

Rilevamento rapido di API a basso dosaggio nel farmaco Xanax mediante l'uso della spettroscopia Raman amplificata da superfici ai fini della lotta alla contraffazione

L'emergere di farmaci da prescrizione contraffatti è diventata una preoccupazione per il industria farmaceutica. Farmaci contraffatti sono fabbricati in modo fraudolento e/o etichettati erroneamente per sembrare autentici. Questi farmaci di solito non contengono ingredienti farmaceutici attivi (API) e invece possono contenere ingredienti altamente potenti o pericolosi[1,2]. Questi farmaci contraffatti sono spesso fabbricati per apparire come il vero farmaco da prescrizione (Figura 1a). Recentemente, il falso Xanax contenente il potente oppioide fentanil ha causato diverse overdose negli Stati Uniti [3]. Data la diffusione di queste contraffazioni potenzialmente pericolose, è necessario sviluppare una tecnica che sia in grado di confermare rapidamente l'identità di un farmaco che si sospetta sia contraffatto. A causa delle basse concentrazioni di API presenti nei farmaci, la Spettroscopia Raman convenzionale in genere non è sufficientemente sensibile per rilevare l'API dalla superficie di una pillola. In questo studio sviluppiamo la spettroscopia Raman amplificata dalla superficie (SERS) per identificare una dose bassa (<0,2% p/p) dell'API alprazolam in una compressa di Xanax utilizzando un spettrometro Raman portatile. In assenza di picchi SERS coerenti con l'alprazolam osservati in una compressa di Xanax, la pastiglia è considerata una sospetta contraffazione. Il metodo

dimostra il potere del SERS di verificare rapidamente la presenza di alprazolam nella compressa a fini anticontraffazione.

Xanax

Xanax è un farmaco con prescrizione medica con alprazolam (Figura 1b) come API. È usato per trattare i disturbi d'ansia e di panico. Una tipica compressa di Xanax può contenere 0,25 mg, 0,5 mg, 1 mg o 2 mg di alprazolam. Gli eccipienti, o ingredienti inattivi, sono un composto di cellulosa, amido di mais, sodio docusato, lattosio, stearato di magnesio, biossido di silicio e benzoato di sodio[4].

Fentanil

Fentanil (Figura 1c) è un farmaco oppioide sintetico. Considerato il più potente antidolorifico sul mercato (è da 50 a 100 volte più potente della morfina[5]), il fentanil è prescritto dai medici per la gestione del dolore o come parte dell'anestesia per aiutare a prevenire il dolore dopo un intervento chirurgico o altre procedure mediche. Sempre più spesso, il fentanil viene prodotto illecitamente e venduto per strada come eroina o Xanax, causando un picco di morti per overdose di fentanil. A causa dell'elevata potenza del fentanil, i farmaci contenenti fentanil sul campo si trovano solitamente in forme saline come l'acetil fentanil o il fentanil citrato.

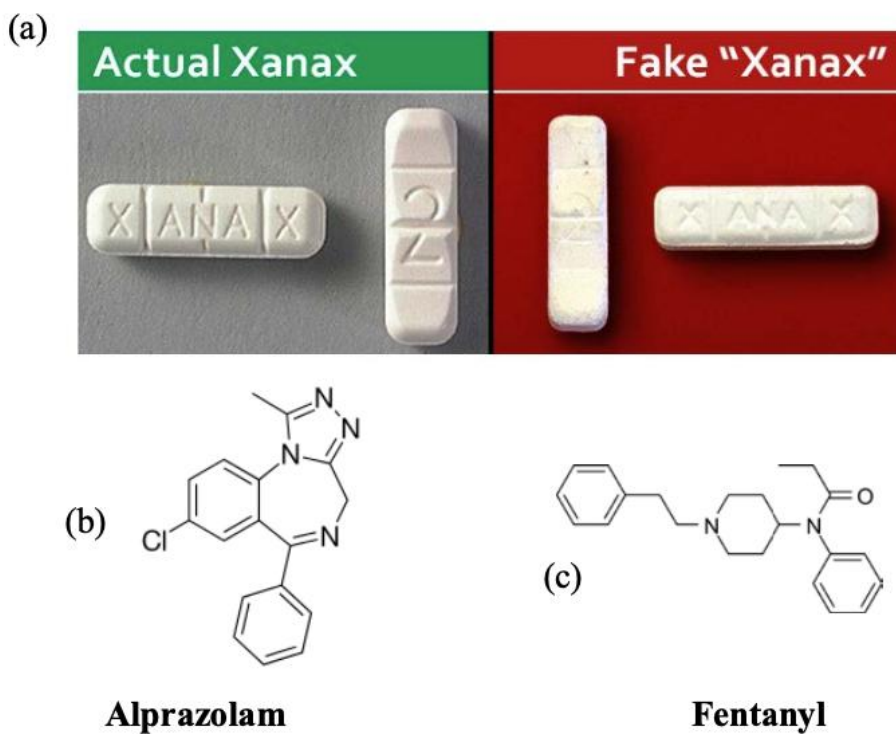


Figure 1. (a) Compresse di Xanax autentiche e false contenenti rispettivamente le sostanze chimiche (b) alprazolam (API in Xanax) e (c) fentanil

ANALISI

La spettroscopia Raman è stata utilizzata per identificare la bassa dose di alprazolam in una compressa di Xanax. Un B&W Tek Spettrometro Raman portatile TacticID con eccitazione laser a 785

nm insieme a un adattatore TacPac per campioni SERS (vedi **figura 2**) è stato utilizzato per la verifica del metodo.



Figure 2. Spettrometro Raman portatile TacticID con eccitazione laser a 785 nm e adattatore TacPac

I campioni testati in questo lavoro includono una compressa Xanax acquistata contenente 0,25 mg di alprazolam e fentanil da campioni confiscati confermati in laboratorio per gentile concessione del nostro collaboratore presso un dipartimento di polizia.

Circa 1/4 di una compressa di Xanax (~ 30 mg) è stato posto in una provetta da centrifuga di plastica da 2,0 mL. Quindi, 0,5 mL di acetone sono stati aggiunti alla provetta per centrifuga. La provetta è stata agitata fino a quando il campione non si è sciolto e la

soluzione è apparsa notevolmente torbida. Il substrato SERS a base di carta è stato immerso nella soluzione ed è stato lasciato interagire sufficientemente con il campione e la soluzione (~ 30 s). Il substrato SERS è stato quindi posizionato nell'adattatore TacPac per l'analisi con il TacticID. Per tenere conto dell'eterogeneità del campione all'interno della regione attiva SERS, sono stati analizzati almeno 3 punti diversi su ciascun substrato SERS. I tempi di integrazione automatizzata per le scansioni variavano da 15 a 30 s.

RISULTATI DEL TEST

Misurazione Raman diretta di Xanax

La **Figura 3** presenta lo spettro Raman acquisito direttamente dalla superficie di una compressa di Xanax (a) sovrapposta allo spettro Raman del lattosio (b). Picchi Raman osservati a 356 cm^{-1} , 436 cm^{-1} , 476 cm^{-1} , 1088 cm^{-1} , 1120 cm^{-1} , e 1264 cm^{-1} nello spettro (a) sono coerenti con il lattosio. Non sono stati osservati picchi coerenti con alprazolam nello spettro

Raman dalla superficie della compressa. La misurazione diretta di una compressa di Xanax sul TacticID restituisce una correlazione spettrale al lattosio con un HQI di 86,7, indicando che una misurazione Raman manuale diretta non può identificare il principio attivo in Xanax dalla superficie della pillola.

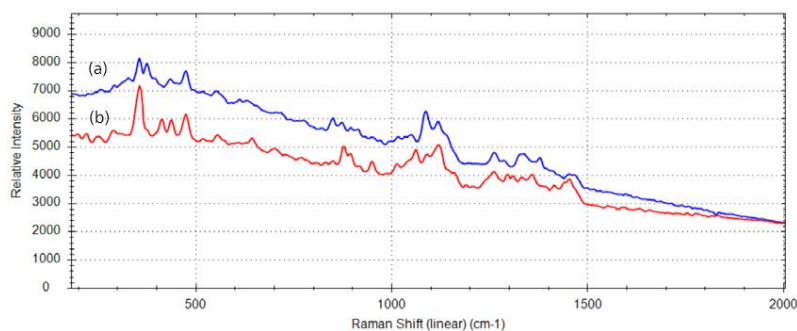


Figure 3. Spettri da (a) misurazione Raman manuale diretta della compressa di Xanax e (b) misurazione Raman manuale diretta del lattosio

Rilevazione di Alprazolam in Xanax

La **Figura 4** presenta lo spettro Raman dell'alprazolam puro (a) e lo spettro SERS ottenuto da Xanax (b). Picchi SERS osservati a 688 cm^{-1} , 1000 cm^{-1} , 1132 cm^{-1} , 1160 cm^{-1} , 1312 cm^{-1} , 1380 cm^{-1} , 1484 cm^{-1} , 1568 cm^{-1} e 1592 cm^{-1} sono coerenti con lo spettro Raman dell'alprazolam puro. La **Figura 5** mostra spettri SERS tipici ottenuti da eccipienti Xanax (cellulosa, lattosio, amido di mais e stearato di magnesio). A causa della bassa solubilità degli eccipienti nell'acetone, nello spettro Xanax SERS non vengono catturate le

impronte digitali Raman caratteristiche di questi materiali. Sebbene l'alprazolam costituisca $<0,20\%$ (p/p) della compressa di Xanax, il substrato SERS migliora sufficientemente il segnale Raman in modo che è possibile ottenere un segnale coerente con l'API nonostante la maggiore concentrazione di eccipienti nella compressa. Ciò dimostra l'elevata selettività del metodo per l'API e la capacità del test SERS dei campioni sul substrato di identificare una bassa dose di alprazolam.

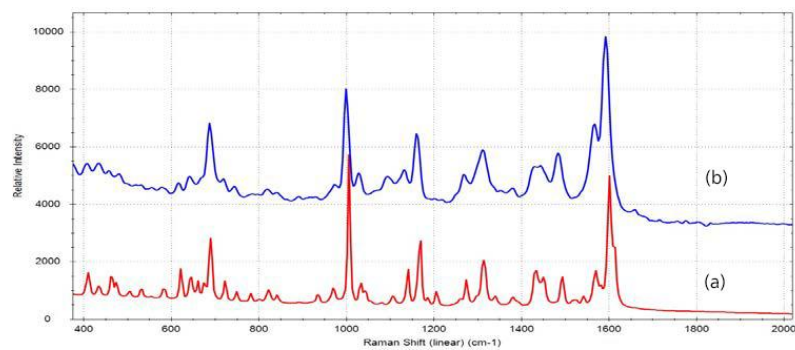


Figure 4. (a) Spettro Raman di alprazolam puro e (b) Spettro SERS di Xanax

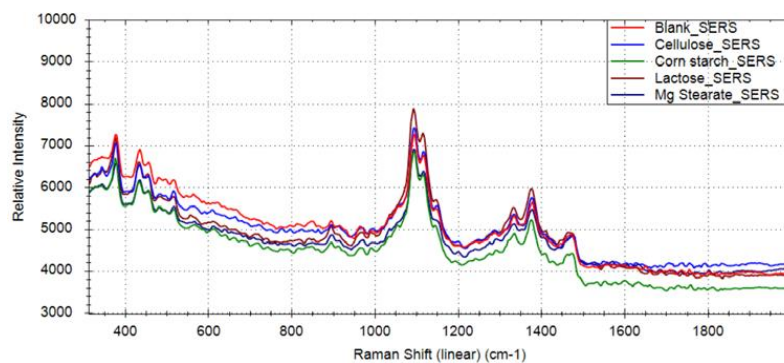


Figure 5. Spettri SERS di un substrato bianco, cellulosa, amido di mais, lattosio e Mg stearato

Rilevazione di Fentanil

Al fine di rilevare il fentanil spesso sostituito all'alprazolam nello Xanax falso, il metodo SERS è stato applicato anche al rilevamento del fentanil. La **Figura 6a** presenta lo spettro SERS da un campione di fentanil. Un picco forte a 1000 cm^{-1} assegnato alla modalità di respirazione ad anello e un piccolo picco a 1029 cm^{-1} sono comuni agli spettri SERS sia per l'alprazolam che per il fentanil. Tuttavia, il segnale alprazolam di Xanax (**Figura 6b**) ha picchi unici a 688

cm^{-1} , 1480 cm^{-1} , 1568 cm^{-1} , e 1592 cm^{-1} che non si osservano nello spettro del fentanil. Con l'algoritmo appropriato, fentanil e alprazolam possono essere distinti spettroscopicamente nonostante alcuni picchi comuni. Ai fini della lotta alla contraffazione, se nello spettro SERS di una pillola Xanax non si osservano picchi coerenti con l'alprazolam, la pillola è considerata un sospetto falso.

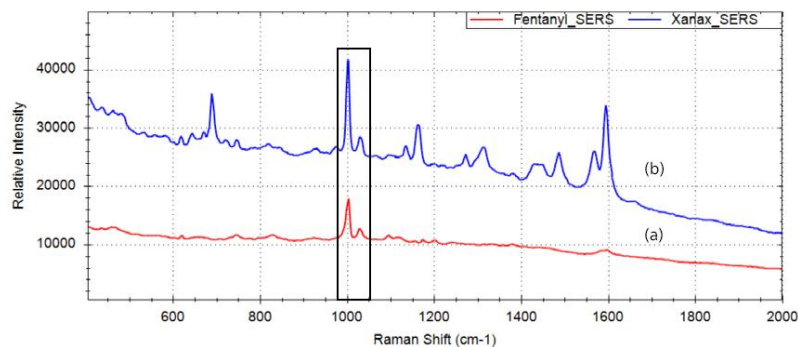


Figure 6. Spettri SERS di (a) fentanil e (b) Xanax

Identificazione di Xanax

Un algoritmo del coefficiente di correlazione è stato utilizzato per il confronto spettrale per identificare uno spettro sconosciuto rispetto a uno spettro della libreria. Il coefficiente di correlazione HQI (Hit Quality Index) per le scansioni incognite rispetto a uno spettro

di libreria viene calcolato utilizzando il prodotto dei minimi quadrati dello spettro incognito centrato medio e lo spettro di libreria, rappresentato dall'equazione:

$$HQI = \frac{(Library \cdot Unknown)^2}{(Library \cdot Library)(Unknown \cdot Unknown)} \times 100$$

I valori HQI vanno da 0 a 100, con 100 che rappresenta una corrispondenza perfetta. La correlazione media HQI con uno spettro di libreria per

tre scansioni sconosciute di fentanil e di ingredienti Xanax è elencata di seguito in **Tabella 1**.

Tabella 1. Risultati corrispondenti

Materiale	Risultati & HQI medio (n = 3)
Fentanil	Corrispondenza a Fentanyl (HQI = 82,33)
Xanax	Abbina a Alprazolam (HQI = 91,00)
Lattosio	Nessuna corrispondenza
Cellulosa	Nessuna corrispondenza
Mg stearato	Nessuna corrispondenza
Amido di mais	Nessuna corrispondenza

CONCLUSIONI

È stato sviluppato un metodo basato su SERS per il rilevamento di basse dosi di alprazolam in una compressa di Xanax. Il metodo dimostra un'elevata selettività per l'alprazolam in Xanax nonostante la dose estremamente bassa. Un palmare [Spettrometro Raman TacticID](#) con il software integrato è stato in grado di discriminare tra lo spettro SERS dell'API alprazolam e gli spettri degli eccipienti Xanax. A scopo anticontraffazione, se non si osservano picchi compatibili con alprazolam nello spettro SERS di una pillola Xanax, la pillola è considerata un sospetto falso.

Lo spettro SERS del fentanil può essere identificato anche dal TacticID, consentendo la rilevazione del fentanil quando viene utilizzato in sostituzione dell'alprazolam. La preparazione del campione per l'analisi SERS è semplice e può essere facilmente eseguita dagli ufficiali sul campo. La capacità di identificare rapidamente la presenza di alprazolam in una compressa di Xanax o di potenziali materiali nocivi come il fentanil è uno strumento prezioso per le forze dell'ordine e l'industria farmaceutica per combattere la prevalenza di farmaci contraffatti.

ULTERIORI LETTURE

Application Note correlate

[B&W Tek TacticID per l'identificazione di stupefacenti](#)

Altri documenti correlati

[Raman vs SERS... Qual è la differenza?](#)

RIFERIMENTI

1. <http://www.fda.gov/Drugs/ResourcesForYou/Consumers/BuyingUsingMedicineSafely/CounterfeitMedicine/>
2. <https://addictionresource.com/drugs/the-dangers-of-fentanyl/>
3. <https://www.dea.gov/docs/Counterfeit%20Prescription%20Pills.pdf>
4. <https://www.xanax.com/>
5. <https://www.drugabuse.gov/drugs-abuse/fentanyl>

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



Spettrometro manuale Raman TacticID-GP Plus

TacticID-GP Plus è uno spettrometro manuale Raman per l'impiego sul campo, che consente l'identificazione rapida e non distruttiva di sostanze chimiche. Così, è possibile ridurre tempi di risposta e insicurezza operativa. Il workflow e il touchscreen intuitivi rendono possibile l'analisi non distruttiva dei campioni attraverso imballaggi trasparenti e opachi. Il grado di pericolosità viene visualizzato in modo chiaro e univoco dagli utenti, ad esempio addetti alla sicurezza, altro personale (ad esempio delle forze dell'ordine), personale doganale e addetti alla protezione dei confini, nonché squadre di artificieri e team per la rimozione di sostanze pericolose, che possono così intervenire rapidamente, anche con un contatto minimo con il campione. TacticID-GP Plus fa uso della comprovata spettroscopia Raman e consente agli utenti l'identificazione in tempo reale di campioni, con visualizzazione chiara del grado di pericolo e degli avvisi di sicurezza ai sensi del sistema mondiale armonizzato di classificazione ed etichettatura delle sostanze chimiche (GHS) e dello standard NFPA704.



Spettrometro Raman palmare TacticID-N Plus

Lo strumento TacticID[®]-N Plus è uno spettrometro Raman palmare pronto all'uso, progettato per l'analisi forense non a contatto di narcotici, farmaci, agenti di taglio e loro precursori da parte del personale delle forze dell'ordine.

Grazie a una sequenza di lavoro intuitiva e allo schermo tattile, è possibile analizzare i campioni in modo non distruttivo attraverso l'imballaggio opaco e trasparente. Gli utenti, ad esempio il personale di sicurezza e dei servizi di emergenza (quali forze dell'ordine), guardie doganali e di frontiera, nonché gli artificieri e le squadre addette alle sostanze pericolose, possono visualizzare molto chiaramente il livello di minaccia del campione, per un'azione rapida con un contatto minimo con il campione. Lo strumento TacticID-N Plus utilizza la spettroscopia Raman comprovata in laboratorio, che consente agli utenti di identificare le sostanze illecite in tempo reale senza mai compromettere l'integrità del campione o la catena delle evidenze.

Gli utenti TacticID-N Plus hanno accesso ad aggiornamenti regolari della libreria in modo da mantenere aggiornate le capacità di identificazione e stare al passo con i nuovi narcotici emergenti.



Adattatore TacPacTM

Adattatore per analisi SERS per l'impiego con substrati P SERS TacPacTM.