfaccia grafica, sia per gli utenti più esperti ai quali Maestro offre strumenti per intervenire direttamente in tutti i passaggi al fine di ottimizzare l'accuratezza delle pre-

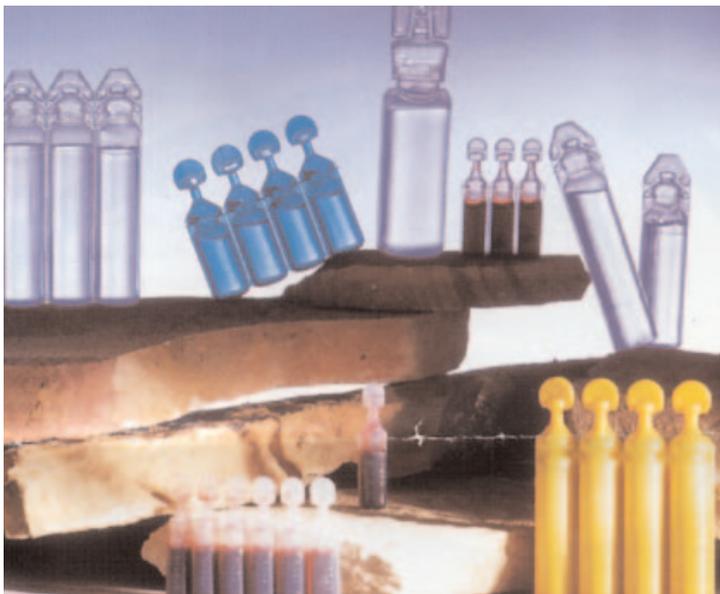
dizioni personalizzando il processo. Il software contiene una tecnologia innovativa per l'allineamento delle sequenze, per la generazione delle conformazioni sia delle catene laterali sia dei loop e per il refinement strutturale, rappresentando quindi il programma completo per il protein modelling.



Screenshot di Prime e della sua interfaccia grafica, Maestro

Dosi monouso: la tendenza del futuro

Le dosi singole stanno assumendo un'importanza crescente nel mondo farmaceutico poiché favoriscono un consumo veloce e garantiscono proprietà igieniche



Se si deve dar credito agli incoraggianti tassi di crescita registrati dai produttori, il successo della dose singola in ambito farmaceutico non è affatto un fuoco di paglia. Sieri, colliri, trattamenti per l'asma, soluzioni ottiche: gli impieghi sono numerosi e in fase di crescita e nessun laboratorio proiettato nel futuro può permettersi di trascurarli. "Le dosi singole contengono un preciso quantitativo di prodotto monouso e siccome vengono utilizzate subito dopo l'apertura, non vi è alcun rischio di sviluppare germi" ha puntualizzato Eric Goupil, CEO di **Unither**, uno dei leader europei nella produzione di dosi monouso sterili. È altresì apprezzata la possibilità di sterilizzare la confezione, il che permette di imballare i prodotti senza conservanti. "Il mancato impiego di conservanti elimina qualsiasi rischio allergenico" ha affermato Goupil. "Una confezione multi-dose di lozione oculare, ad esempio, necessita di conservanti e va utilizzata entro 15 giorni dall'apertura,

mentre le singole dosi sterili si conservano sino a tre anni", ha continuato. Nel 1962, **Rommelag** ha messo a punto le macchine integravano i processi di estrusione, soffiatura, riempimento e chiusura. Oggi sono assai diffuse e applicate a un'ampia gamma

di prodotti. I macchinari 'blow-fill-seal' consentono di produrre vasti quantitativi di dosi singole sterili a costi limitati e in tempi ridotti in condizioni aseptiche. L'italiana **Lameplast** occupa una posizione di rilievo sul mercato delle dosi singole e le sue confezioni in plastica a iniezione sono adattabili a prodotti più o meno viscosi che vanno da 0.33 a 10 ml. Sostengono a Lameplast che i nostri prodotti sono ideali per il settore oftalmico, ma anche per le soluzioni per aerosol, disinfettanti, gocce per naso e orecchie e vaccini orali. Abbiamo altresì notato una crescente richiesta da parte dell'industria cosmetica per i sieri per la cura della pelle ed è evidente che sia il settore cosmetico sia quello farmaceutico trovano che le dosi singole siano funzionali e futuristiche". Questa opinione è condivisa anche alla **Livcer**, specializzata in campioni termoformati e dosi non in commercio. Fanno sapere dall'azienda che "Le dosi monouso, per via delle loro proprietà

igieniche e di facile trasporto sono un'importante e attuale forma di packaging per i prodotti farmaceutici che ben si adattano sia a chi prescrive (poiché le dosi raccomandate vengono per forza rispettate) sia al paziente (facilità d'utilizzo, di trasporto e di consegna della dose giusta). Alla Livcer vengono prodotti macchinari e tecnologie che consentono di realizzare prodotti sagomati riproducibili in qualsiasi forma e tipo di contenitore a prezzi contenuti.

Malgrado il crescente predominio della plastica nell'universo delle dosi monouso, il vetro continua a godere di una certa popolarità. Infatti esistono diversi prodotti che semplicemente non possono essere confezionati in packaging in PE monouso, come soluzioni da bere o integratori vitaminici che sono tuttora contenuti in fiale di vetro. Anche per le formulazioni iniettabili si ricorre sempre al vetro.

Il confezionamento in PE monouso non si adatta a tutti i prodotti, poiché alcuni componenti interagiscono con la plastica. È il caso dei complessi biologici, come le proteine prodotte utilizzando le nuove biotecnologie. Con il vetro i fenomeni interattivi sono meno frequenti. Tuttavia, soprattutto negli States, le formulazioni iniettabili sono sempre più confezionate nella plastica.

In conclusione, il futuro delle dosi monouso in ambito farmaceutico, nonostante il costo più elevato rispetto ai packaging tradizionali appare roseo. Prodotti tradizionali come l'eosina (usata per pulire ferite e tagli superficiali) si trasformano in soluzioni d'avanguardia se proposte in dosi monouso. Oltretutto, seguono perfettamente il trend focalizzato sui trattamenti personalizzati.

Vagli a nutazione

Si tratta di sistemi di vagliatura **Vibrowest** ad alta efficienza impiegati soprattutto per polveri, granulati e materiali fini. Anche prodotti considerati difficili da setacciare, possono essere selezionati con precisione e continuità con ottimi risultati.

I vagli a nutazione hanno elevata capacità operativa, costante nel tempo, grazie agli efficienti sistemi di pulizia continua delle reti; disponibilità fino a 5 frazioni granulometriche con un'unica macchina; sistema modulare che permette un rapido adeguamento a mutate condizioni di esercizio; eccezionale durata nel tempo; soluzioni particolari per casi speciali; otti-

male rapporto prezzo/prestazioni dovuto ai ridotti costi di acquisto, energetici e manutentivi; separazione delicata del vostro prodotto grazie alla bassa frequenza e al movimento tridimensionale; il materiale alimentato centralmente si muove come l'antico ed esperto movimento di setacciatura di origine contadina; l'elevata accelerazione sul setto vagliante della zona periferica imprime al prodotto un mescolamento facilitando una selezione più accurata.

I vagli a nutazione Van, suddivisi in diverse grandezze e con il sistema a più stadi per una massima produttività, vengono utilizzati in diversi settori dell'indu-

stria quali: cave e miniere, industria chimica, industria del legno, resine fertilizzanti, alimentari, farmaceutica, cosmesi, metallurgia, mangimistica, saccarifera ed ecologia.



Lavaggio di fiale e flaconi

Dalla collaborazione tra **Elau Systems Italia** e **Co.Ri.Ma** è nata WRA 24-8, una macchina concepita per il lavaggio di fiale e flaconi, dalle prestazioni elevate, ma semplice quanto a struttura. In virtù del sistema di controllo digitale multiasse PacDrive di Elau, tale impianto è versatile, con parametri agevolmente programmabili e con un'intuitiva interfaccia uomo-macchina. Il suddetto sistema ha reso possibile un rapido cambio del ciclo di lavorazione passando dal formato fiale a quello flaconi in tempi decisamente ristretti. La macchina, destinata alla farmaceutica, ha una velocità di riempimento pari a 12 fiale/ciclo e si divide in otto zone-stazioni di lavoro, assicurando un ciclo di lavora-

zione continuo per il lavaggio e il soffiaggio interno ed esterno delle fiale. Operazioni, queste, che vengono condotte in automatico e gestite dal pannello operatore posto sulla consolle. Nella



WRA 24-B

zona superiore della macchina sono installati i gruppi di lavorazione delle fiale, la cui alimentazione è effettuabile manualmente o da altre macchine collegate al nastro di carico. Controlli successivi verificano le quantità presenti su quest'ultimo, interrompendo il ciclo produttivo in condizioni di carico minimo. Una stella di carico trasferisce quindi le fiale dalle guide di carico alla stella centrale di trasporto e una guida analoga ne garantisce il mantenimento sulla stessa. terminate le fasi di lavoro, le fiale passano dalla stella centrale a quella di trasferimento e, di seguito, sulla coclea di scarico, i cui dispositivi finali sono in comunicazione con il tunnel di sterilizzazione.

Linea di confezionamento

La riempitrice KX2000 è capace di trattare tubi in plastica e alluminio, laminati, coestrusi o polyfoll, di una capienza da 2 a 400 ml. La macchina, concepita da **Kalix** per la cosmetica, raggiunge una cadenza effettiva di produzione, corrispondente a 180 tubi/min. Il polmone di alimentazione verticale (brevetto proprietario VSMĚ) occupa poco spazio e "invia" i tubi vuoti nella riempitrice, il cui design offre all'operatore un'agevole accessibilità alle varie funzioni.

Le operazioni vengono comandate da servo motori; la gestione degli automatismi è assicurata da un PLC che memorizza i parametri di formato e mette in evidenza gli errori delle fer-

mate. Grazie a un collegamento diretto via modem, il costruttore può intervenire a distanza sulle macchine per assistenza di diagnostica, upgrade del software o manutenzione. L'uscita dei tubi riempiti e chiusi è garantita da un manipolatore pick and place, capace di porre diretta-

mente i tubi nella astucciatrice continua KP2000 (capacità di confezionamento pari a 200 astucci/min), con un movimento sincronizzato; ciò tiene sotto controllo il movimento del tubo durante il trasferimento dall'intubettatrice all'astucciatrice, che è spesso all'origine di fermi. Il tempo per un cambio di formato senza strumenti è dell'ordine di 15 minuti; gli interventi manutentivi sono minimizzati.

La progettazione multi formato di questa macchina consente di lavorare con una vasta gamma di astucci (alette ad aeroplan o contrapposte) attraverso una semplice regolazione (dal tubo campione al kit colorazione).



Produzione di acqua ultrapura

I cinque sistemi che costituiscono la gamma Milli-Q utilizzano un processo standard di purificazione in tre passaggi, studiato da **Millipore** per rimuovere i contaminanti ionici e organici primari, nonché per fornire acqua ultrapura con resistività di 18,2 M Ω .cm. Per ogni sistema sono disponibili specifiche unità di pretrattamento e cartucce per applicazioni che colpiscono contaminanti ben precisi. Alcuni sistemi, muniti di una lampada UV per fotoossidazione (Gradient/Synthesis/Element), sono progettati per produrre acqua di Tipo I, con livelli ultra bassi di batteri e contaminanti organici (da 1 a 5 ppb, in termini di TOC ossia di Carbonio

Organico Totale). Altri, concepiti per bio-applicazioni (Biocel/Synthesis) sono dotati di un'apparecchiatura integrata per ultrafiltrazione per la rimozione di contaminanti critici, quali nucleasi e pirogeni (< 0,001 EU/ml). La tecnologia di controllo integrata del Milli-Q (in ottemperanza ai

requisiti USP 24) comprende un resistivometro di precisione e un monitor A 10 in line per il monitoraggio del TOC. Opzionale è il software Explore DataTM, che permette, con un pc, un agevole accesso e scarico di informazioni storiche per una tracciabilità reale.

E' disponibile il display remoto per l'operatività e il controllo di un sistema Milli-Q installato sotto il banco del laboratorio o in un'altra posizione lontana. Un dispenser al punto d'uso consente l'erogazione di acqua ultrapura fino a 2,5 m dal sistema.

Queste opzioni di uso remoto offrono ai ricercatori comodità e flessibilità in laboratorio.



Stufe e incubatori 'Perfect'

La gamma Perfect della **Memmert** comprende stufe termostatiche, incubatori, incubatori refrigerati con gruppo criostatico e a effetto Peltier. Tutte le apparecchiature da laboratorio vantano numerose peculiarità tra cui:

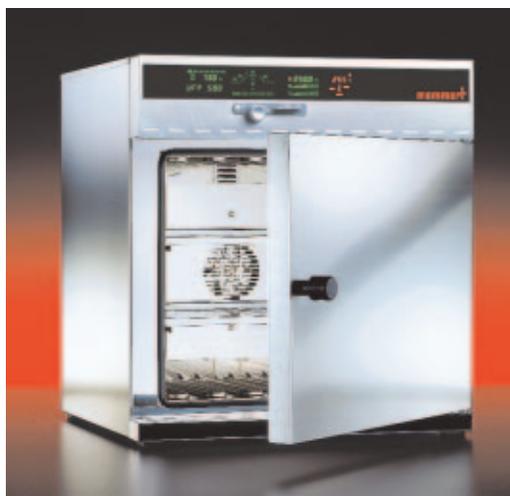
- uniformità della distribuzione della temperatura all'interno della camera: per le stufe $\pm 0,25$ °C, per gli incubatori $\pm 0,05$ °C;
- uniformità della distribuzione della temperatura all'interno della camera (DUC: Controllo Uniformità Dinamico per stufe da 53 a 749 l di capacità);
- sicurezza di classe 3.1 per stufe e incubatori, sicurezza 3.3 per incubatori refrigerati;
- oltre al limitatore di temperatura gli strumenti hanno un controllore elettronico separato e regolabile con protezione di sovra e sottotemperatura denominato

ASF che attiva un corridoio di sicurezza o banda regolabile di tolleranza di sovra e sottotemperatura;

- fino a 40 rampe programmabili da pannello, fino a 40 rampe programmabili mediante scheda Memory Card di impostazione e memorizzazione profili di

temperatura, un numero quasi illimitato di rampe via RS232 o RS485 in combinazione con il software Celsius 2005 a corredo;

- numerose applicazioni mediante il software opzionale in accordo a FDA-21CFR;
- maggiore protezione contro la contaminazione negli incubatori dove la Stery Card esegue la sequenza di sterilizzazione automatica con aria calda all'interno della camera (non per incubatori refrigerati);
- elevata protezione contro manipolazioni non desiderate da parte di personale non autorizzato grazie alla carta opzionale I.D. di identificazione;
- possibilità di documentazione protetta contro ogni manipolazione in accordo a GLP/GMP mediante memoria interna in combinazione con l'interfaccia per stampante e la RS232 in dotazione standard;
- calibrazione della temperatura su tre punti.



Dati protetti

La selezionatrice ponderale Ramsey AC9 Rx è costruita con un sistema di sicurezza che consente solo agli utenti autorizzati l'accesso ai parametri impostati.

La macchina, prodotta dalla filiale italiana della **Thermo Electron**, per soddisfare gli standard FDA relativi all'industria farmaceutica richiede infatti una password e un codice ID ogni volta che l'operatore tenta di accedere ai dati.

Senza questi parametri le informazioni possono essere solo visionate, ma non alterate.

Inoltre, possono essere impostati fino a tre livelli di accesso e, se non ci sono utenti collegati, la selezionatrice entra automaticamente in modalità di protezione.



Sistemi e gruppi per vuoto

Gieffe Systems progetta e costruisce sistemi e impianti per il vuoto con pompe a vite a secco, ad anello liquido, sole o in combinazione con eiettori ad aria, condensatori e pompe volumetriche a lobi



ACV, sistema a ricircolo totale

per il raggiungimento di minime pressioni residue. I sistemi sono realizzati in acciaio al carbonio e inossidabili 304, 316L, 904L, e possono essere singoli o centralizzati, sia con funzionamento manuale che completamente automatizzato, gestito da quadro di comando o PLC. Gli impianti per il vuoto utilizzati nei processi produttivi dell'industria chimico-farmaceutica dove vengono aspirati gas di solventi potenzialmente pericolosi possono essere dotati di sistemi di recupero, costruiti in accordo alla direttiva ATEX94/9/CE. Tutti i sistemi sono inoltre costruiti in accordo con il committente, per la soluzione di particolari problemi applicativi.

Prelevare i campioni

Sono progettati per l'industria chimica, farmaceutica, dei polimeri e della criogenia i dispositivi di campionamento realizzati dalla francese **Truchot Laurens**.

I sistemi montano valvole a sfera ad elevate prestazioni che, attraverso il controllo continuo in linea del processo, consentono di prelevare campioni in tutta sicurezza per l'operatore e l'ambiente, realmente rappresentativi, con i volumi stabiliti dall'utilizzatore.

Questi dispositivi sono dotati di una sfera capacitiva che svolge la funzione di camera stagna tra la linea di produzione e l'esterno: qualunque sia la sua posizione non è possibile nessuna fuoriuscita né alcuna entrata di aria che potrebbe inquinare il processo. Le valvole a sfera possono essere realizzate con materiali particolari come Hastelloy o UB6, in inox rivestito con PFA o in PVDF monoblocco, ed essere dotate di un doppio rivestimento riscaldante a seconda delle specifiche esigenze. Infine si adattano alle dimensioni della linea di produzione preesistente e a pressoché tutti i tipi di contenitori di campionamento.

Semplice e versatile

Nella gamma di macchine intubatrici realizzate da **TGM-Tecnomachines**, la B620 trova la sua applicazione primaria nell'industria farmaceutica, ma è adatta a soddisfare anche le esigenze dei settori cosmetico, chimico e alimentare.

Il sistema dispone di un caricatore tubetti di grande capacità e monta diversi dispositivi di controllo e accessori che ne facilitano l'impiego e garantiscono un elevato standard di produzione.

La gestione delle funzioni avviene tramite PLC e interfaccia utente, costituita da un pannello con display alfanumerico oppure touch screen. Un'ampia gamma di accessori rende particolarmente versatile la macchina, che è inoltre facile da capire e da utilizzare.

