

Nahinfrarotspektroskopische Untersuchungen an pharmazeutischen Hilfsstoffen und festen Arzneiformen

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematischen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Jutta Beyer

aus

Rheydt

Bonn Januar 2003

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Erster Referent: Professor Dr. K.-J. Steffens
Zweiter Referent: Professor Dr. H. Büning-Pfaue
Tag der Promotion: 24. Februar 2003

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG.....	1
2	THEORETISCHER TEIL.....	4
2.1	Nahinfrarot Spektroskopie	4
2.2	Messprinzip	6
2.3	Spektrometeraufbau.....	8
2.3.1	Michelson-Interferometer.....	9
2.3.2	Polarisationsinterferometer	10
2.4	Chemometrische Verfahren.....	11
2.4.1	Principal Component Analysis / Regression (PCA / PCR).....	12
2.4.2	Partial Least Square-Regression (PLS).....	13
2.4.3	Validierung	14
2.4.4	Spektrenvorbehandlung.....	17
2.4.4.1	Vektornormierung.....	18
2.4.4.2	Ableitung nach Savitzky-Golay	18
2.4.4.3	Multiplicative Scatter Correction (MSC).....	19
2.4.4.4	JCAMP-Format	20
3	MATERIAL UND METHODEN.....	21
3.1	Verwendete Materialien – Teil 1.....	21
3.1.1	Lactose	21
3.1.2	Magnesiumstearat.....	22
3.1.3	Mikrokristalline Cellulose.....	24
3.1.4	Stärke.....	25
3.2	Verwendete Materialien-Teil 2.....	26
3.2.1	Kaliumaspartat; Magnesiumaspartat.....	26
3.2.2	Polyvinylpyrrolidon	26
3.2.3	Sorbitol.....	27
3.2.4	Hydroxypropylcellulose	27
3.2.5	Magnesiumstearat.....	28
3.3	Methoden zur Hilfsstoffcharakterisierung-Teil 1.....	29
3.3.1	NIR-Spektroskopie	29
3.3.2	Wassergehaltsbestimmung nach Karl-Fischer.....	30
3.3.3	Thermoanalytische Methoden.....	32
3.3.3.1	Trockenschrank.....	32
3.3.3.2	Infrarot-Trocknungswaage	32
3.3.3.3	Thermogravimetrie (TG)	33
3.3.3.4	Differential Scanning Calorimetrie (DSC).....	33
3.3.4	Röntgendiffraktometrie	34
3.3.5	Konditionierung von Lactosen.....	35

3.4	Methoden zur Herstellung der Kalibriermuster – Teil 2.....	37
3.4.1	Rezepturenentwicklung.....	37
3.4.2	Granulierung.....	39
3.4.3	Charakterisierung der Granulate	41
3.4.3.1	NIR-Spektren	41
3.4.3.2	Restfeuchte	41
3.4.3.3	Partikelgrößenverteilung	41
3.4.3.4	Rasterelektronenmikroskop.....	42
3.4.3.5	Bulkdichten	43
3.4.4	Tablettierung	43
3.4.5	Charakterisierung der Tabletten.....	44
3.4.5.1	Gleichförmigkeit der Masse.....	44
3.4.5.2	Abmessungen der Kerne	44
3.4.5.3	Bruchfestigkeit	44
3.4.5.4	Friabilität	45
3.4.5.5	Zerfall	45
3.4.6	Aufnahme der NIR-Spektren	46
3.4.6.1	Diffuse Reflexion.....	46
3.4.6.2	Transmission	47
3.4.7	Gehaltsbestimmung der Kalibriermuster	48
3.4.7.1	Bestimmung der Kationen mittels Atomabsorptionsspektroskopie (AAS).....	48
3.4.7.2	Bestimmung der Aspartate mittels HPLC.....	49
4	ERGEBNISSE UND DISKUSSION – TEIL 1	50
4.1	Wassergehaltsbestimmung von Lactose mittels NIRS.....	51
4.1.1	Darstellung der OH-Schwingungen von Lactosen mittels NIRS.....	51
4.1.2	OH-Schwingungen von α -Lactose-Monohydraten.....	54
4.1.3	Methodenentwicklung zur Kalibrierung des Spektrometers.....	58
4.1.3.1	Testkalibrierung	58
4.1.3.2	Konditionierung der Kalibriermuster	60
4.1.3.3	Kalibrierungsmodell.....	62
4.1.3.4	Überprüfung des Modells	62
4.1.4	Differenzierung von adsorbiertem Oberflächenwasser	66
4.2	Untersuchungen von Magnesiumstearaten mittels NIRS.....	68
4.2.1	OH-Schwingungen von Magnesiumstearaten.....	68
4.2.2	Darstellung pseudopolymorpher Modifikationen mittels NIRS	72
4.2.2.1	Identifizierung der Herkunft mittels NIRS.....	80
4.2.3	Wassergehaltsbestimmung von Magnesiumstearat mittels NIRS.....	81
4.2.3.1	Auswahl der Referenzmethode	81
4.2.3.2	Kalibrierungsmodell.....	83
4.2.3.3	Überprüfung des Modells	85
4.3	Wassergehaltsbestimmung von Mikrokristalliner Cellulose.....	88
4.3.1	Darstellung der OH-Schwingungen von Mikrokristalliner Cellulose.....	88
4.3.2	Kalibrierungsmodell zur Wassergehaltsbestimmung.....	93
4.3.3	Überprüfung des Modells	94
4.4	Wassergehaltsbestimmung von Stärke mittels Nahinfrarot Spektroskopie	96
4.4.1	Darstellung der OH-Schwingungen von Stärke	96

4.4.2	Kalibrierungsmodell.....	100
4.4.3	Überprüfung des Modells	101
5	ERGEBNISSE UND DISKUSSION – TEIL 2	103
5.1	Untersuchung der Wirkstoffe mittels NIRS	103
5.1.1	Testkalibrierungen von Pulvermischungen.....	106
5.2	Einfluss des Scale downs auf die Kalibriermuster	107
5.2.1	Untersuchungen der Granulatchargen.....	107
5.2.1.1	Morphologie der Granulatkörner	108
5.2.1.2	Partikelgrößenverteilung	110
5.2.1.3	Bulkdichten	112
5.2.1.4	Restfeuchte	114
5.2.2	Untersuchungen der Tablettenkerne.....	117
5.2.2.1	Gleichförmigkeit der Masse und Abmessungen der Kerne	117
5.2.2.2	Zerfall und Friabilität	118
5.2.3	Untersuchung der Bruchfestigkeit.....	119
5.2.3.1	Einflüsse durch die Herstellungsbedingungen.....	119
5.2.3.2	Einflüsse durch die Nachhärtung	121
5.2.3.3	Einflüsse durch die Presskraft.....	123
5.3	Gehaltsbestimmung mittels NIRS.....	128
5.3.1	Reflexionsmessungen mittels Michelson-Interferometer.....	131
5.3.1.1	Darstellung des Spektralbereichs	131
5.3.1.2	Darstellung der PLS-Regressionen im Reflexionsmodus	133
5.3.2	Transmissionsmessungen mittels Michelson-Interferometer.....	134
5.3.2.1	Darstellung des Spektralbereichs	134
5.3.2.2	Darstellung der PLS-Regression	137
5.3.3	Bewertung und Vergleich der Ergebnisse.....	139
5.3.3.1	Überprüfung der Reflexionsergebnisse.....	140
5.3.4	Reflexionsmessung mittels Polarisations-Interferometer.....	145
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	150
7	ANHANG.....	152
7.1	Geräte	152
7.2	Software	152
7.3	Rezepturen der Kalibrierchargen.....	153
7.4	Thermogramme von Lactosen (DSC/TG).....	154
7.5	Gesamtwasserbestimmung unbehandelter Lactosen (Karl-Fischer).....	158
7.6	Gesamtwasserbestimmung konditionierter Lactosen (Karl-Fischer)	161
7.7	Trocknungsverlust Testchargen Mikrokristalliner Cellulosen Kapitel 4.3.3	167
7.8	REM-Bilder ausgewählter Granulatchargen.....	167

Inhaltsverzeichnis

7.9	Partikelgrößenverteilung ausgewählter Granulatchargen.....	169
7.10	Restfeuchte der Granulate	170
7.11	Gleichförmigkeit der Masse und Höhe der Kalibrierchargen	171
7.12	Nachhärtung der Tablettenkerne	173
7.13	Presskraft-Bruchfestigkeitsprofile.....	174
7.14	Gehaltsbestimmung der Testchargen	176
8	LITERATURVERZEICHNIS	179
9	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	186

1 Einleitung und Zielsetzung

Die Nahinfrarot Spektroskopie (NIRS) wurde bereits 1800 von William Herschel entdeckt, doch erst die Entwicklung leistungsfähiger Computer und der damit ermöglichte Einsatz multivariater chemometrischer Techniken ermöglichte in den 1980er Jahren die Auswertung dieser elektromagnetischen Strahlung zwischen 800 und 2500 nm. Seitdem ist die NIRS zu einer der am schnellsten wachsenden analytischen Techniken der Welt geworden (Mc Clure 1994).

Die wesentlichen Vorteile der NIRS sind die direkte Aufnahme der Spektren ohne Probenvorbereitung und die zerstörungsfreie Messung der Proben in kürzester Zeit. Da es sich jedoch um eine sekundäre Methode handelt, ist eine Kalibrierung des Spektrometers mit einer validierten primären Referenzanalytik unumgänglich

Der verstärkte Einsatz dieser Methode fand in den 80er Jahren zunächst in der Landwirtschaft und in der Lebensmittelchemie statt (Williams, Norris 1984), erst danach erkannte man den großen Nutzen, den diese Methode auch für die pharmazeutische Industrie bietet (Ciurczak 1987). Mit der Aufnahme der NIRS in das Europäische Arzneibuch (1997) und in den 2. Nachtrag der USP (2002) wurde dieser Entwicklung Rechnung getragen.

Eine Vielzahl von Übersichtsartikeln in der letzten Zeit zeigten, dass es auf diesem Gebiet enormen Fortschritt beim Einsatz von NIRS-Methoden zur qualitativen und quantitativen Analytik von Arzneimitteln gegeben hat (Mac Donald 1995; Blanco et al. 1998, Grummisch 1998; Lonardi 1998; Radtke 1999).

Der Inhalt dieser Arbeit soll weitere Beispiele für den Einsatz der Nahinfrarot Spektroskopie in der pharmazeutischen Industrie zeigen, die einen Beitrag zur Qualitätssicherung bei der Herstellung von Arzneimitteln leisten können.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit zwei unterschiedlichen Anwendungen der quantitativen NIRS:

Im ersten Teil wurden Lactose, Magnesiumstearat, Stärke und Mikrokristalliner Cellulose, die von der Internationalen Harmonisierungskommission (ICH, Sevilla 1997) mit zu den wichtigsten pharmazeutischen Hilfsstoffe zur Herstellung fester Arzneistoffe gezählt werden, mittels Nahinfrarot -Spektroskopie untersucht.

Die Identifizierung von verschiedenen pharmazeutischen Hilfsstoffen mittels NIRS wurde bereits von Gemperline et al. 1989; Corti et al. 1992; Plugge et al. 1992; Candolfi et al. 1999 und Ulmschneider et al. 2000 beschrieben.

Die hier ausgewählten Hilfsstoffe haben je nach Produkt und Hersteller unterschiedliche physikalische Eigenschaften von denen ihre Funktionalität und somit ihre technologische Einsatzmöglichkeit abhängt. Es fehlt jedoch, trotz internationaler Harmonisierungsbemühungen der Monographien, eine einheitliche Richtlinie zur weltweiten Normierung dieser physikalischen Parameter, sodass aufgrund einheitlicher Spezifikationen nicht unbedingt auf gleiche Funktionalität geschlossen werden kann (Steffens 2001).

In den NIR-Spektren der untersuchten Produkte konnten innerhalb der einzelnen Hilfsstoffgruppen deutliche spektrale Unterschiede durch veränderte physikalische Parameter erkannt werden.

Der Wassergehalt dieser Hilfsstoffe ist für deren Einsatz in der Technologie besonders bedeutend, sodass seine Bestimmung in den internationalen Pharmakopöen der ICH, wie Europäisches Arzneibuch (Ph.Eur.), United States Pharmacopeia (USP) und Japanese Pharmacopeia (JP) vorgeschrieben ist. Die dort genannten Methoden wie Karl-Fischer Titration oder Bestimmung des Trocknungsverlustes sind jedoch zeitaufwendig, umweltschädlich und zerstörend.

Die Nahinfrarot Spektroskopie stellt eine zerstörungsfreie schnelle und umweltfreundliche Alternative zur Bestimmung des Wassergehaltes von pharmazeutischen Hilfsstoffen dar (Hammond et al. 1998).

In dieser Arbeit wurden Methoden entwickelt, um den Wassergehalt verschiedenster Handelsprodukte von Lactose, Magnesiumstearat, Stärke und Mikrokristalliner Cellulose trotz unterschiedlicher Funktionalität der einzelnen Produkte zusammen mittels NIRS zu bestimmen.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde die Entwicklung der Gehaltsbestimmung eines Fertigarzneimittels mittels NIRS dargestellt. Es handelte sich hierbei um die Kerne von Tromcardin und Tromcardin forte Tabletten der Firma Trommsdorff aus Alsdorf, die unterschiedliche Dosierungen von Kalium- und Magnesiumaspartat als Wirkstoff enthalten. Beide Wirkstoffe konnten simultan und zerstörungsfrei mittels NIRS bestimmt werden. In der Literatur wurden bereits Methoden beschrieben, Tabletten in diffuser Reflexion oder Transmission mittels NIRS zu vermessen (Kirsch et al. 1995; Gottfries et al. 1996; Guo et al. 1999).

In dieser Arbeit wurde ein Vergleich beider Messmethoden in bezug auf die Gehaltsbestimmung der oben genannten Tabletten gezeigt.

In diesem Zusammenhang wurde auch ein Vergleich des Spektrometers Vector 22/N der Bruker Optik GmbH und dem Spektrometer NIRVIS der Büchi AG gezeigt.

Ein weiter wichtiger Parameter zur Charakterisierung von Tabletten ist die Bruchfestigkeit, die ebenfalls alternativ mittels NIRS bestimmt werden kann (Morisseau et al. 1997). In dieser Arbeit wurden die Presskrafteinflüsse auf die NIR-Spektren im Rahmen der Kalibriermusterherstellung quantitativ ausgewertet und bewertet.

2 Theoretischer Teil

2.1 Nahinfrarot Spektroskopie

Der nahinfrarote Bereich befindet sich im elektromagnetischen Spektrum begrenzt vom sichtbaren und mittleren Infraroten Licht zwischen den Wellenlängen 2500 und 800 nm und wurde auch früher nach seinem Entdecker als „Herschel Region“ bezeichnet (McClure 1994). In anderen Arbeiten wird das NIR als den für Quarz durchlässigen Teil des Infraroten Spektralgebietes definiert (Molt 1992). Der Spektralbereich wird oft in der Einheit Wellenzahlen angegeben, welches der reziproke Wert der Wellenlänge ist und gleichzeitig den Quotient aus Frequenz und Lichtgeschwindigkeit darstellt. Demnach liegt der NIR Bereich zwischen 12500 und 4000 cm^{-1} .

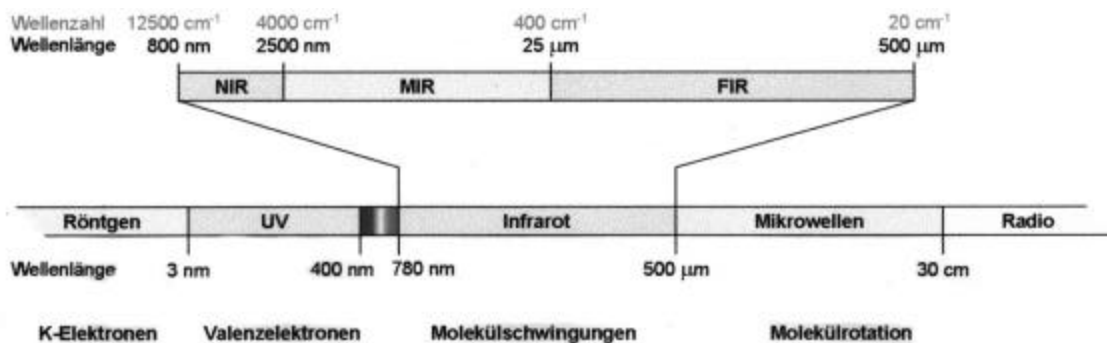
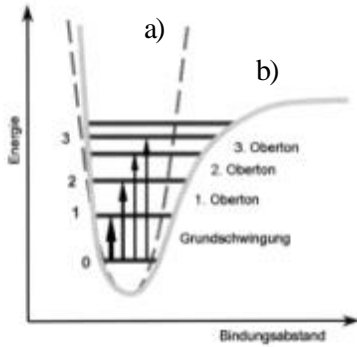


Abbildung 2.1.1 elektromagnetisches Spektrum (Quelle Horn, Winzen)

Durch Absorption elektromagnetischer Strahlung werden in Molekülen mechanische Schwingungen der Atome angeregt. Im infraroten Bereich werden Grundschnwingungen organischer Verbindungen als Valenzschwingungen (Streckschwingungen) und Deformationsschwingungen (Biegeschwingungen) gemessen. Im nahinfraroten Bereich befinden sich die Kombinations- und Oberschwingungen dieser Molekülschwingungen (Abbildung 2.1.1), die aus Vielfachen oder Summen der im IR gemessenen Grundschnwingungen bestehen.

Zur Beschreibung der Molekülschwingungen wird das Model des harmonischen und des anharmonischen Oszillators verwendet, das in Abbildung 2.1.2 dargestellt ist.



$$\text{a) } E = h \cdot \nu \quad \text{b) } E = h \cdot \nu \left(\nu + \frac{1}{2} \right)$$

E: Energie ν : Frequenz h: Proportionalitätsfaktor ν : Schwingungsquantenzahl

Abbildung 2.1.2 Plank'sche Potentialkurve eines a) harmonischen b) anharmonischen Oszillators

Nach der Gesetzmäßigkeiten des harmonischen Oszillators (a) verursachen starke chemische Bindungen und Atome kleiner Massen Absorptionsbanden bei großen Wellenzahlen (hohe Energie). Große Massen verursachen Absorptionsbanden bei kleinen Wellenzahlen (niedrige Energie). Allerdings weicht eine schwingende Atomgruppe in einem organischen Molekül in mehreren Punkten von den Vorstellungen des mechanischen harmonischen Oszillators ab, sodass das Model des anharmonischen Oszillators (b) besser geeignet ist diese Vorgänge zu beschreiben. Ein molekularer Oszillator kann neben der Grundschiwingung nur bestimmte Vielfache des Energiebetrags aufnehmen, was zur Quantelung der Schwingungsbewegung, und somit zu Oberschwingungen führt. Zur Beschreibung dieser Verhältnisse muss in die Energiegleichung a) die Schwingungsquantenzahl $\nu = 0, 1, 2, 3, \dots$ eingeführt werden. Für $\nu = 1$ ergibt sich die Grundschiwingung, für $\nu = 2$ die 1. Oberschwingung bzw. der 1. Oberton usw..

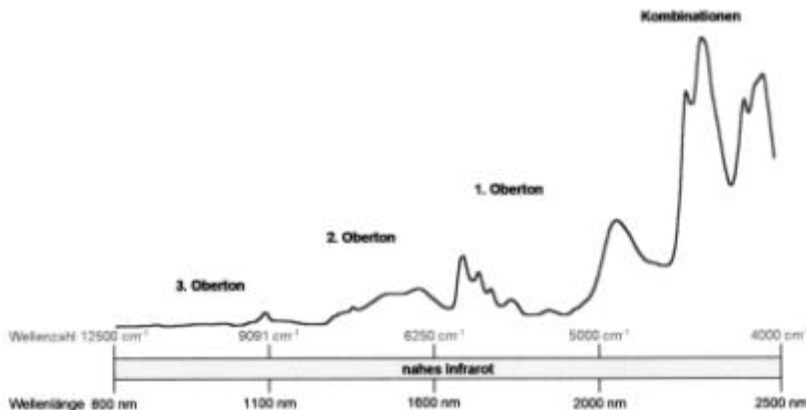


Abbildung 2.1.3 Molekülschwingungen im NIR-Bereich (Quelle Horn, Winzen)

Die Absorptionsbanden von OH-, NH- und CH- Gruppen weisen auch aus diesem Grund im NIR eine 10-100fach geringere Intensität auf, als die Absorptionen der entsprechenden Grundschrwingungen im mittleren infraroten Bereich, wodurch sich der wichtigste Vorteil der Nahinfrarot Spektroskopie begründen lässt.

Schichtdicken zwischen 1 mm und 1 cm können ohne vorherige Verdünnung vermessen werden, womit auf eine Vorbereitung der Probe vor der Messung verzichtet werden kann.

Daraus resultiert allerdings auch, dass sich die NIRS nicht für die Spurenanalytik eignet.

Nachteilig bei der Interpretation der NIR Spektren erweisen sich die relativ großen Halbwertsbreiten der Banden von 30-60 cm⁻¹, die zu einer starken Überlagerung der Einzelbanden führen und somit eine direkte Zuordnung der spektralen Information zur chemischen Grundstruktur kaum zulässt. Daher kann die NIRS nicht zur Strukturaufklärung verwendet werden. Hiermit lässt sich auch die Notwendigkeit einer computergestützten chemometrischen Auswertung der Spektren erklären (Molt 1992), auf die in Kapitel 2.4 noch genauer eingegangen wird.

2.2 Messprinzip

Die grundlegende Gesetzmäßigkeit aller spektroskopischen Verfahren, die zur quantitativen Auswertung von Stoffeigenschaften verwendet werden ist das Lambert-Beer'sche Gesetz (Gleichung 2.1). Für monochromatische Strahlung ist die Absorption (A) direkt proportional zur Schichtdicke (b: cm) und zur Konzentration (c: mol*l⁻¹) der vermessenen Substanz mit spezifischem molarem Absorptionskoeffizient (e: l*mol⁻¹*cm⁻¹). Der molare Absorptionskoeffizient entspricht hierbei der Absorption einer ein molaren Lösung bei einer Schichtdicke von 1 cm (b=1) bei der Wellenlänge **I** : $e(I) = A_{1cm}^{1mol}$. Die für die Absorptionsmaxima (**I** max) ermittelten e-Werte stellen charakteristische Stoffkonstanten dar.

$$A = e * c * b \qquad I = I_0 * e^{-e*c*b} \qquad \log \frac{I_0}{I} = A = e * c * b$$

Gleichung 2.1 Lambert-Beer'sches Gesetz

Mit Hilfe geeigneter Spektrometer wird eine Probe durch monochromatisches Licht einer bestimmten Wellenlänge angeregt und anschließend das Intensitätsverhältnis des Lichtes vor (I₀) und nach dem Probendurchgang (I) vom Detektor gemessen. Es wird der Anteil der

Bei der Transmissionsmessung durchstrahlt der Lichtstrahl die Probe und der Reststrahl wird vom Detektor aufgefangen. Hierbei wird die durchgelassene Intensität (I) im Verhältnis zur Anfangsintensität (I₀) betrachtet (Skoog, Holler, Niemann 1998).

$$T = \frac{I}{I_0} = e^{-e \cdot c \cdot b}$$

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

$$A = e \cdot c \cdot b$$

T = Transmission

A = Absorption

e = Absorptionskoeffizient

I₀ = Intensität des Referenzstrahls

c = Konzentration

I = Intensität des Messstrahls

b = Schichtdicke

Gleichung 2.3 Transmission

2.3 Spektrometernaufbau

Ein Spektrometer muss aus folgenden Grundelementen aufgebaut sein (Günzler 1975):

- Lichtquelle zur Erzeugung der kontinuierlichen elektromagnetischen Strahlung.
Im NIR-Bereich werden meistens Wolfram-Lampen eingesetzt.
- Monochromator zur Zerlegung des polychromatischen Strahls in einzelne definierte Wellenlängenbereiche, siehe auch Abbildung 2.3.1.
- Detektor zur Umwandlung der Strahlungsenergie in elektrische Energie.
Je nach Messbereich können u.a. Silizium-, Germanium-, oder Indium-Gallium-Arsenid-Dioden verwendet werden.

Mittlerweile werden Spektrometer -Typen verschiedenster Bauweise angeboten (Ulrich 2001), die man je nach Aufnahmeprinzipien in drei Hauptgruppen einteilen kann:

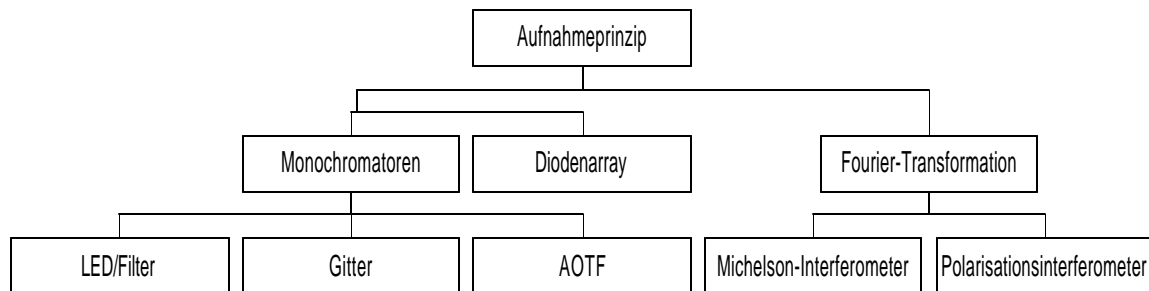


Abbildung 2.3.1 NIR-Spektrometer-Typen

Die am häufigsten verwendeten Spektrometer-Typen, auf die auch hier näher eingegangen werden soll, basieren auf der Fourier-Transformations (FT) Technik.

Bei diesem Messprinzip werden die durch Strahlenteiler erzeugten Interferogramme durch die mathematische Transformation nach Fourier von der Zeitdomäne in die Frequenzdomäne überführt, damit die Strahlungsintensität in Abhängigkeit von der Wellenlänge, als Spektrum aufzeichnen werden kann (Otto 1997).

Man kann in der FT-NIR Spektroskopie zwei Spektrometer-Typen an ihren Strahlenteilern unterscheiden:

2.3.1 Michelson-Interferometer

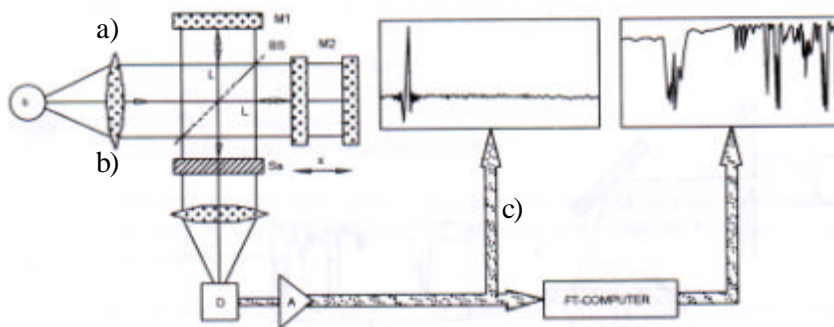


Abbildung 2.3.2 Michelson-Interferometer (Bruker Analytik GmbH 1998)

a) Eine Lichtquelle (s) emittiert breitbandige NIR-Strahlung, die auf einen Strahlenteiler (BS) fällt, der die Hälfte des Strahls reflektiert und die andere Hälfte durchlässt. Der reflektierte Strahl trifft nach einer Strecke (L) auf den fest montierten Spiegel (M1), wird dort reflektiert und fällt nach Zurücklegen einer Gesamtstrecke von $2L$ zum zweiten Mal auf den Strahlenteiler. Mit dem durchgelassenen Strahl geschieht dasselbe. Der bewegliche Spiegel (M2) ist auf der optischen Achse um die Strecke x verschiebbar, somit beträgt die gesamte Wegstrecke $2(L+x)$. Da die beiden räumlich kohärenten Strahlen eine Wegdifferenz von $2x$ aufweisen, interferieren sie beim Rekombinieren miteinander.

b) Der durch das Interferometer modulierte Strahl passiert die Probe (Sa) und wird danach auf den Detektor (D) fokussiert. Das detektierte Interferogramm ergibt sich aus der Strahlungsintensität $I(x)$ in Abhängigkeit von der Auslenkung x des beweglichen Spiegels M2 aus der Position L .

c) Die mathematische Fourier-Transformation wandelt das Interferometer in ein Einkanalspektrum um, welches dann im Verhältnis zur Referenzmessung als digitales Spektrum angezeigt wird (Bruker Analytik GmbH 1998).

Diese Methode weist einige wesentliche Vorteile gegenüber anderen Aufnahmeprinzipien auf (Griffiths 1975):

- Es treffen alle von der Quelle ausgesandten Frequenzen gleichzeitig auf den Detektor, was das Signal zu Rausch Verhältnis im Vergleich zu Monochromatoren verbessert und somit die Sensitivität erhöht (Fellgett-Vorteil).
- Kreisförmige Blenden bei FT Geräten ermöglichen einen höheren Strahlungsdurchsatz als bei Dispersivgeräten (Jacquinot-Vorteil)
- Durch schnelle Bewegung der optischen Strahlenteiler können kurze Messzeiten mit hoher optischer Auflösung erreicht werden.
- Bei Michelson-Interferometern wird eine besonders hohe Wellenzahlgenauigkeit durch Einsatz eines Hilfsinterferometers erreicht (Connes-Vorteil).

2.3.2 Polarisationsinterferometer

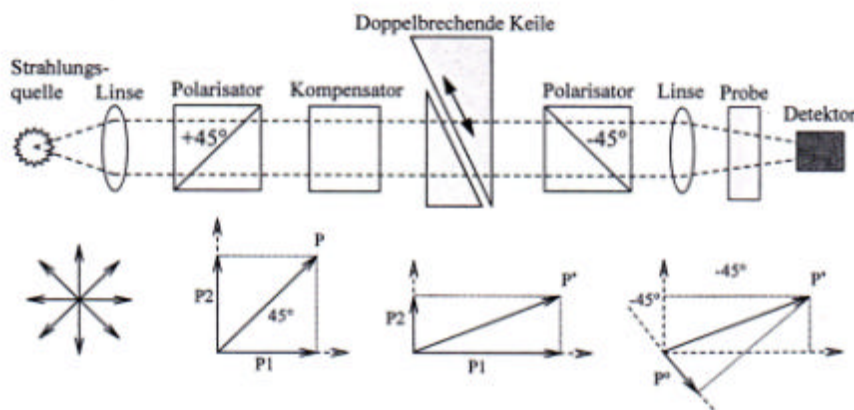


Abbildung 2.3.3 Büchi NIRVIS (Büchi AG)

Im Unterschied zum Michelson-Interferometer wird das Interferogramm beim Polarisations-Interferometer durch Doppelbrechung der Strahlung (P1, P2) mit beweglichen, keilförmigen Quarzkristallen erzeugt. Die emittierte Strahlung wird durch einen Polarisator linear polarisiert und durch die Quarzkristalle in zwei Teilstrahlen mit unterschiedlicher Ausbreitungsgeschwindigkeit aufgespaltet. Bei Verschiebung der beiden Kristallkeile gegeneinander ändert sich die optische Weglänge der Teilstrahlen und somit die

Phasendifferenz. In einem nachfolgenden zweiten Polarisator wird die Strahlungsintensität in Abhängigkeit von der Weglängendifferenz detektiert, wobei ein Interferogramm resultiert. Das resultierende digitale Spektrum wird auch hier durch Fourier-Transformation und Vergleich zur Referenzmessung erhalten (ehem. Bühler AG 1993).

2.4 Chemometrische Verfahren

Im nahinfraroten Bereich des elektromagnetischen Spektrums besteht eine starke Überlagerung der Einzelbanden von O-H, C-H und N-H Gruppen, sodass eine genaue Zuordnung zu bestimmten chemischen Strukturen kaum möglich ist. Zusätzlich spiegeln sich auch physikalische Eigenschaften der Probe in den Spektren wieder und führen zu Basislinienverschiebungen im gesamten Spektrum oder einzelnen spektralen Bereichen. Erst multivariate Analyseverfahren, die auch als Chemometrie bezeichnet werden, ermöglichen eine qualitative oder quantitative Auswertung der NIR-Spektren. Bei multivariaten Verfahren können alle, bei unterschiedlichen Wellenlängen gemessene Absorptionswerte in die Auswertung mit einbezogen werden. Je nach spektraler und digitaler Auflösung des Spektrometers kann ein Spektrum aus 500-2000 Datenpunkten bestehen.

Mit Hilfe der Chemometrie wird ein mathematischer Zusammenhang zwischen den spektralen Daten und den chemischen und physikalischen Eigenschaften der gemessenen Substanzen dargestellt und computergestützt ausgewertet (Otto 1997). Bei dieser Vorgehensweise wird deutlich, dass die zu bestimmenden Eigenschaften der Probe bekannt sein müssen, bevor diese Informationen in die Berechnungen mit einbezogen werden können. Eine primäre Referenzanalytik der Probe, oder die Messung von Referenzproben mit bekannten Eigenschaften ist also für die vorausgehende Kalibrierung des Spektrometers mit chemometrischen Methoden unumgänglich.

Durch die allgemeine Verfügbarkeit von leistungsstarken Computern und entsprechender Auswertungs-Software, die von Spektrometer-Herstellern direkt mit angeboten wird, ist der Einsatz der Chemometrie in der NIRS Standardmethode zur qualitativen und quantitativen Analytik geworden. Die am meisten verwendeten multivariaten Algorithmen sind Hauptkomponentenanalyse und Regression (Principal Component Analysis/ Regression: PCA/ PCR) und Partial Least Square (PLS)-Regression, die beide dazu dienen, die Information der gesamten Datenmatrix der Kalibrierspektren zu Komprimieren und durch möglichst wenige Faktoren zu beschreiben.

2.4.1 Principal Component Analysis / Regression (PCA / PCR)

Die Hauptkomponentenregression besteht aus einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) gefolgt von einer multiplen linearen Regression. In der PCA nähert man sich der ursprünglichen bilinearen Datenmatrix (X) durch zwei kleinere lineare Matrizen an (Gleichung 2.4). Man berechnet zum einen die Hauptkomponenten-Matrix (Faktoren/ Rang/ scores) (T), welche die Gewichtung der Information in den Pseudospektren beschreibt, und zum anderen die Gewichtsvektor-Matrix (Ladungen/ loadings) (P), welche die Pseudospektren der systematischen Unterschiede zwischen den einzelnen Spektren darstellt. Beide Matrizen sind orthogonal zueinander angeordnet, wobei die Gewichtsvektoren (P) die Richtung der neuen Achse vorgeben und die Hauptkomponenten (T) die Position der Objekte auf der neuen Achse beschreiben.

$${}_n \mathbf{X}^p = {}_n \mathbf{T}^d * {}_d \mathbf{P}^{Tp} + {}_n \mathbf{E}^p$$

X: Datenmatrix aus n Zeilen (Objekte) und p Spalten (Merkmale)

T: Matrix der Faktorenwerte mit n orthogonalen Zeilen und d Spalten

P^T: transponierte Matrix der Ladungen mit d Zeilen und p Spalten

E: Residuenmatrix der X-Matrix mit n Zeilen und p Spalten

Gleichung 2.4 Zerlegung der Spektren-Matrix mittels PCA (Otto 1997)

Die Hauptkomponenten werden nach dem Kriterium maximaler Varianz bestimmt, damit die maximale Information der ursprünglichen Datenmatrix beschrieben werden kann. Daraus ergibt sich, dass bei der PCA die erste Hauptkomponente den größten Varianzanteil der spektralen Daten beschreibt, die zweite den zweitgrößten usw., bis nur noch eine Residualmatrix (E) resultiert, die idealerweise nur aus unsystematischen Messfehlern (Rauschen) besteht. Da sich bei der PCA die Gewichtsvektoren (P) auf alle spektralen Unterschiede der Proben beziehen und nicht nur auf diejenigen, die in Zusammenhang mit der Referenzdaten-Matrix (Y) stehen, kann sich an die PCA eine multiple lineare Regression anschließen (Gleichung 2.5), in der die ermittelten Hauptkomponenten (T) mit diesen tatsächlich wichtigen Informationen über die Matrix (Q) korreliert werden. Die Residuen-Matrix F beschreibt den unsystematischen Fehler der Referenzdaten.

$${}_n \mathbf{Y}^m = {}_n \mathbf{T}^d * {}_d \mathbf{Q}^T m + {}_n \mathbf{F}^m$$

Y: Datenmatrix aus n Zeilen (Objekte) und m Spalten (Merkmale)

T: Matrix der Faktorenwerte mit n orthogonalen Zeilen und d Spalten

\mathbf{Q}^T : transponierte Matrix der Ladungen mit d Zeilen und m Spalten

F: Residuenmatrix der Y-Matrix mit n Zeilen und m Spalten

Gleichung 2.5 Zerlegung der Referenz-Matrix bei einer PCR (Otto 1997)

2.4.2 Partial Least Square-Regression (PLS)

Die PLS-Regression ist ebenfalls ein multivariater Algorithmus zur Beschreibung der Beziehung zwischen bilinearen Matrizen und wurde bereits in den frühen achtziger Jahren von H. Wold entwickelt. Im Prinzip ähnelt das Verfahren der PCR, hat jedoch den entscheidenden Vorteil, dass die Spektren-Datenmatrix X und die Referenz-Datenmatrix Y gleichermaßen verwendet werden, um die Beziehung zwischen beiden optimal zu beschreiben. Die ersten Hauptkomponenten enthalten im Gegensatz zur PCR nicht die größten generellen Unterschiede zwischen den Spektren, sondern die relevantesten Unterschiede in bezug auf die Referenzdaten. Hierdurch wird die Beurteilung des Kalibrierungsmodells vereinfacht und das Signal zu Rausch Verhältnis der Informationen verbessert. In der Literatur kann die PLS-Regression mittlerweile als die am häufigsten in der quantitativen NIR Spektroskopie verwendete Methode angesehen werden.

Für die Beschreibung einer einzelnen Y-Variablen verwendet man einen orthogonalen PLS 1 Algorithmus. Wenn mehrere Y Variablen simultan beschrieben werden sollen, gibt es die Möglichkeit einen orthogonalen PLS 2 Algorithmus zu verwenden (Martens, Næs 1989).

2.4.3 Validierung

Validierung bedeutet im Allgemeinen die Überprüfung, ob eine Methode unter den festgelegten Bedingungen zuverlässig zum richtigen Ergebnis führt. Beim Einsatz von multivariaten Verfahren in der NIR-Spektroskopie versteht man unter Validierung die Bestimmung der Anzahl von signifikanten Hauptkomponenten, die für die optimale Beschreibung einer Faktorenanalyse gerade notwendig sind. Es müssen die Faktoren abgetrennt werden, die unsystematisches Rauschen beschreiben und somit eine Überanpassung des Modells bewirken.

Man unterscheidet in der Chemometrie zwischen externer und interner Validierung. Ein Beispiel für eine externe Validierung stellt die Test-Set-Validierung dar. Hierbei ist eine mindestens gleichgroße Anzahl unabhängiger Testproben erforderlich um eine Abschätzung über die Aussagekraft des Kalibrierungsmodells und die Faktorenauswahl zu machen. Eine solche Validierung ist sehr aufwendig und kostenintensiv, da hierbei alle Testproben zusätzlich mit einer validierten Referenzmethode analysiert werden müssen, und gerade das soll mit dem Einsatz der multivariaten Kalibrierung vermieden werden.

Im Zusammenhang mit der in Kapitel 2.4.2 beschriebenen PLS-Regression soll hier näher auf die interne Validierung eingegangen werden.

Besonders für kleinere Datensätze bietet sich mit der Kreuzvalidierung (crossvalidation, CV) eine weit verbreitete interne Validierungsmethode an. Sie eignet sich besonders für die Methodenentwicklung oder für die Durchführung von Machbarkeitsstudien, wenn eine große Probenanzahl noch nicht verfügbar ist, denn alle verfügbaren Proben werden sowohl zur Kalibrierung als auch zur Validierung des Modells verwendet. Für jede hinzukommende Hauptkomponente wird jedes Spektrum einmal aus dem Datensatz entfernt und mit den restlichen Spektren ein Hauptkomponentenmodell berechnet. Dieses Modell wird anschließend zur Vorhersage der ausgelassenen Daten verwendet, wobei der Fehler zwischen den ursprünglichen und den vorhergesagten Werten als mittlerer Vorhersagefehler der Kreuzvalidierung (RMSECV) ermittelt und als Bewertungskriterium für das Kalibrierungsmodell angegeben wird (Martens, Næs 1989).

Es gibt noch weitere Leistungsparameter die zur Beurteilung einer Kreuzvalidierung herangezogen werden können (Bruker Analytik GmbH 1998):

- **MSE:** (Mean square Error) ist der mittlere Vorhersagefehler und wird durch die Quadratsumme der Differenz zwischen den gemessenen (Y_i^{meas}) und den vorhergesagten Werten (Y_i^{pred}) angegeben und kann auch als Quadratsumme der Residuen bezeichnet werden.

$$MSE = \sum_{i=1}^M (Y_i^{meas} - Y_i^{pred})^2$$

Gleichung 2.6 Mittlerer Vorhersagefehler (MSE)

- **RMSECV:** (root mean square error of cross validation) ist der mittlere Vorhersagefehler der Kreuzvalidierung und wird als Bewertungskriterium für die Qualität der Kreuzvalidierung herangezogen. Man berechnet für alle Proben der Kreuzvalidierung (M) die Wurzel aus dem mittleren Abweichungsquadrat der gemessenen (Y_i^{meas}) und der vorhergesagten Werten (Y_i^{pred}).

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{M} * \sum_{i=1}^M (Y_i^{meas} - Y_i^{pred})^2}$$

Gleichung 2.7 Mittlerer Vorhersagefehler der Kreuzvalidierung (RMSECV)

- **R²:** Das Bestimmtheitsmaß beschreibt das Verhältnis aus der Quadratsumme, die durch die Faktoren beschrieben wird und der um den Mittelwert (y_m) korrigierten Quadratsumme. Es gibt die Varianz der Referenzwerte (Y_i^{meas}) in Prozent an, die durch die vorhergesagten Werte (Y_i^{pred}) erfasst wird. Bei der PLS-Regression stimmt das Bestimmtheitsmaß mit dem multiplen Korrelationskoeffizienten überein und wird im Folgenden als Korrelationskoeffizient bezeichnet

$$R^2 = \left(1 - \frac{\sum (Y_i^{meas} - Y_i^{pred})^2}{\sum (y_i - y_m)^2} \right) * 100$$

Gleichung 2.8 Bestimmtheitsmaß (R²)

- **Rang**: Gibt die Anzahl an PLS Vektoren (Faktoren/ Hauptkomponenten) an, die nötig sind um das Model optimal zu beschreiben.
- **Spectral Residual**: Das Residual ist der nicht zu berücksichtigende Anteil an Restvarianz, der aus unsystematischem Fehler (Rauschen) besteht und bei der Faktoranalyse von den relevanten Hauptkomponenten abgetrennt wird. Das Spectral Residual berechnet sich aus der Summe aller Datenpunkte des Differenzspektrums aus Originalspektrum (x) und aus dem, aus PLS Vektoren rekonstruiertem Spektrum (s_i). Der Wert wird zur Erkennung von Ausreißern verwendet, je größer das spectral residual, desto wahrscheinlicher ist die Probe ein Ausreißer.

$$\sqrt{\sum (x_i - s_i)^2}$$

Gleichung 2.9 Spectral Residual

- **Mahanalobis Distanz** Ist ein Abstandsmaß zur Bewertung der spektralen Ähnlichkeit von Objekten. Je geringer der Abstand bzw. die Mahanalobis Distanz von Objekten ist, desto ähnlicher sind sie sich. Während einer PLS-Regression wird von jedem Kalibrierungsspektrum die Mahanalobis Distanz ermittelt, anschließend wird aus diesen Werten ein Schwellenwert bestimmt, der es ermöglicht, unbekannte Spektren anhand ihrer Mahanalobis Distanz einzuordnen und Ausreißer zu entfernen.

2.4.4 Spektrenvorbehandlung

Unter Spektrenvorbehandlung versteht man mathematische Verfahren, um NIR-Spektren so zu verändern, dass sich erwünschte Merkmale deutlicher darstellen lassen, störenden Einflüsse hingegen minimiert werden. Das Ziel dieser Vorgehensweise ist es, die Komplexität der Spektren zu verringern und somit die Interpretation der Daten mittels Faktoranalysen zu vereinfachen.

Einflüsse auf das Spektrum können unterschiedliche Ursachen haben und müssen individuell betrachtet werden, je nachdem welche Parameter für die jeweilige Bestimmung relevant sind.

Es gibt geräteabhängige Einflüsse auf das Spektrum die sich z. B. durch ein zu hohes Signal/Rausch-Verhältnis auswirken. Hierunter versteht man unsystematische Abweichungen im Spektrum, dessen Ursache eine unzureichende optische Auflösung oder eine zu hohe Grundvibration des Detektors sein kann. Die Pharmakopöen stellen genaue Anforderungen an die Funktionsfähigkeit von NIR-Spektrometern und legen in den entsprechenden Monographien Grenzwerte für Wellenlängenunsicherheit, Photometrische Linearität und Signal-Rausch-Verhältnis fest (2nd Supplement, USP-NF 2002).

Da bei der PLS-Regression das gesamte Spektrum zur chemometrischen Auswertung verwendet werden kann, hat man durch Auswahl bestimmter Frequenzen die Möglichkeit, Bereiche, die störende Banden oder keine Informationen erhalten, abzutrennen.

Es gibt additive Effekte, die eine gesamte oder wellenlängenabhängige Verschiebung der Basislinie des Spektrums verursachen. Eine solche Veränderung im Spektrum kann z. B. durch Änderung der Probenpositionierung oder durch Korngrößenunterschiede innerhalb der Probe bei Messungen in diffuser Reflexion auftreten.

Weiterhin sind multiplikative Effekte bekannt, die in erster Linie auf eine Änderung der Probenschichtdicke zurückzuführen sind, sich aber auch durch Streueffekte begründen lassen. Meistens beinhalten NIR-Spektren eine Kombination aus allen Einflüssen, daher ist es erforderlich mehrere Vorbehandlungen zu testen und zu vergleichen, mit welcher die genaueste Kalibrierung zu erzielen ist.

In dieser Arbeit wurden Vektornormierung, multiplikative Streukorrektur und die erste und zweite Ableitung nach Savitzky-Golay Algorithmus verwendet um Spektren mathematisch umzuformen.

2.4.4.1 Vektornormierung

Die Vektornormierung ist eine Streukorrektur, die hauptsächlich multiplikative Effekte innerhalb der Spektren durch eine Basislinienkorrektur (Offset-Korrektur) minimiert. Hierbei wird zunächst der mittlere y-Wert des Spektrums berechnet und vom gesamten Spektrum abgezogen, wodurch die Mitte des Spektrums auf y=0 heruntergezogen wird. Danach wird das Spektrum durch die Quadratwurzel aller y-Werte dividiert. Die Vektor-Norm des Ergebnisspektrums ist 1 (Bruker Analytik GmbH).

$$\sum_{i=1}^{NPT} (x_i)^2 = 1$$

Gleichung 2.10 Vektornormierung

2.4.4.2 Ableitung nach Savitzky-Golay

Eine Ableitung eines Spektrums wird gebildet, um eine höhere Auflösung bei sich überlagernden Banden und eine Verminderung der Basislinienverschiebung durch Streueffekte zu erhalten. Die Ableitung folgt demselben Prinzip wie bei der Kurvendiskussion. In Abbildung 2.4.1 sind die Transformationen der Kurvenparameter bei der Bildung von Ableitungen dargestellt.

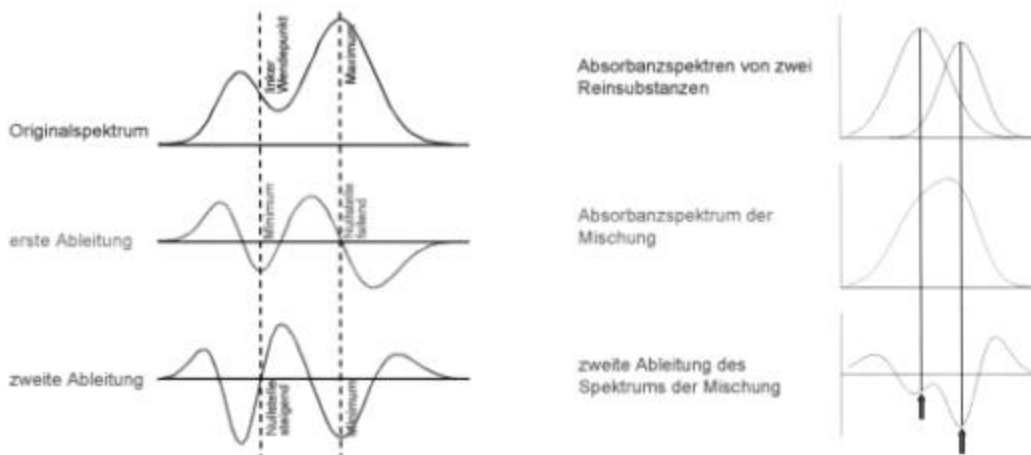


Abbildung 2.4.1 Transformation durch Bildung von Ableitungen (Quelle Horn, Winzen)

Bei dem Ableitungsverfahren nach Savitzky-Golay ist zusätzlich eine Polynomglättung integriert (Abbildung 2.4.2), wodurch das schlechtere Signal-Rausch-Verhältnis verbessert wird, welches bei der Bildung von Ableitungen auf Grund der höheren spektralen Auflösung entsteht.

Bei der Glättung der Daten durch den Savitzky-Golay-Filter ist auf die Wahl der Segmentbreite zu achten, da zu große Filterbreiten zu einer Verringerung der Höhe bei gleichzeitiger Verbreiterung der Banden führen (Otto 1997). Hierdurch können wichtige Informationen verloren gehen.

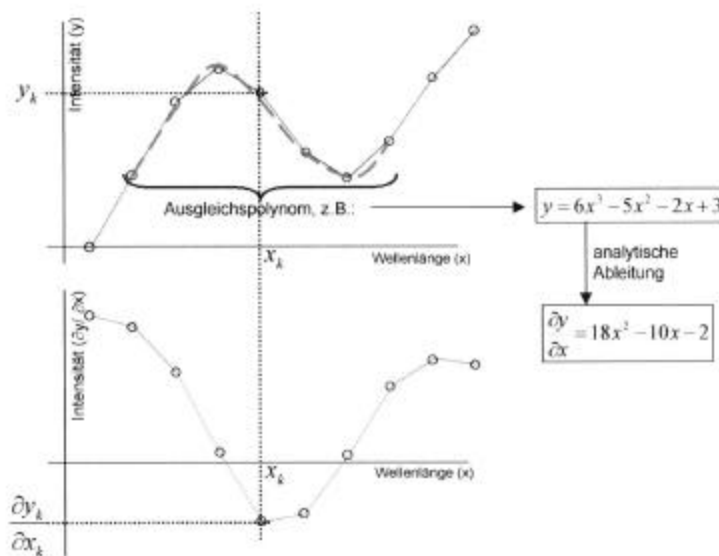


Abbildung 2.4.2 Polynomglättung nach Savitzky-Golay (Quelle Horn, Winzen)

2.4.4.3 Multiplicative Scatter Correction (MSC)

Die MSC ist eine kombinierte Streukorrektur, die sowohl additive als auch multiplikative Streueffekte in den Spektren vermindert. Mathematisch gesehen handelt es sich um eine univariate lineare Regression, bei der die Koeffizienten a und b ermittelt werden, um alle Spektren an ein gemeinsames Mittelwertspektrum anzupassen, wobei die Summen der Fehlerquadrate gegenüber dem Zielspektrum minimiert werden (Gleichung 2.11). Gleiche Informationen werden auf diese Weise vermindert, Bereiche mit systematischen Abweichungen differenzierter dargestellt.

Diese Spektrenvorbehandlung eignet sich besonders zur Streukorrektur bei der quantitativen Auswertung von Reflexionsspektren fester Arzneiformen.

$$x^{MSC} = \frac{x-b}{a}$$

Gleichung 2.11 Multiplikative Streukorrektur

2.4.4.4 JCAMP-Format

Die Transformation ins JCAMP Format ist in dem Sinne keine Spektrenvorbehandlung, sie dient vielmehr dazu, Spektren zum Transfer zwischen verschiedenen Datenträgern in ein geeignetes Austauschformat zu bringen.

In dieser Arbeit wurde das JCAMP Format verwendet um Spektren unterschiedlicher, spektrometerspezifischer Dateiformate zu vereinheitlichen, um sie dann mit Hilfe einer unabhängigen Software vergleichen zu können.

Das JCAMP/DX-Format hat sich als das wichtigste Austauschformat in der Spektroskopie erwiesen und wurde vom **J**oint **C**ommittee on **A**tomic and **M**olecular Data erarbeitet.

Der wichtigste Vorteil einer JCAMP-Datei ist die allgemeine Verwendbarkeit des Dateiformates für verschiedenste Spektren. Der Text der Datei enthält nur ASCII-Zeichen und ist daher universell lesbar, das Format ist flexibel, erweiterungsfähig und kann kompakte Informationen zur Probe enthalten (Otto 1997).

3 Material und Methoden

3.1 Verwendete Materialien – Teil 1

3.1.1 Lactose

Lactose wird in der pharmazeutischen Technologie hauptsächlich als inerte Füllstoff bei der Herstellung von festen Arzneiformen eingesetzt und ist einer der am häufigsten verwendeten pharmazeutischen Hilfsstoffe (ICH Sevilla 1997). Das Patent zur Herstellung von α -Lactose-Monohydrat aus Molke besteht seit 1937 und mittlerweile gibt es viele Produkte mit unterschiedlicher Funktionalität, deren physikalische Eigenschaften und Verwendungsmöglichkeiten sich je nach Herstellungsprozess voneinander unterscheiden. In dieser Arbeit wurden verschiedene α -Lactose-Monohydrate der Firmen Meggle, D-Wasserburg und DMV, NL-Vegeel zur Untersuchung mittels Nahinfrarotspektroskopie verwendet, da sie den harmonisierten Anforderungen der Pharmakopöen (Ph.Eur., USP/NF, JP) entsprechen und somit weltweit Verwendung finden (Tabelle 3.1).

Kristalline α -Lactose-Monohydrate werden aus Molke unter 93 °C auskristallisiert und gesiebt. Sie besitzen auf ihrer Oberfläche eine charakteristische monomolekulare Adsorptionsschicht, die mögliche Verunreinigungen aus dem Herstellungsprozess enthält. Die verschiedenen Siebfraktionen werden je nach Korngrößenverteilung als unterschiedliche Produkte vertrieben.

Durch Mahlen werden die Oberflächeneigenschaften der kristallinen Lactosen verändert, denn die Partikel erhalten durch diesen Prozess Bruchoberflächen und andere physikalische Eigenschaften.

Weiterhin gibt es agglomerierte Lactosen, die durch Dampfagglomeration mit Wasserdampf hergestellt werden. Diese Krustengranulate weisen durch ihre poröse Struktur nahezu plastische Verformungseigenschaften auf und sind auch wegen der guten Fließeigenschaften der sphärischen Partikelform optimal zur Direkttablettierung geeignet.

Andere Lactose-Produkte werden durch Sprühtrocknung aus gesättigter Mutterlauge hergestellt. Hierbei bilden sich kugelige Partikel ähnlich eines Klebstoffgranulats, deren kristalliner Anteil durch amorphe Feststoffbrücken verklebt ist. Das Produkt erhält hierdurch plastische Verformungseigenschaften und gute Fließeigenschaften und ist daher ebenfalls für die Direkttablettierung geeignet.

Handelbezeichnung	Herstellung	Wassergehalt nach Karl-Fischer in %	Mittlere Korngröße in μm
GranuLac 70	gesiebt	4,88	212
GranuLac 140	gesiebt	4,78	106
GranuLac 200	gesiebt	4,77	75
GranuLac 230	gesiebt	4,84	63
SorboLac 400	gesiebt	4,83	38
PrismaLac 40	gemahlen	4,81	425
Capsulac 60	gemahlen	4,94	250
SacheLac 80	gemahlen	4,79	180
SpheroLac 100	gemahlen	4,81	150
Tablettose 70	agglomeriert	4,89	212
Tablettose 80	agglomeriert	4,86	180
FlowLac 100	sprühgetrocknet	4,96	150
Pharmatose 50M	gesiebt	5,23	290
Pharmatose 80M	gesiebt	5,02	180
Pharmatose 90M	gesiebt	4,75	135
Pharmatose 100M	gesiebt	5,01	130
Pharmatose 110M	gesiebt	4,81	105
Pharmatose 125M	gesiebt	4,66	55
Pharmatose 150M	gemahlen	5,22	50
Pharmatose 200M	gemahlen	5,27	40
Pharmatose 325M	gemahlen	4,85	50
Pharmatose 350M	gemahlen	5,11	30
Pharmatose 450M	gemahlen	4,84	20
Pharmatose DLC 11	sprühgetrocknet	4,78	110
Pharmatose DCL 15	granuliert	4,84	140

Tabelle 3.1 α -Lactose-Monohydrate

3.1.2 Magnesiumstearat

Magnesiumstearat ist ein zweiwertiges Metallsalz eines Fettsäuregemisches, welches zu 40-65 % aus Stearinsäure und zu 27-51 % aus Palmitinsäure besteht. Durch den Herstellungsprozess können als Verunreinigungen auch Ölsäure oder anderen Fettsäuren enthalten sein.

Der Hilfsstoff wird in der pharmazeutischen Technologie hauptsächlich als Schmiermittel bei der Herstellung von festen Arzneiformen eingesetzt, wobei das tribologische und pharmazeutisch-technologische Verhalten dieser Substanz schon ausführlich von Steffens 1978 und Koglin 1992 charakterisiert wurde.

Die Fettsäuren zur Herstellung von Magnesiumstearat können pflanzlicher oder tierischer Herkunft sein, in der heutigen Zeit wird jedoch aufgrund der BSE-Problematik eher auf den Einsatz tierischer Fettsäuren verzichtet (Friedrich 2002).

Magnesiumstearate können aufgrund Ihres Herstellungsprozesses und des dafür verwendeten Ausgangsmaterials in verschiedenen pseudopolymorphen Modifikationen vorliegen (Müller 1977). Es gibt Nadeln mit 2-3 mol Kristallwasser, Plättchen mit 1-2 mol Kristallwasser und amorphe, kristallwasserfreie Strukturen, allerdings sind auch Mischungen und

Übergangszustände realisierbar (Steffens 1978).

Alle diese Magnesiumstearate besitzen aufgrund unterschiedlicher Kristallwassergehalte und Kristallformen eine veränderte Funktionalität, was sich erheblich auf die Qualität der daraus hergestellten Arzneiformen auswirkt (Koglin 1992).

Die Schmiereigenschaften sind im hohen Maße von den physikochemischen Eigenschaften der Substanz abhängig (Barra et al. 1996). Aus diesem Grund ist es problematisch, unterschiedliche Produkte dieses Hilfsstoffes ohne vorhergehende Funktionalitätstests untereinander auszutauschen, obwohl sie den Anforderungen der Pharmakopöen entsprechen (Steffens 2001).

In dieser Arbeit wurden handelsübliche Magnesiumstearate sowohl pflanzlicher als auch tierischer Herkunft verwendet, die nach röntgendiffraktometrischer Untersuchung verschiedene Kristallhabiti aufwiesen (Tabelle 3.2).

Handelsbezeichnung	Herkunft	Kristallhabitus nach Röntgendiffraktometrie	Wassergehalt als Trocknungsverlust in %	
			Infrarotwaage	Thermogravimetrie
BP kosher; J.M.Brown	pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	2,32	2,11
Desitin 434	pflanzlich	Nadeln	5,64	5,39
Desitin 769	pflanzlich	Nadeln	4,64	3,90
Desitin 846	pflanzlich	Nadeln	6,50	5,86
Desitin 866	pflanzlich	amorph	3,41	2,49
Desitin 931	tierisch	amorph	3,10	4,42
HA; Hebron	pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	5,14	4,51
Kemilub; Union Derivan	pflanzlich	amorph	3,25	2,60
Liga Euro; P. Greven	pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	5,33	4,92
Liga Techn.; P.Greven	tierisch	Plättchen/ Nadeln	4,47	4,47
Liga USP; P. Greven	pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	5,66	4,79
MF-2-V; Acros	pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	4,41	3,30
NF Food Grade; Mallinckrodt	tierisch	Plättchen/ Nadeln	3,91	2,94
NF Non bovine; Mallinckrodt	pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	3,88	4,14
Pflanzlich; Lohmann	pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	4,93	3,82
Pharm veg.; Magnesia	pflanzlich	amorph	3,95	3,67
Pharma kosher; Bärlocher	pflanzlich	Nadeln	5,62	5,01
Pharma vegetal; Fagi	pflanzlich	amorph	3,47	3,19
Pharma; Bärlocher	tierisch	amorph	3,43	2,80
Pharma; Fagi	tierisch	amorph	3,66	2,97
PM; Bärlocher	tierisch	Nadeln	5,04	4,54
SW-F; Bärlocher	tierisch	Nadeln	4,36	3,27
Synpro; Ferro	tierisch	Plättchen/ Nadeln	3,76	2,46

Tabelle 3.2 Magnesiumstearate

3.1.3 Mikrokristalline Cellulose

Mikrokristalline Cellulose wird durch saure Partialhydrolyse aus α -Cellulose hergestellt, die aus Nadelholz oder Baumwolle gewonnen wird. In diesem Prozess werden amorphe Cellulosefibrillen mit niedrigem Ordnungsgrad hydrolysiert, wobei der Kristallinitätsgrad zu, der Polymerisationsgrad hingegen abnimmt. Nach Reinigung und Sprühtrocknung der konzentrierten Lösung entsteht ein polykristallines Produkt mit plastischen Verformungs- und guten Fließeigenschaften.

Durch Siebfraktionierung werden Produkte unterschiedlicher Partikelgrößenverteilung erhalten. Weiterhin sind agglomerierte Produkte mit einer mittleren Korngröße von ca. 180 μm erhältlich, die sich durch besonders gutes Fließverhalten auszeichnen. Die technologischen Eigenschaften der Mikrokristallinen Cellulose sind außerdem noch vom Polymerisationsgrad, von der Kristallinität und der spezifischen Oberfläche abhängig (Shlieout et al. 2002).

Mikrokristalline Cellulose wird als Füllmittel zur Direkttablettierung eingesetzt und eignet sich als Bindemittel zur Trockengranulierung. Da es sich bei dem Ausgangsprodukt Zellstoff um natürliches Material handelt, kann es je nach Hersteller, Rohstoff und Anbau bzw. Erntezeitpunkt unterschiedliche Funktionalität aufweisen, wobei diese Änderung der technologischen Parameter unabhängig von der chemischen Reinheit und Monographiekonformität auftritt.

Je nach Verwendung, sind Produkte auf dem Markt erhältlich, die sich hinsichtlich Korngröße und Wassergehalt unterscheiden. Mikrokristalline Cellulose gehört auch zu den zehn am meisten verwendeten Hilfsstoffen nach ICH (Sevilla 1997). Die hier untersuchten Produkte sind in Tabelle 3.3 aufgelistet.

Handelsbezeichnung	Mittlere Korngröße in μm	Wassergehalt nach IR-Trocknungsverlust in %
Avicel PH101; FMC	50	4,73
Avicel PH102; FMC	100	4,82
Avicel PH112; FMC	100	2,86
Avicel PH200; FMC	180	4,13
Avicel PH103; FMC	50	3,78
Emcocel 50M; Penwest	50	4,84
Emcocel 90M; Penwest	90	4,97
Emcocel LP200; Penwest	185	4,56
Mcc Sanaq 101; Pharmatrans Sanaq	50	5,04
Mcc Sanaq 102; Pharmatrans Sanaq	100	5,27
Pharmacel 101; DMV	50	4,24
Pharmacel 102; DMV	100	4,44
Vivapur 101; Rettenmeier	50	5,44
Vivapur 102; Rettenmeier	100	5,39
Vivapur 12; Rettenmeier	180	5,20

Tabelle 3.3 Mikrokristalline Cellulosen

3.1.4 Stärke

Stärke ist ein natürlich vorkommendes pflanzliches Polysaccharid aus 10-30 % Amylose und 70-90 % Amylopektin, welches in der pharmazeutischen Technologie bei der Herstellung von festen Arzneiformen als Füllstoff, Zerfallhilfsmittel und Bindemittel eingesetzt werden kann. Pharmazeutisch genutzte Stärke kann laut ICH aus Mais, Kartoffeln, Reis und Weizen gewonnen werden und unterscheidet sich je nach Ursprung in Korngröße, Teilchenform, Wassergehalt und Kristallinität. Diese physikalischen Parameter sind für den Hilfsstoff bei der Herstellung von Arzneimitteln qualitätsbestimmend.

Die USP grenzt die Verwendung von Stärken durch die Beschränkung des Trocknungsverlustes auf maximal 14 % ein, somit ist hiernach ein Einsatz von Kartoffelstärke mit einem Wassergehalt von bis zu 20 % nicht erlaubt.

Es gibt außer den nativen Produkten modifizierte Stärken, die physikalisch-thermisch z. B. durch Walzenkompaktierung oder chemisch vorverkleistert sind. Durch diese partielle Hydrolyse lassen sich ihre Tablettiereigenschaften erheblich verbessern, sodass sich diese Produkte zur Direkttablettierung eignen.

In dieser Arbeit wurden native Stärken aus Mais, Kartoffel und Weizen und modifizierte Stärken aus Mais untersucht (Tabelle 3.4).

Handelsbezeichnung	Herkunft	Mittlere Korngröße in μm	Wassergehalt als IR- Trocknungsverlust in %
C Pharm 03302; Cerestar	Weißmaisstärke	15	10,10
03402; Cerestar	Maisstärke	15	10,80
C Pharm 03406; Cerestar	Maisstärke	15	10,93
03413; Cerestar	Maisstärke	15	10,18
C Pharm 03415; Cerestar	getrocknete Maisstärke	15	2,08
C Pharm 12012; Cerestar	vorverkleisterte Maisstärke	175	6,20
C Pharm 93000; Cerestar	vorverkleisterte Maisstärke	80	9,66
Amidon de mais B; Roquette	Maisstärke	15	11,74
Extra Weiss; Roquette	Weißmaisstärke	15	10,09
Supra NP Bacterio; Roquette	Kartoffelstärke	35	17,20
Kartoffelstärke; Cerestar	Kartoffelstärke	35	15,05
Kartoffelstärke; Emslandstärke	Kartoffelstärke	35	17,58
Solani Amylum; AVEBE	Kartoffelstärke	35	21,08
Tritici Amylum; AVEBE	Weizenstärke	25	10,83

Tabelle 3.4 Stärken

3.2 Verwendete Materialien-Teil 2

3.2.1 Kaliumaspartat; Magnesiumaspartat

Das Kaliumsalz Hemihydrat der Asparaginsäure $C_4H_6KNO_4 \cdot 0,5 H_2O$ ist ein weißes, leicht wasserlösliches Pulver mit optischer Aktivität. Es hat ein Molekulargewicht von 180,2 und kann laut Ph.Eur. 3,0-7,0 % Gesamtwasser enthalten.

Das Magnesiumsalz Tetrahydrat der Asparaginsäure $C_8H_{12}MgN_2O_8 \cdot 4 H_2O$ ist ebenfalls ein weißes, leicht wasserlösliches Pulver mit optischer Aktivität. Das Molekulargewicht beträgt 360,6 und die Substanz kann laut Ph.Eur. 18,0-22,0 % Gesamtwasser enthalten.

Die Mischung beider Razemate wird in Tomcardin/ -forte Tabletten der Firma Trommsdorff bei Kalium- und Magnesiumdefizit und zur Substitution als Begleittherapie bei Herzinsuffizienz, Rhythmusstörungen und zur Herzinfarktprophylaxe eingesetzt.

Die Wirkstoffdosierung der Tromcardin Tabletten beträgt jeweils 175 mg, der Tromcardin forte Tabletten jeweils 360,5 mg beider Wirkstoffe pro Tablette (Rote Liste 2002).

3.2.2 Polyvinylpyrrolidon

Das organische kettenförmige Polymer aus 1-Ethenyl-2-Pyrrolidinon-Gruppen ($[C_6H_9NO]_n$) wird in den Pharmakopöen auch Povidone (USP, JP, BP) oder Polyvidonum (Ph.Eur.) genannt.

Der Polymerisationsgrad und damit verbunden das mittlere Molekulargewicht der Substanz wird durch den K-Wert angegeben, welcher sich nach USP 25 aus der relativen Viskosität einer wässrigen Lösung errechnen lässt.

In dieser Arbeit wurde Plasdone K-25 von ISP verwendet, welches ein mittleres Molekulargewicht von 30000 aufweist.

Es ist ein feines, cremig weißes, sehr hygroskopisches, leicht wasserlösliches Pulver, deren sphärische Partikel mit einer mittleren Partikelgröße von 100 μm durch Sprühtrocknung hergestellt werden.

In der pharmazeutischen Technologie wird Polyvinylpyrrolidon (PVP) 25 in 0,5-5 % wässriger Lösung hauptsächlich als Bindemittel bei der Feuchtgranulierung zur Herstellung von Klebstoffgranulaten eingesetzt (Kibbe 2000).

3.2.3 Sorbitol

Sorbitol ist ein Zuckeralkohol mit einem Molekulargewicht von 182,17 und wird chemisch auch D-Glucitol oder 1,2,3,4,5,6-Hexanhexol bezeichnet ($C_6H_{14}O_6$).

Sorbitol wird natürlich aus Früchten gewonnen und industriell durch Hydrierung von Glucose hergestellt. Es ist ein geruchloses, weißes, süß schmeckendes, kristallines Pulver, welches in unterschiedlichen Kristallmodifikationen vorkommen kann.

Sorbitol ist sehr hygroskopisch, gut wasserlöslich und wird technologisch als Feuchthaltemittel und als Füllstoff zur Direkttablettierung von festen Arzneiformen, meistens für Lutschtabletten eingesetzt (Kibbe 2000).

In dieser Arbeit wurde das sprühgetrocknete Sorbitol Karion instant der Firma Merck mit mittlerer Partikelgröße von ca. 300 μm als Feuchthaltemittel und Bindemittel bei der Feuchtgranulierung verwendet.

3.2.4 Hydroxypropylcellulose

Die Herstellung des nichtionischen Celluloseethers erfolgt aus gereinigter α -Cellulose, die unter Temperatur und Druck mit Propylenoxid verethert wird. Durch diesen Prozess entsteht ein kettenförmiges teilsubstituiertes Polymer unterschiedlicher Länge, dessen mittleres Molekulargewicht zwischen 50000-1250000 liegen kann. In der Handelsbezeichnung wird der Polymerisierungsgrad oft durch die Bestimmung der dynamischen Viskosität einer wässrigen Lösung definierter Konzentration angegeben, die bei dem hier verwendeten Produkt Methocel E5 von Colorcon 5 $mPa \cdot sec$ beträgt. Das weiße bis leicht gelbliche, geschmacks- und geruchslose Pulver wird bei der Herstellung von festen Arzneiformen, je nach Substitutionsgrad und Konzentration, als Bindemittel, Filmbildner, Retardierungsmatrix oder Sprengmittel verwendet. Hydroxypropylcellulose ist in Wasser unter 38 °C kolloidal löslich, zwischen 40-45 °C bildet sich ein unlösliches Gelgerüst (Kibbe 2000).

In der Formulierung in dieser Arbeit wurde Methocel E5 mit einer maximalen Partikelgröße von 150 μm als Bindemittelmittel in der äußeren Phase eingesetzt.

3.2.5 Magnesiumstearat

Die Substanz und deren Einsatzgebiet wurde bereits in Kapitel 3.1.2 beschrieben.

In diesem Teil der Arbeit wurde ein pflanzliches Magnesiumstearat der Firma Magnesia mit einem Trocknungsverlust von 2,3 % und amorpher Struktur als Schmiermittel verwendet.

3.3 Methoden zur Hilfsstoffcharakterisierung-Teil 1

3.3.1 NIR-Spektroskopie

Für die NIRS-Untersuchungen wurde das FT-NIR-Michelson-Interferometer Vector 22/N der Firma Bruker Optik GmbH verwendet, das mit einer Quarzlichtleitersonde zur Messung von pulverförmigen Proben ausgestattet ist. Als Detektor wurde eine Indium-Gallium-Arsenid-Diode mit einem Absorptionsmaximum von ca. 5000 cm^{-1} eingesetzt. Alle Proben wurden in diffuser Reflexion im gesamten NIR-Spektralbereich zwischen 4000-12500 Wellenzahlen gegen einen Referenzstandard aus Seltenenerdenoxiden (Spectralon) gemessen. Die optische Auflösung des Spektrometers lag bei 4 Wellenzahlen, die Signalerfassung erfolgte in Absorption. Von jeder Probe wurden 3 Spektren aufgenommen, wobei jedes Spektrum aus 32 scans gemittelt wurde, was einer Messzeit von etwa 30,5 sec. entspricht. Ein scan entspricht hierbei einer Spiegelbewegung (Kapitel 2.3.1). Da die Probenpräsentation einen entscheidenden Einfluss auf die Spektren hat, ist es nötig, diese Effekte zunächst zu beurteilen und die Messanordnung zu standardisieren (Yoon et al. 1998). Zur Sicherung einer reproduzierbaren Probenvorbereitung wurden ca. 50 ml der zu untersuchenden Probe in ein 100 ml Becherglas gefüllt und durch mehrmaliges Aufstampfen komprimiert. Zur Messung wurde die auf einer Hebevorrichtung platzierte Probe so unter der fixierten Fasersonde positioniert, dass diese ca. 3 mm in die Probe eintaucht. In Abbildung 3.3.1 ist die Messanordnung dargestellt, die in dieser Arbeit für Pulver und Granulate verwendet wurde. Zur chemometrischen Auswertung der Spektren wurden die Software OPUS NT 3.1 von Bruker Optik GmbH, Ettlingen und die Software Unscambler 7.6 von Camo ASA, Oslo Norwegen verwendet.



Abbildung 3.3.1 Reflexionsmessung von Pulvern mittels Lichtleitersonde

3.3.2 Wassergehaltsbestimmung nach Karl-Fischer

Die wichtigste maßanalytische Methode zur Wassergehaltsbestimmung ist die Titration nach Karl-Fischer. Mit dieser Methode wird sowohl der Kristallwassergehalt, als auch der oberflächlich absorbierte Wasseranteil einer Substanz bestimmt. Die allgemeine chemische Grundlage dieser Methode stellte die Bunsen Reaktion (Gleichung 3.1) dar, in der die Oxidation von Schwefeldioxid durch Jod in Gegenwart von Wasser beschrieben wird:



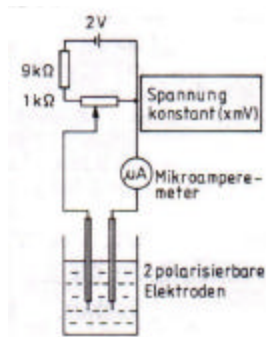
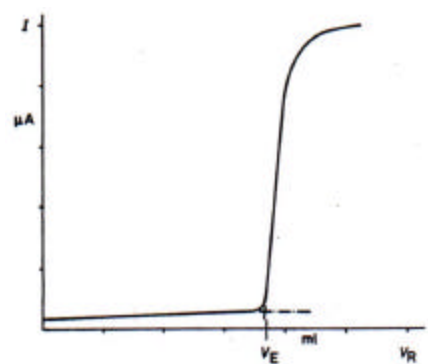
Gleichung 3.1 Bunsen Reaktion

Prinzipiell gibt es zwei Verfahren, die zur Wassergehaltsbestimmung nach Karl-Fischer geeignet sind, die volumetrische und die coulometrische Titration. Bei der Karl-Fischer-Coulometrie wird das zur Reaktion erforderliche Iod nicht als Maßlösung zugegeben, sondern im Titriergefäß selbst durch elektrochemische Oxidation erzeugt. Diese Methode eignet sich besonders zur Spurenanalytik (Wieland 1985).

In dieser Arbeit wurde mit einem volumetrischen Titrator DL 35 der Firma Mettler Toledo gearbeitet, der den Anforderungen der Methode 2.5.12 der Europäischen Pharmakopöe entspricht und zur Bestimmung größerer Wassermengen verwendet wird. Es wurden jeweils 0,5 g Substanz in 10,0 ml Formamid als Lösungsmittel 15 min bei 60 °C im Ultraschallbad gelöst.

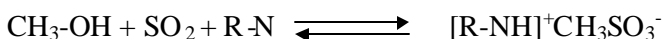
Generell kann die Endpunktbestimmung durch Messung des Iod-Überschusses visuell, photometrisch oder elektrometrisch erfolgen.

In dieser Arbeit wurden Platinelektroden zur bipotentiometrischen Endpunktbestimmung eingesetzt.

Abbildung 3.3.2 Bipotentiometrie
(Rücker, Neugebauer, Willems)Abbildung 3.3.3 Dead-Stop Titration
(Kommentar zur Ph.Eur. 1997)

In Abbildung 3.3.2 ist das Messprinzip der Biamperometrie dargestellt, welches in dieser Arbeit zur elektrochemischen Endpunktbestimmung bei der Karl-Fischer-Titration genutzt wurde (Abbildung 3.3.3).

Als Lösungsmittel in der Vorlage wurde Karl-Fischer-Reagenz S; Merck verwendet, das aus einer Mischung von Methanol, Schwefeldioxid und Imidazol besteht und somit das Anion des Imidazol-Methylsulfid-Komplexes als reaktive Komponente bildet:



Gleichung 3.2 Karl-Fischer-Reagenz S; Merck

Als Titriermittel wurde Karl-Fischer-Reagenz 5; Merck, eine iodhaltige Methanollösung, eingesetzt.

Im Gegensatz zu den klassischen Karl-Fischer Reagenzien, die Pyridin, SO₂ und Iod im Molverhältnis 1:1:4 in Methanol enthielten, erfolgt mit den modernen Reagenzien die Endpunktseinstellung sicherer, der Methodenfehler ist verbessert und die Titrierbeständigkeit erhöht (Wieland 1985).

Das in Gleichung 3.2 gebildete Imidazo-Methylsulfid-Anion wird in Anwesenheit von Wasser zu Imidazo-Methylsulfat oxidiert, das Iod wird zu Iodid reduziert, folglich wird Wasser proportional zur Reaktion verbraucht. Bei der Titration reagieren SO₂, I₂ und H₂O im Molverhältnis 1:1:1 nach der Gesamtgleichung:



Gleichung 3.3 Karl-Fischer-Reaktion

Diese Reaktion läuft nur bis zum vollständigen Verbrauch des Wassers in der Probe ab, denn anschließend wird weiter hinzugegebenes Iod an der Kathode reduziert.

Gleichzeitig in der Lösung vorliegendes Jodid wird an der Anode zu Iod oxidiert, wodurch ein Stromfluss entsteht, der den Äquivalenzpunkt und somit das Ende der Titration induziert.

Beim Titrator Mettler DL 35 wird die Titration bei einem Stromfluss von 10 µA automatisch beendet.

Diese Reaktion wird auch als Dead-Stop-Titration (Abbildung 3.3.3) bezeichnet, da die Stromstärke (I in µA) am Äquivalenzpunkt (V_E) fast Null beträgt und erst danach ansteigt. Die Titrationskurve stellt die amperometrische Indikation der Karl-Fischer Titration bei kontinuierlicher Reagenzzugabe (V_R in ml) dar (Ph.Eur.97).

3.3.3 Thermoanalytische Methoden

Zur Bestimmung des Wassergehaltes von Substanzen können auch physikalische Verfahren eingesetzt werden. Die Europäische Pharmakopöe 1997 beschreibt die gravimetrische Bestimmung des Trocknungsverlusts im Trockenschrank (Methode 2.2.32) und die Thermogravimetrie (TG) (Methode 2.2.34). Ein anderes gravimetrisches Verfahren stellt die Infrarot-Trocknungswaage (IR-Waage) dar.

Weiterhin gehört die dynamische Differenzialkalorimetrie (Differential Scanning Calorimetrie (DSC)) zu den thermoanalytischen Verfahren, die jedoch eher zur Charakterisierung der Bindung des Wassers in der Probe geeignet ist.

Das gemeinsame Prinzip dieser Verfahren beruht auf der Messung von physikalischen Eigenschaften einer Substanz als Funktion der Temperatur. Je nach Methode und Bindungstyp des Wassers erfolgt die vollständige Erfassung stufenweise mit steigender Temperatur, da zunächst der oberflächlich adsorbierte, danach erst der als Kristallwasser stöchiometrisch gebundene Wasseranteil bestimmt wird.

3.3.3.1 Trockenschrank

Die Bestimmung des Trocknungsverlustes im Trockenschrank durch Kontakt und Konvektion wird in der Europäischen Pharmakopöe u.a. in den Monographien Magnesiumstearat, Mikrokristalline Cellulose und Stärke vorgeschrieben.

In dieser Arbeit wurde Kartoffelstärke 90 min bei 130 °C, Mais- und Weizenstärke bei 100-105 °C getrocknet.

Zur Bestimmung des adsorbtiv gebundenen Wassers schreibt die USP in der Monographie Lactose vor, die Substanz 2h bei 80 °C im Trockenschrank zu trocknen. Der Trocknungsverlust errechnet sich aus der Gewichts Differenz vor und nach der Trocknung in % bezogen auf die Einwaage

3.3.3.2 Infrarot-Trocknungswaage

Eine schnellere Methode für den Laborgebrauch stellt die Infrarot (IR)-Trocknungswaage dar, bei der die Trocknung durch Strahlung erfolgt. Sie ist zur Bestimmung des Trocknungsverlustes bzw. zur Restfeuchtebestimmung von pulverförmigen Substanzen und Zwischenprodukten bei der Herstellung von festen Arzneiformen z.B. Granulaten geeignet.

In dieser Arbeit wurde die IR-Trocknungswaage MA 40 Moisture Analyzer von Sartorius alternativ zum Trockenschrank zur Bestimmung von Magnesiumstearat und Mikrokristalliner Cellulose, sowie zur Restfeuchtebestimmung von Granulaten eingesetzt. Etwa 3 g jeder Probe wurde hierbei auf einer Aluminiumschale mit einem Durchmesser vom 90 mm ca. 4 Minuten bis auf 105 °C erhitzt und der Massenverlust prozentual als Trocknungsverlust bestimmt.

3.3.3.3 Thermogravimetrie (TG)

Bei der Thermogravimetrie wird die Probe in einer kontrollierten Stickstoff-Atmosphäre einem Temperaturprogramm unterzogen, wobei der Massenverlust pro Zeit bis zur Massenkonstanz als Thermogramm oder thermische Zersetzungskurve aufgezeichnet wird. Die empfindliche Analysenwaage registriert alle physikalischen und chemischen Zersetzungsvorgänge in der Probe, die mit Massenänderungen einhergehen.

In dieser Arbeit wurden Magnesiumstearate und Lactosen mit der TGA 7 Pyris von Perkin Elmer bei verschiedenen Geräte-Parametern untersucht, wobei jeweils ca. 3 mg der Substanz in einem offenen Platin-Tiegel abgewogen wurden.

Die Lactosen wurden von 40-250 °C mit einer Heizrate von 7 K/ min geheizt, die Magnesiumstearate von 40-160 °C bei 5 K/ min.

3.3.3.4 Differential Scanning Calorimetrie (DSC)

Die DSC (dynamische Differenzialkalorimetrie) eignet sich ebenfalls zur Bestimmung von temperaturbedingten Änderungen der Probensubstanz. Bei diesem kalorimetrischen Verfahren werden Wärmestromunterschiede zwischen Probenkammer und Referenzkammer gemessen, die Aufschluss auf alle Phasenumwandlungen innerhalb einer Substanz geben. Die Probe wird einem Temperaturprogramm in kontrollierter Stickstoff-Atmosphäre unterworfen, wobei ein Thermogramm Aufschluss über die Enthalpie-Änderung pro Zeit- oder Temperatureinheit gibt. Neben Schmelzpunkt, Gefrierpunkt und Zersetzungspunkt, können Glasübergang und Umkristallisierungsvorgänge wie z. B. Modifikationsänderungen oder Hydratwasserverlust bestimmt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde die unterschiedliche Bindung von Wassermolekülen in Lactosen und Magnesiumstearaten mittels DSC 204 Phoenix von Netzsch untersucht. Hierbei wurden jeweils ca. 3 mg Substanz in einen Aluminium-Tiegel mit perforiertem Deckel gefüllt. Lactosen wurden von 35-270 °C bei 5 K/ min geheizt, Magnesiumstearate von 30-130 °C bei 5 K/ min.

3.3.4 Röntgendiffraktometrie

Die Beugung von monochromatischen Röntgenstrahlen kann mit Hilfe der Bragg'schen Reflexionsgleichung (Gleichung 3.4) zur Bestimmung des morphologischen Zustandes und der Kristallstruktur von Substanzen genutzt werden.

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

(n) Beugungsordnung

(λ) Wellenlänge des monochromatischer Röntgenstrahls

(d) Abstand der benachbarten Netzebenen im Kristallgitter

(θ) Winkel zwischen Primärstrahl und gebeugtem Strahl

Gleichung 3.4 Bragg'sche Reflexionsgleichung

Hierbei wird das bereits 1912 von Laue entdeckte Phänomen der Beugung von Röntgenstrahlen definierter Wellenlänge (λ) an kristallinen Festkörpern genutzt, um deren Aufbau zu charakterisieren. Die Winkel (θ), der bei bekannter Wellenlänge auftretenden Interferenzen, sind vom Kristallgitteraufbau des Festkörpers abhängig.

Zur Strukturanalyse von Substanzen wird heute meistens das Zählrohrverfahren nach Bragg-Brentano eingesetzt, welches es ermöglicht sowohl qualitative, als auch quantitative Aussagen über die Struktur von Verbindung zu machen. Hiermit lassen sich auch physikalische Eigenschaften von pulverförmigen pharmazeutischen Hilfsstoffen aufklären, die deren technologische Funktionalität bestimmen.

In dieser Arbeit wurde die Morphologie von Magnesiumstearaten mit dem Goniometer PW 1830/40 der Firma Philips untersucht.

In Röntgendiffraktogrammen wird der Winkel 2θ (2θ) gegen die Intensität der Strahlung aufgetragen. Bei deren Auswertung werden spitze Peaks mit hoher Intensität kristallinen Bereichen zugeordnet, wohingegen amorphe Strukturen durch breite Peaks geringer Intensität charakterisiert werden. Als Kristallinitäts-Index kann das Verhältnis von Kristall-Peaks zur Gesamtfläche angegeben werden.

3.3.5 Konditionierung von Lactosen

Um den Einfluss von adsorbiertem Oberflächenwasser und gebundenem Kristallwasser auf die Nahinfrarot-Spektren von Lactose zu untersuchen, wurden verschiedene Lactose-Produkte (Tabelle 3.1) unter definierten Bedingungen konditioniert.

Zur Erhöhung des natürlichen Kristallwassergehaltes von α -Lactose-Monohydrat, der bei 4,5-5 % liegt, wurden jeweils ca. 5 g Substanz in einer offenen Petrischale mit einem Durchmesser von 8 cm im Exsikkator über gesättigten Elektrolytlösungen bei einer kontrollierten Umgebungstemperatur von 20 °C eingelagert (Tabelle 3.5). Zur Schaffung unterschiedlicher konstanter relativer Feuchten wurde die Dampfdruckerniedrigung über gesättigten Elektrolytlösungen gemäß dem 2. Raoult'schen Gesetz ausgenutzt. Da die Temperaturabhängigkeit dieser Feuchten gering ist, eignet sich der Gebrauch solcher Lösungen in Exsikkatoren als „Hygrostatenflüssigkeiten“ (P. H. Stahl).

Zur Erniedrigung des oberflächlich adsorbierten Wassers und des Kristallwassers wurden Lactosen 6 Stunden im Trockenschrank bei 105 °C getrocknet.

Der Gesamtwassergehalt der konditionierten Lactosen wurde anschließend mittels volumetrischer Karl-Fischer-Titration bestimmt (Kapitel 3.3.2)

Elektrolytlösung	relativer Dampfdruck j	relative Feuchte (RH)	Lagerzeit
K ₂ CO ₃ -Lösung	0,44	44 %	166 Stunden
NaCl-Lösung	0,75	75 %	166 Stunden
KCl-Lösung	0,85	85 %	120 Stunden
K ₂ S ₀ ₄ -Lösung	0,975	97,5 %	336 Stunden
H ₂ O	1,0	100 %	336 Stunden

Tabelle 3.5 Lagerungsbedingungen von Lactosen (Quelle Stahl)

An der Sorptionsisotherme von α -Lactose-Monohydrat (Abbildung 3.3.4) ist die geringe Hygroskopizität von Lactose-Monohydrat zu erkennen, weshalb eine vermehrte Wasseraufnahme erst bei Lagerung in relativen Feuchten über 80 % zu erwarten war.

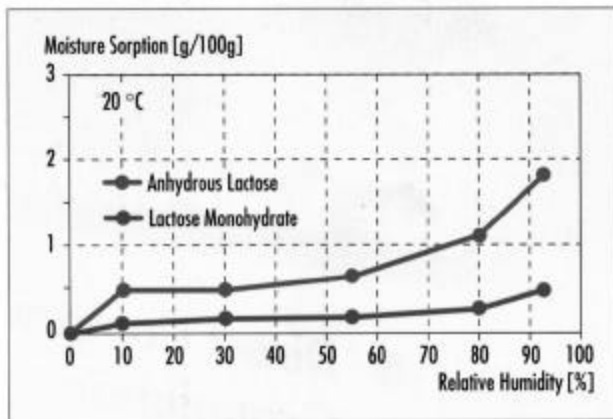


Abbildung 3.3.4 Sorptionsisotherme von α -Lactose-Monohydrat (Quelle Meggle)

3.4 Methoden zur Herstellung der Kalibriermuster – Teil 2

3.4.1 Rezepturenentwicklung

Der erste Schritt bei der Entwicklung einer Gehaltsbestimmung mittels Nahinfrarot-Spektroskopie ist die Festlegung eines ausreichend breiten Kalibrierbereiches für das Spektrometer und die Auswahl geeigneter Kalibriermuster, die diesen Bereich abdecken. Da die Gehaltsabweichungen der Tabletten innerhalb der Produktionschargen zu gering für eine robuste Kalibrierung waren, mussten synthetische Muster unterschiedlichen Gehaltes hergestellt werden, die mit den Produktionsmustern in ihren sonstigen chemischen und physikalischen Eigenschaften möglichst weitgehend übereinstimmten (Blanco et al. 1997). Um dieses zu gewährleisten, wurden 30 Laborchargen mit einer Abweichung der Wirkstoffzusammensetzung von plus/ minus 30 % vom Sollgehalt in enger Anlehnung an die Herstellungsvorschrift für Tromcardin/ -forte Tabletten im Maßstab von 1 kg hergestellt. Die Ermittlung der Wirkstoffzusammensetzung nach dem Zufallsprinzip erfolgte mittels Design-Programm Exd3.cmd.

Die für die Herstellung der Tablettenkerne erforderlichen Hilfsstoffe (Kapitel 3.2) wurden im gleichen Verhältnis untereinander bis zum Endgewicht von 383 mg bzw. 785 mg pro Kern ergänzt.

Ausgehend von einer prozentualen Wirkstoffkonzentration von jeweils 42,5 % in der Originalrezeptur (Tabelle 3.6), wobei die Menge der Granulierflüssigkeit bei dieser Berechnung mitberücksichtigt wurde, wurden die Mischungen in folgender Spannweite hergestellt:

- Kaliumaspartat/ Magnesiumaspartat: 29,75 % - 55,25 %
- Hilfsstoffmischung (in gleichbleibendem Verhältnis untereinander): 10 % - 18 %

Rezeptur	Menge in g	Menge in %
Kaliumaspartat	424,0	42,5
Magnesiumaspartat	424,0	42,5
Gereinigtes Wasser	53,0	5,0
Isopropanol	24,0	2,4
Plasdone K-25	29,0	2,9
Methocel E5	24,0	2,2
Karion instant	18,0	2,0
Magnesiumstearat	5,0	0,5
Gesamtmenge Granulat	1000,0	100,0

Tabelle 3.6 Zusammensetzung Tromcardin Originalgranulat

Die Grenzen der Variationsmöglichkeiten innerhalb der Rezeptur wurden experimentell ermittelt. Sie ergaben sich einerseits durch die festgelegten Tablettenmassen und andererseits durch die Herstellungstechnologie, die nur bedingte Abweichungen im Hilfsstoffanteil zuließ.

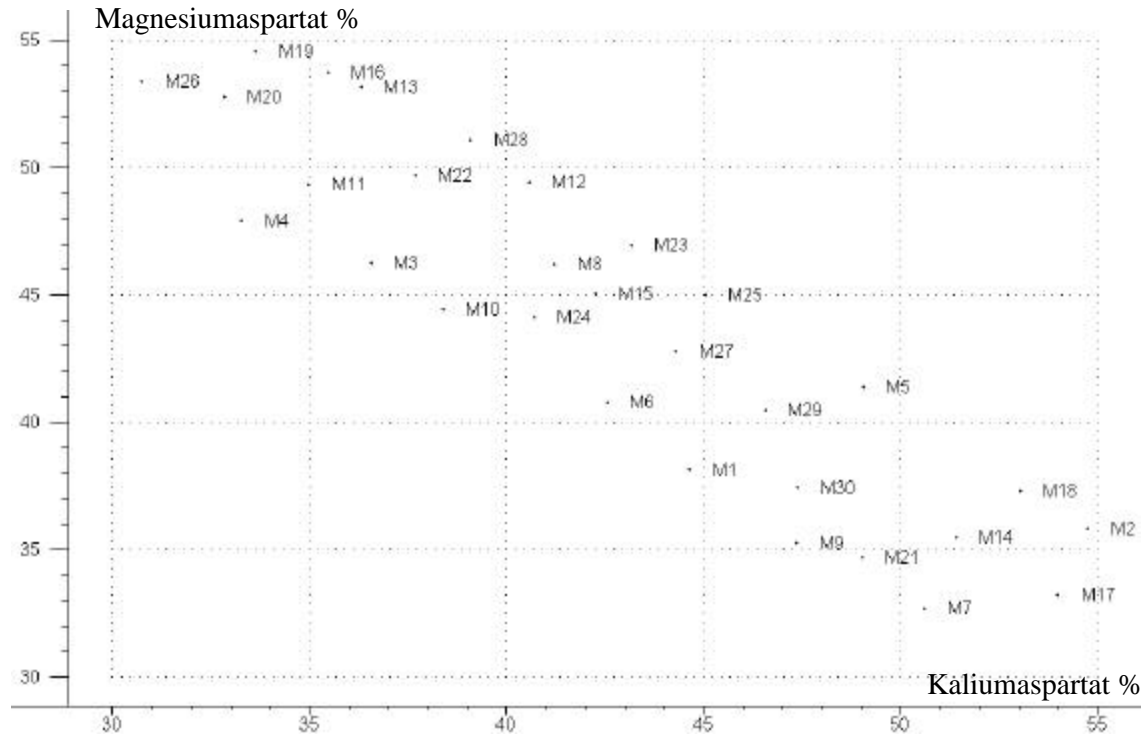


Abbildung 3.4.1 Zusammensetzung der Kalibrierchargen

In Abbildung 3.4.1 zeigt die zufällige Zusammensetzung der 30 Kalibrierchargen in Bezug auf die Wirkstoffe Kaliumaspartat % und Magnesiumaspartat %.

Die Rezepturen der Kalibrierchargen befinden sich im Anhang Kapitel 7.3.

Das Histogramm der Wirkstoffverteilung von Kalium- (KA) und Magnesiumaspartat (MA) bezogen auf die Anzahl der Chargen in Abbildung 3.4.2, zeigt, dass der ausgewählte Kalibrierbereich gleichmäßig abgedeckt wurde.

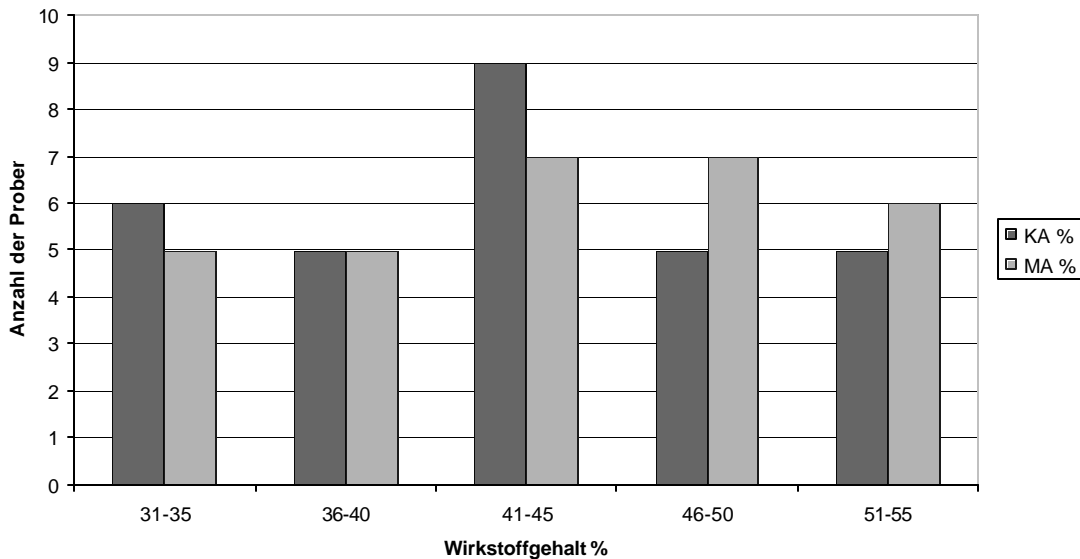


Abbildung 3.4.2 Wirkstoffverteilung der Kalibrierchargen

3.4.2 Granulierung

Gemäß Herstellungsvorschrift der Firma Trommsdorff wird in der Produktion zunächst eine Feuchtgranulierung der Wirkstoffe im Intensivmischer mit anschließender Trocknung des Granulates in der Wirbelschicht durchgeführt. Dieser Prozess ist notwendig, da die Fließigenschaften der Wirkstoffe, die einen Anteil von 85 % der Mischung ausmachen, aufgrund von Kernfluss so schlecht sind, sodass eine Verpressung ohne vorhergehende Granulierung nicht möglich ist.

In Kapitel 3.4.1 wurde bereits erwähnt das ein Scale down des Produktionsansatzes von 272 kg auf einen Laboransatz auf 1 kg durchgeführt wurde, da diese Ansatzgröße zur Herstellung einer ausreichenden Anzahl Kalibriermuster ausreichte.

Um zwischen Produktionschargen und Laborchargen möglichst wenige Abweichungen im physikalischen Aufbau der Granulatpartikel zu erhalten, wurde dieselbe Granulierteknik verwendet (Steffens 1999).

Mit der Hordentrocknung im Trockenschrank wurde eine andere Trocknungstechnik verwendet als in der Produktion. Diese kann zu einem Chromatographie-Effekt führen. Bei der Gehaltsbestimmung stellte sich jedoch heraus, dass dieser Effekt bei einem Wirkstoffgehalt von insgesamt 85 % keine große Auswirkung auf die Gleichförmigkeit des Granulataufbaus hatte.

Beide Wirkstoffe wurden in einem Collette MP 20 Mischer 5 Minuten vorgemischt. Für die Granulierflüssigkeit wurde Polyvinylpyrrolidon und Sorbitol in heißem gereinigtem Wasser gelöst, anschließend mit Isopropanol ergänzt.

Die Granulation erfolgte bei 40 Umdrehungen pro Minute bei einer Pumprate von 0,25 ml pro Sekunde und einer Nachgranulierzeit von 5 Minuten.

Das feuchte Granulat wurde in einem Erweka Siebgranulator mit einer Maschenweite von 1,6 mm nachgranuliert und anschließend in einem Hordentrockenschrank 12 h bei 60 °C getrocknet.

Nachdem die fertige innere Phase des Granulates durch ein 1,25 mm Sieb nachgebrochen wurde, wurde die Restfeuchte mittels IR-Trocknungswaage (Kapitel 3.3.3.2) bestimmt.

Bei einer Restfeuchte von ca. 3 % wurden Hydroxypropylcellulose und Magnesiumstearat 2 Minuten im Turbula-Mischer in einem 2 Liter Mischgefäß zugemischt.

3.4.3 Charakterisierung der Granulate

Das Ziel des Scale downs bei der Herstellung der Kalibriermuster stellte die Herstellung eines vom Aufbau her identischen Granulates mit veränderter Wirkstoffzusammensetzung dar, aus dem sich Tablettenkerne mit den selben physikalischen Eigenschaften hergestellt lassen wie in der Produktion.

Da es hierbei jedoch erforderlich war auch die Hilfsstoffmenge zwischen 10 und 18 % zu variieren (Kapitel 3.4.1) und weil durch die verringerte Ansatzgröße andere Geräte gewählt werden mussten, konnte eine dadurch bedingte Veränderung der physikalischen Eigenschaften der Granulate nicht ausgeschlossen werden.

Um die Einflüsse des Scale downs auf die Granulate genauer zu untersuchen, wurden die 30 Laborchargen anhand der folgenden Parameter mit dem Originalgranulat aus der Produktion verglichen.

3.4.3.1 NIR-Spektren

Die NIR-Spektren der Granulate wurden mit der selben Applikation wie in Kapitel 3.3.1 aufgenommen.

3.4.3.2 Restfeuchte

Die Bestimmung der Restfeuchte von Granulaten erfolgte mittels IR-Trocknungswaage Sartorius MA 40 (Kapitel 3.3.3.2).

3.4.3.3 Partikelgrößenverteilung

Die Partikelgrößenverteilung der Granulate wurde mit dem Laserbeugungsspektrometer Helos 12 KA/LA (Sympatec) mit Hilfe der Schwerkraftdispergierung (System Gradis) untersucht. Das Messprinzip beruht auf einer unterschiedlich starken Beugung eines Laserstrahls durch Partikel, die in den Strahlengang gebracht werden.

Je kleiner die Partikel sind, umso stärker wird der Strahl abgelenkt. Das resultierende charakteristische Beugungsmuster wird von einer Sammellinse mit variabler Brennweite aufgefangen und zum ringförmig um die Strahlachse angeordneten Detektor geleitet.

Je nach Messbereich kann die Brennweite zwischen 100 und 2000 mm liegen, mit denen sich Partikelgrößen zwischen 1 und 3500 μm messen lassen.

Für die hier untersuchten Granulate, die eine mittlere Partikelgröße von ca. 200 μm aufwiesen, wurde eine Sammellinse mit 1000 mm Brennweite und eine Schwerkraftdispergierung über einen Freifallschacht (Gradis) verwendet. Es wurden jeweils 3 Messungen je Probe durchgeführt.

Diese schonende Probenapplikation wird bei empfindlichen Agglomeraten, z. B. bei Granulaten verwendet, um größere Sekundärpartikel nicht vor der Messung zu zerstören. Die Auswertung der detektierten Beugungsmuster erfolgte mittels Fraunhofer-Beugung, da es sich um eine gerichtete Streuung handelte, bei welcher der Winkel der Streuung umgekehrt proportional zur Teilchengröße ist.

Die Ergebnisse werden als volumenbezogene Dichteverteilung (q_3lg) logarithmisch dargestellt. Die Perzentilen x_{10} , x_{50} und x_{90} geben das Volumen (10 %, 50 %, 90 %) der vermessenen Probe an, welches unterhalb der angegebenen Partikelgröße in μm liegen.

Unter Annahme kugelförmiger Partikel kann ebenfalls die volumenbezogene spezifische Oberfläche der Partikel bestimmen werden.

3.4.3.4 Rasterelektronenmikroskop

Die Rasterelektronenmikroskopie (REM) wurde in dieser Arbeit verwendet, um die Morphologie und den Aufbau der Granulatpartikel und Agglomerate zu untersuchen. Es sollte ermittelt werden, ob das in einer Ansatzgröße von 1 kg hergestellte Granulat visuell mit dem Granulat aus der Produktion vergleichbar war.

Die hohe Auflösung von bis zu 3 nm und die hohe Schärfentiefe stellten die Hauptvorteile bei der Auswahl dieses Verfahrens dar.

Zunächst mussten die Granulatproben im Kathodenzerstäuber (Sputter Coater; Edwards) mit einer Goldschicht versehen werden, um eine leitfähige Oberfläche zu erhalten.

Im Rasterelektronenmikroskop (Hitachi) wurden die entsprechend vorbehandelten Proben mit einem Elektronenstrahl abgerastert, wobei durch eine Wechselwirkung zwischen Strahl und leitfähiger Probenoberfläche Sekundärelektronen emittiert wurden.

Im Detektor wurden diese Sekundärelektronen in Spannungsäquivalente umgewandelt, verstärkt und an eine Kathodenstrahlröhre weitergeleitet, an der sie in ein digitales Bild umgesetzt wurden.

Die REM-Aufnahmen ausgewählter Granulatproben sind im Anhang Kapitel 7.8 dargestellt.

3.4.3.5 Bulkdichten

Schütt und Stampfdichte werden zusammenfassend als Bulkdichten bezeichnet und beschreiben die Dichte eines Haufwerks einschließlich aller vorhandenen Lufträume. Sie haben eine große Bedeutung bei der Charakterisierung technologischer genutzter Pulver und Granulate, sodass deren Bestimmung auch in der Europäischen Pharmakopöe (Methode 2.9.15) beschrieben ist. Gemäß dieser Methode wurden auch die Eigenschaften aller Granulatchargen untersucht und mit dem Originalgranulat verglichen.

Einen weiteren Parameter zur Beurteilung von Pulvereigenschaften stellt der Hausner-Faktor dar (Bauer, Frömming, Führer). Der Quotient aus Stampf- und Schüttdichte gibt Aufschluss auf die Verdichtung eines Haufwerks bei mechanischer Beanspruchung, z. B. bei der Befüllung der Matrizen bei der Tablettierung. In diesem Zusammenhang ist es wichtig, Erkenntnisse über die Korrelation von Masse und Volumen bei Pulvern und Granulaten zu gewinnen. Der Hausner-Faktor sollte zwischen 1,0 und 1,2 liegen, da bei zu hohen Werten eine Gleichförmigkeit der Masse und des Gehaltes von einzeldosierten festen Arzneiformen bei einer volumetrischen Dosierung nicht gewährleistet werden kann.

3.4.4 Tablettierung

Bei der Tablettierung der Granulate wurde ebenfalls ein Scale down der Produktionsbedingungen durchgeführt, wobei die wichtigste Voraussetzung hierfür die spektrale Übereinstimmung der Kernmatrix synthetischer hergestellter Labormuster mit derjenigen der Produktionsmuster war.

In der Produktion wurden die Kerne auf einer Rundläuferpresse mit 10-35 kN Presskraft bei einer Pressgeschwindigkeit von 150.000-180.000 Tabletten pro Stunde hergestellt.

Bei der Granulatansatzgröße von 1 kg wurde mit einer EK 0 Exzenterpresse von Korsch mit bikonkaven Stempeln bei einer Presskraft von ca. 10-15 kN gearbeitet.

Die Presse war am Oberstempelhalter mit Dehnungsmessstreifen instrumentiert, die es ermöglichten, die Presskraft über eine Wheatstone'sche Messbrücke (PR 9307, Philips) und ein Oszilloskop (HM 421, Hameg) abzulesen. Es stand jeweils ein Stempel paar für jede der beiden Dosierungen zu Verfügung. Die Tromcardin Kerne wurden mit 10,5 mm bei ca. 10 kN, die Tromcardin-forte Kerne mit 12 mm Stempeln bei ca. 15 kN gepresst, sodass zur Herstellung aller Kalibriermuster mit demselben Granulat gearbeitet werden konnte.

3.4.5 Charakterisierung der Tabletten

Um die synthetischen Tablettenkerne trotz unterschiedlicher Herstellungsbedingungen mit den Produktionschargen vergleichen zu können, wurden die Parameter des Herstellungsprotokolls der Firma Trommsdorff zu Grunde gelegt, die in Tabelle 3.7 dargestellt sind.

Das Aussehen aller Tablettenkerne war weiß, rund, bikonvex und ohne Bruchkerbe.

	Tromcardin Tabletten	Tromcardin forte Tabletten
Gewicht	382,8 mg	785,0 mg
Durchmesser	10,5 mm	12,0 mm
Höhe	4,5-5,0 mm	6,7-7,3 mm
Bruchfestigkeit	> 10 N	> 40 N
Abrieb	< 0,25 %	< 0,25 %
Zerfall	< 30 min	< 30 min

Tabelle 3.7 Herstellungsparameter der Tablettenkerne

3.4.5.1 Gleichförmigkeit der Masse

Diese Prüfung wurde nach Anforderungen der Ph.Eur. (Methode 2.9.5) durchgeführt, wobei 20 Prüfmuster stichprobenartig auf der Analysenwaage (Sartorius basic) in mg genau gewogen wurden.

3.4.5.2 Abmessungen der Kerne

Die Höhe und der Durchmesser der gewölbten Tablettenkerne wurde mit einer digitalen Schieblehre (PAV Electronic) in mm bestimmt, wobei die selben 20 Prüfmuster wie in Kapitel 3.4.5.1 verwendet wurden.

3.4.5.3 Bruchfestigkeit

Die Bruchfestigkeit der Tablettenkerne wurde stichprobenartig mit dem Schleuniger Bruchfestigkeitstester in Anlehnung an die Ph.Eur. Methode 2.9.8 in Newton bestimmt.

3.4.5.4 Friabilität

Die Prüfung auf Friabilität (Ph.Eur. Methode 2.9.7) dient dazu, die Beanspruchung von nichtüberzogenen Tabletten zu prüfen und wurde in einer Erweka Friabilitäts-Apparatur durchgeführt. In Anlehnung an diese Prüfung wurde eine Stichprobe von 20 der entstaubten Kerne genau gewogen, 4 min bei 25 Umdrehungen pro min in der Apparatur belassen und nach abschließenden Entstauben erneut gewogen. Die Angabe der Gewichtsänderung erfolgte in %.

3.4.5.5 Zerfall

Die Zerfallszeit der Kerne wurde gemäß der Methode 2.9.1 der Ph.Eur. mit dem Erweka ZT 6 Zerfallstester in demineralisiertem Wasser bei 37 °C durchgeführt, wobei der Mittelwert von 6 Einzelmessungen in min angegeben wurde.

3.4.6 Aufnahme der NIR-Spektren

3.4.6.1 Diffuse Reflexion

Die Reflexionsspektren der Kalibriermuster wurden mit dem Vector 22/N FT-NIR Michelson-Interferometer (Bruker GmbH) und mit dem Büchi NIRVIS Polarisations-Interferometer mittels Lichtleitersonde aufgenommen.

Für eine reproduzierbare Messanordnung wurde die Lichtleitersonde in ein Stativ gespannt und mit einer Irisblende zur Tablettenmessung versehen (Abbildung 3.4.3).

Für eine optimale photometrische Linearität der Messung wurde der Abstand zwischen Tablettenkern und Sonde konstant bei 3 mm gehalten (Bruker GmbH). Als Detektor wurde eine Indium-Gallium-Arsenid-Diode (InGaAs-Diode) mit einem Absorptionsmaximum von ca. 5000 cm^{-1} verwendet.

Von allen 30 Chargen der 10,5 und 12 mm Kerne wurden 5 Stichproben gegen Spectralon als Referenzstandard vermessen, wobei von jeder einzelnen Stichprobe zwei Spektren von Ober- und Unterseite des Kerns aufgenommen wurden.

Die Messzeit mit dem Bruker Spektrometer betrug bei allen Proben ca. 9,5 sec. (16 scans) bei einer optischen Auflösung von 8 Wellenzahlen. Der Messbereich lag bei allen Spektren zwischen 4000 und 12000 Wellenzahlen, die Signalerfassung erfolgte in Absorption.

Beim Büchi Spektrometer wurde eine Bleisulfid-Diode (PbS-Diode) als Detektor verwendet. Die Messzeit betrug ca. 30 Sekunden (5 scans), bei einer optischen Auflösung von 24 Wellenzahlen. Das Spektrum wurde über den Bereich von 4000-10000 Wellenzahlen in Reflexion aufgenommen und anschließend in ein Absorptionsspektrum transformiert.



Abbildung 3.4.3 Reflexionsmessung von Tabletten mittels Lichtleitersonde und Irisblende

3.4.6.2 Transmission

Die Transmissionsspektren wurden mit dem Vector 22/N-T FT-NIR Michelson-Interferometer (Bruker GmbH) aufgenommen.

Von jeder Charge wurden 5 Stichproben auf einem Probenteller mit Irisblenden vermessen, über dem der Detektor (InGaAs-Diode) mit konstantem Abstand zum Tablettenkern platziert war (Abbildung 3.4.4).

Zur Reproduzierbarkeit der Messung wurden je Stichprobe zwei Spektren von Ober- und Unterseite des Kerns in Absorption aufgenommen. Die Messzeit betrug bei den 10,5 mm Tabletten 9,5 Sekunden (16 scans) bei einer optischen Auflösung von 8 Wellenzahlen. Als Strahlungsquelle wurde ein Wolfram-Halogen Laser mit einer Stärke von 20 W verwendet.

Da die 12 mm Tromcardin-forte Kerne eine Höhe von bis zu 7,30 mm aufwiesen, musste für diese Muster ein Laser von 35 W verwendet werden, um die Matrix durchdringen zu können. Zur weiteren Optimierung des Signal/Rausch-Verhältnisses wurde bei den Chargen 1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 20, 21, 24, 26, 30 eine Messzeit von ca. 9,5 Sekunden (16 scans), bei den Chargen 2, 5, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 22, 23, 25, 27, 28, 29 eine Messzeit von 1 min (101 scans) bei einer optischen Auflösung von 8 Wellenzahlen gewählt. Der Messbereich lag bei allen Spektren zwischen 4000 und 12000 Wellenzahlen.



Abbildung 3.4.4 Transmissionmessung von Tabletten mit Vector 22/N-T (Bruker Optik GmbH)

Zur chemometrischen Auswertung aller Spektren wurden die Software OPUS NT 3.1 von Bruker Optik GmbH, Ettlingen und die Software Unscrambler 7.6 von Camo ASA, Oslo Norwegen verwendet.

3.4.7 Gehaltsbestimmung der Kalibriermuster

3.4.7.1 Bestimmung der Kationen mittels Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)

Die Gehaltsbestimmung von Kalium und Magnesium wurde mittels Flammen-AAS durchgeführt. Die Methode wird in der Ph.Eur. (2.2.23) beschrieben, das Funktionsprinzip ist in Abbildung 3.4.5 schematisch dargestellt.

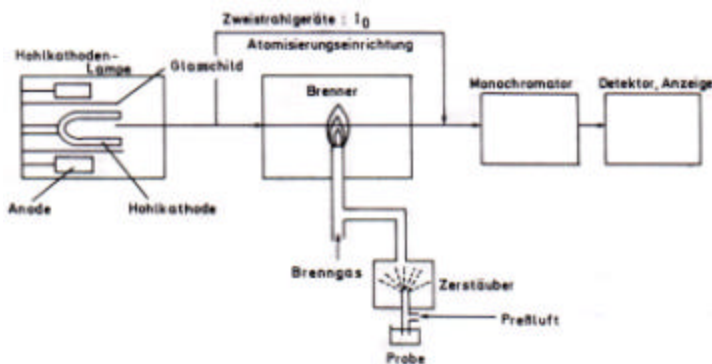


Abbildung 3.4.5 Atomabsorptionsspektroskopie (Rücker, Neugebauer, Willems)

Die in der Probenlösung enthaltenen Kalium- und Magnesium-Ionen werden in der Acetylenflamme des Brenners atomisiert. Die Elektronen der Metall-Atome werden durch Einstrahlung von Licht aus der Hohlkathodenlampe angeregt und von einem energieärmeren Niveau (E_1) auf ein höheres energiereicheres Niveau (E_2) angehoben.

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \cdot n = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

E = Energieniveau

h = Proportionalitätsfaktor

n = Frequenz

c = Konzentration

λ = Wellenlänge: K 766,5 nm; Mg 285,2 nm

Gleichung 3.5

Thermische Anregung von Elektronen

Die dabei absorbierte Strahlung kann nach den Gesetzmäßigkeiten des Lambert-Beer'schen Gesetzes, das schon in Kapitel 2.2 beschrieben wurde, quantitativ ausgewertet werden. Die Hauptvorteile dieser Methode bestehen darin, dass sie hochspezifisch ist, und aufgrund der Nachweisgrenze von unter 1 ppm auch zur Spurenanalytik geeignet ist.

Zur Gehaltsbestimmung der Kalibriermuster wurde eine Dreifachbestimmung von jeder der 5 Stichproben aller 30 Laborchargen beider Dosierungen durchgeführt.

3.4.7.2 Bestimmung der Aspartate mittels HPLC

Die HPLC (high performance liquid chromatography) ist ein chromatographisches Trennverfahren, bei dem die Probe in einer flüssigen mobilen Phase gelöst und mit einem konstanten Druck von > 40 bar durch eine nicht mischbare feste stationäre Phase gepumpt wird. Die beiden Phasen werden so gewählt, dass sich die Probenkomponenten in Abhängigkeit von der Polarität ihrer chemischen Struktur in unterschiedlichem Maße zwischen den Phasen verteilen. Die Komponenten, die eine hohe Affinität zur stationären Phase haben, bewegen sich nur langsam in der mobilen Phase, die Komponenten, die nur geringe Affinität zur stationären Phase haben, bewegen sich schnell in der mobilen Phase. Aufgrund dieser Mobilitätsunterschiede trennen sich einzelne Bestandteile innerhalb der Probe auf, was durch einen nachgeschalteten Detektor analysiert und als Banden in einem Chromatogramm gegen die Zeit aufgetragen wird. Zur qualitativen Auswertung werden die Positionen der Banden (Peaks) auf der Zeitachse herangezogen. Die Flächen unterhalb der Peaks können durch Integration zur Gehaltsbestimmung verwendet werden.

In dieser Arbeit wurde eine Gradientelution mit Natriumtetraborat Lösung und Acetonitril (90:10) an einer Xterra RP8 Säule von Waters durchgeführt. Die Detektion der Aspartate erfolgte nach vorhergehender Derivatisierung mit Fluorescamin mittels eines Fluoreszenzdetektors. Die Chromatogramme wurden über externe Standards ausgewertet, wobei die Peakfläche bei einer Retentionszeit von 1,3 min als Aspartat-Gehalt in mg pro Kern angegeben wurde. Bei der hier verwendeten Umkehrphasenchromatographie (**r**eversed **p**hase) mit einer RP 8 Säule wurden die polaren Silanolgruppen durch Alkylierung mit Octyl-Gruppen hydrophobisiert.

4 Ergebnisse und Diskussion – Teil 1

Wasser bietet als eine der wenigen Ausnahmen anorganischer Verbindungen gute Voraussetzungen für die Anregung von Molekülschwingungen im nahinfraroten Bereich. Die Absorption der elektromagnetischen Strahlung erfolgt hier durch die Anregung der stark polarisierten OH-Bindung des Moleküls. In Abbildung 4.1 ist das NIR-Absorptionsspektrum von Wasser dargestellt, in dem vier Absorptionsmaxima zu erkennen sind. Bei 1940 nm (5155 cm^{-1}) befinden sich Kombinationsschwingungen aus OH-Valenz- und Deformationsschwingungen, bei 1440 nm (6944 cm^{-1}) die erste Oberschwingung der OH-Valenzschwingungen bei einer Schichtdicke von 0,1 mm. Bei einer Wellenlänge von 1200 nm (8333 cm^{-1}) ist außerdem eine weitere schwache Kombinationsschwingung und bei 960 nm (10417 cm^{-1}) die zweite Oberschwingung der OH-Valenzschwingung zu sehen, allerdings ist bei der geringen Absorption dieser Schwingungen eine Schichtdicke von 10 mm nötig um diese zu detektieren.

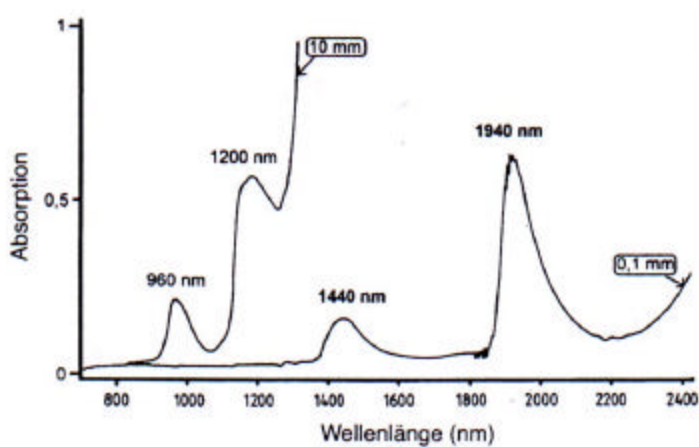


Abbildung 4.1 NIR-Absorptionsspektrum des Wassers (Quelle Sadler)

Die genaue Position der einzelnen OH-Banden im Spektrum ist stark von der chemischen und physikalischen Struktur der Verbindung, sowie von der Temperatur abhängig und kann sich je nach Einfluss zu größeren oder kleineren Wellenlängen verschieben. Die Kombinationsschwingung bei 1940 nm kann gut detektiert werden und wird hauptsächlich zur quantitativen Bestimmung der Restfeuchte von Substanzen herangezogen (Kamat et al. 1989; Zhou et al. 1998).

Des Weiteren eignen sich die OH-Schwingungen im NIR-Spektrum zur qualitativen und quantitativen Bestimmung polymorpher Kristallformen (Norris et al. 1997; Gimet et al. 1987; Blanco et al. 2000; Bauer et al. 2000).

Der erste Oberton bei 1440 nm wird stark durch Wasserstoffbrückenbindungen beeinflusst (Derksen et al. 1998), die beiden Adsorptionsmaxima bei 960 nm und 1200 nm sind zu schwach um sie in der NIRS zur quantitativen Auswertung zu verwenden.

Im Allgemeinen gilt, je stärker das Wasser gebunden ist, desto größer ist die Wellenlänge seines Absorptionsmaximums (Morriseau et al. 1995). Im Gegensatz zum stöchiometrisch gebundenen Kristallwasser vibriert freies adsorbiertes Oberflächenwasser leichter, wodurch sich eine Verschiebung der Banden zu kleineren Wellenlängen erklären lassen kann (Derksen et al. 1998).

Die Grundvoraussetzung zur quantitativen Wassergehaltsbestimmung von Substanzen mittels NIR Spektroskopie ist eine präzise primäre Referenzanalytik, die den wahren Wassergehalt mit möglichst geringem Methodenfehler bestimmen kann.

In dieser Arbeit wurden als Referenzanalytik die Karl-Fischer Titration, die IR-Waage und die Thermogravimetrie eingesetzt. Bei dieser Auswahl ist zu beachten, dass diese Referenzmethoden hohe Methodenfehler besitzen, welche in die chemometrische Vorhersage des Wassergehaltes der NIR-Methode miteingehen und somit das Ergebnis negativ beeinflussen. Dieser Zusammenhang macht deutlich, dass die NIR-Vorhersage nicht präziser als die Referenzmethode sein kann.

4.1 Wassergehaltsbestimmung von Lactose mittels NIRS

4.1.1 Darstellung der OH-Schwingungen von Lactosen mittels NIRS

In Arbeiten von Buckton et al. (1998) wurde bereits der Einsatz der NIR-Spektroskopie zur Untersuchung von amorphen und kristallinen Lactosen beschrieben. Amorphe Lactosen wurden unter definierten Bedingungen über gesättigten Salzlösungen eingelagert und die NIRS wurde dazu eingesetzt, die Veränderungen der Morphologie durch Veränderungen im NIR-Spektrum der Lactosen aufzuklären. Der Übergang vom amorphen zum kristallinen Zustand, und der Übergang von β -Lactose zu α -Lactose-Monohydrat konnte in den NIR-Spektren anhand von Veränderungen der Ober- und Kombinationsschwingungen der OH-Gruppe beobachtet werden. Als Referenzanalytik wurden hier Thermogravimetrie und DSC eingesetzt.

Mit der NIR-Spektroskopie konnten nicht nur die unterschiedlichen Bindungen der Wassermoleküle in Lactose beobachtet werden, sie war vielmehr auch dazu geeignet, den Gehalt von Wassermolekülen im Lactose-Molekül zu quantifizieren (Hammond et al. 1998). Diese Erkenntnisse wurden in dieser Arbeit bei den Untersuchungen der verschiedenen Lactosen herangezogen.

Die Aufnahme der NIR-Reflexionsspektren aller Lactosen erfolgte nach der in Kapitel 3.3.1 beschriebenen Methode. Auf der x-Achse der Spektren wurde die Wellenzahlen in cm^{-1} , auf der y-Achse die Absorption aufgetragen.

In Abbildung 4.1.1 sind Spektren verschiedenener Lactose-Modifikationen dargestellt. Es wurden α -Lactose-Monohydrat, β -Lactose und instabile amorphe Lactose, die durch Gefriertrocknung gesättigter Lactose-Lösung hergestellt wurde, vermessen.

Bei 5155 cm^{-1} und 6944 cm^{-1} sind deutlich die unterschiedlichen OH-Banden zu erkennen, die auf die verschiedenen Bindungen des Wassers in den Lactose-Molekülen hindeuteten.

Vor allem in der 2. Ableitung der OH-Kombinationsschwingung bei 5155 cm^{-1} (Abbildung 4.1.2), die hauptsächlich die Schwingung des festgebundenen Kristallwassers darstellt, ist ein deutlicher Unterschied zwischen den Modifikationen zu erkennen. Im Anhang Kapitel 7.4 sind die dazugehörigen DSC- und TG-Thermogramme als Referenzmethoden dargestellt.

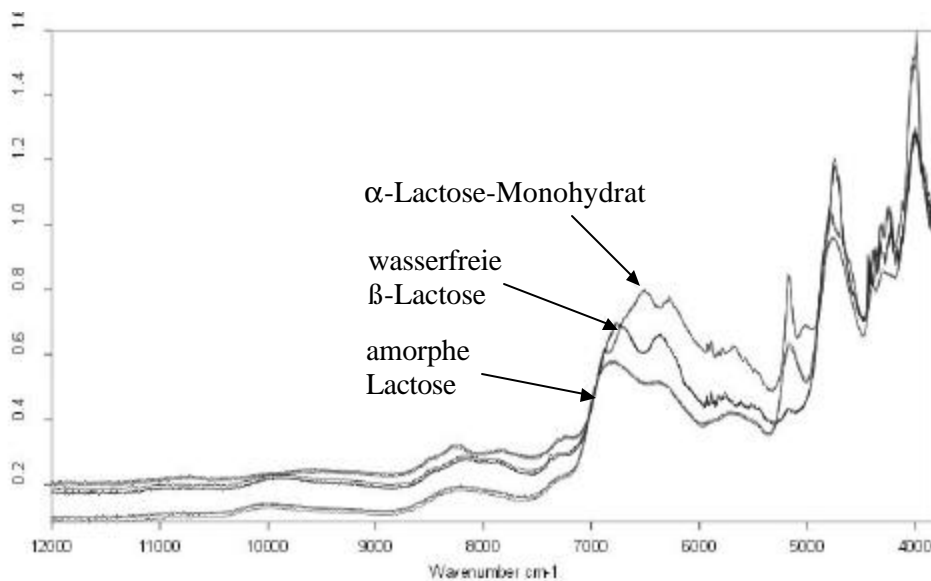


Abbildung 4.1.1 Original Reflexionsspektren verschiedener Lactose-Modifikationen

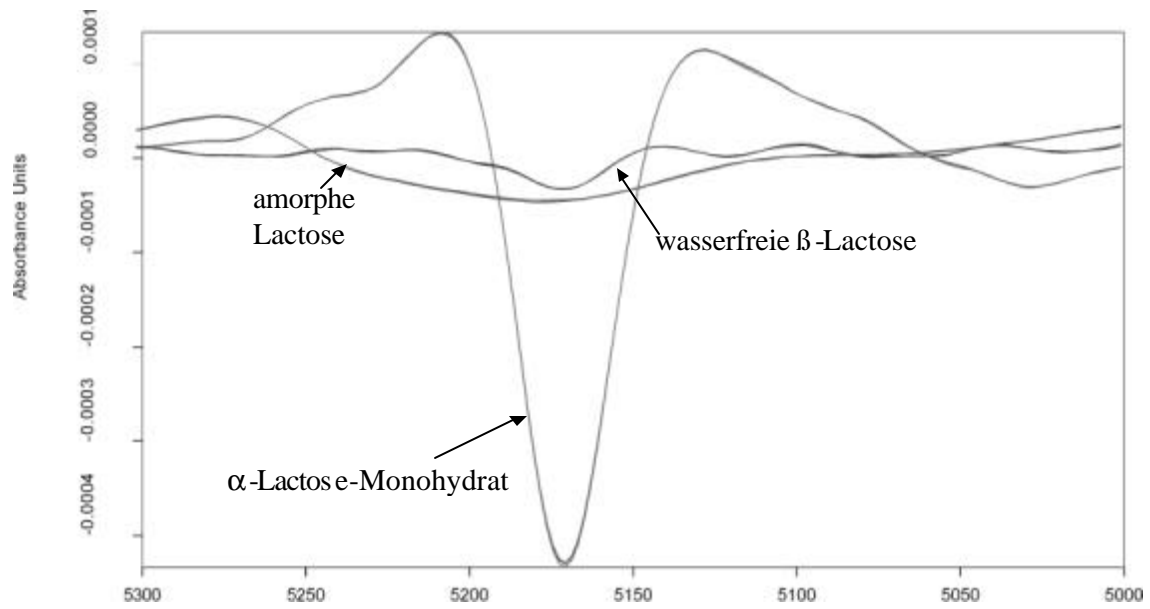


Abbildung 4.1.2 Zweite Ableitung der OH-Kombinationsschwingung bei 5155 cm⁻¹

4.1.2 OH-Schwingungen von α -Lactose-Monohydraten

In dieser Arbeit wurden 25 verschiedene Typen von α -Lactose-Monohydrat (Tabelle 3.1) mit NIRS untersucht, für die im Folgenden die Entwicklung einer Methode zur Gesamtwassergehaltsbestimmung mittels NIRS beschrieben wird.

Der Gesamtwassergehalt von α -Lactose-Monohydrat liegt bei ca. 5 % und setzt sich aus stöchiometrisch gebundenem Kristallwasser und ca. 0,1-0,2 % adsorptiv gebundenem Oberflächenwasser zusammen (Hunnius).

Die Reflexionsspektren aller 25 Lactosen in Abbildung 4.1.3 zeigten eine deutliche Bande der OH-Kombinationsschwingungen bei ca. 5155 cm^{-1} (A) und eine überlagerte Bande der OH-Oberschwingungen bei ca. 6944 cm^{-1} (B).

Die Kombinationsschwingungen (A) waren deutlich als spitzer Peak ausgeprägt, das Absorptionsmaximum der ersten Oberschwingung (B) wurde stark durch chemische und physikalische Parameter der Substanz beeinflusst, daher konnte man diesen Peak nur undeutlich am Rande eines breiten stark überlagerten Bereichs erkennen.

Die Verschiebung der Basislinie resultierte aufgrund additiver und multiplikativer Streueffekte durch unterschiedliche Partikelgrößen und Herstellungsverfahren der verwendeten Produkte (Tabelle 3.1), sowie durch mögliche Schichtdickenunterschiede bei der Messung.

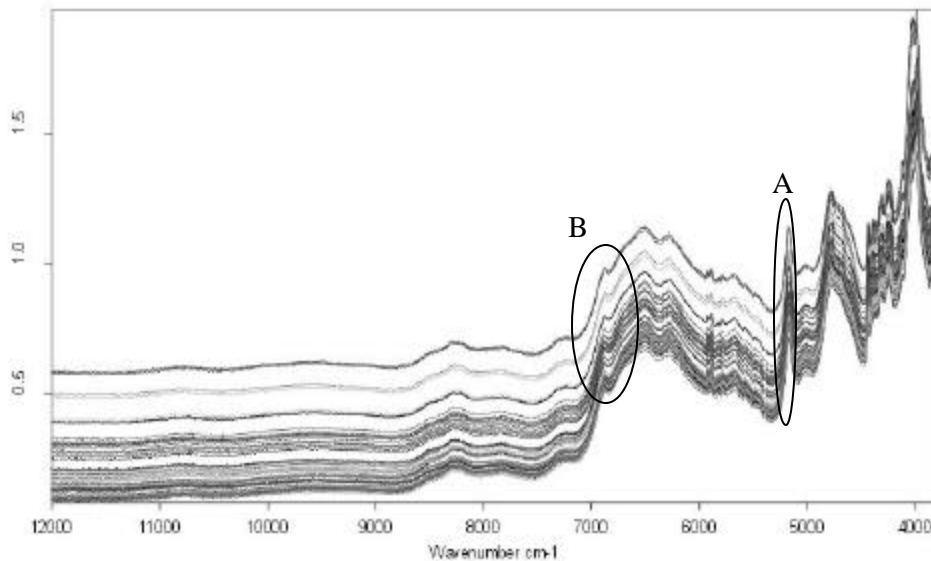


Abbildung 4.1.3 Original Reflexionsspektren aller Lactosen

Durch mathematische Vorbehandlung der Spektren (Kapitel 2.4.4) konnten diese Streueffekte deutlich minimiert werden (Candolfi et al. 1999).

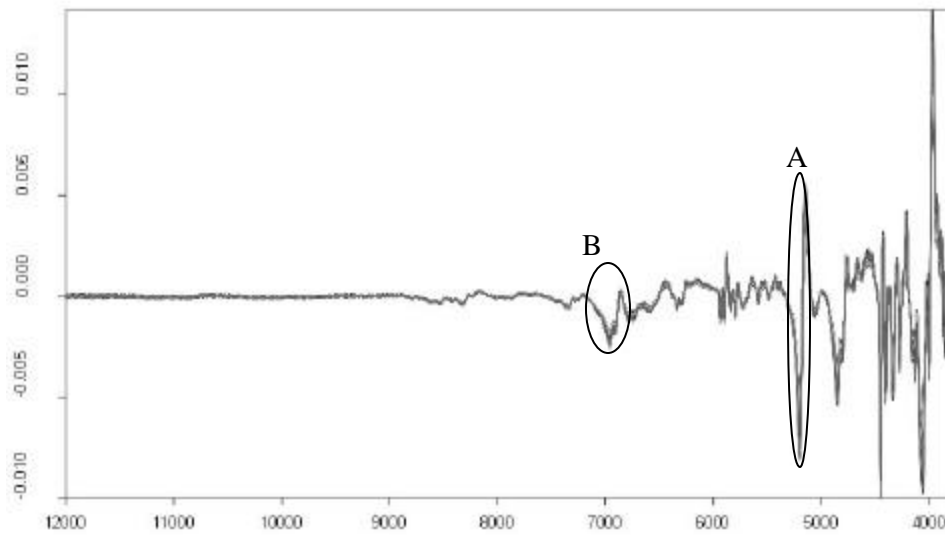


Abbildung 4.1.4 Erste Ableitung der Lactosespektren ($12000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$)

Die Abbildung 4.1.4 und Abbildung 4.1.5 stellen die erste Ableitung nach Savitzky-Golay von allen Lactose-Spektren dar. Analog zur Kurvendiskussion wurden aus Absorptionsmaxima der Originalspektren in der ersten Ableitung fallende Nullstellen. Stark überlagerte Bereiche ließen sich auf diese Weise als getrennte Peaks darstellen. An der Skalierung der Absorption auf der y-Achse ist zu erkennen, dass sich durch die Bildung der Ableitung auch die spektrale Auflösung erhöhte.

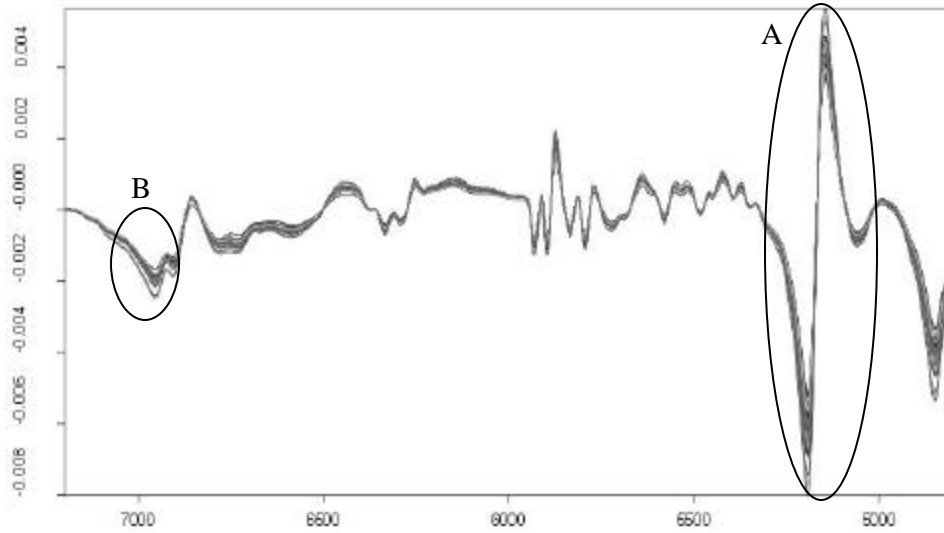


Abbildung 4.1.5 Erste Ableitung der Lactosespektren (7000-5000 cm^{-1})

Die Bildung der zweiten Ableitung (Abbildung 4.1.6) bewirkte die Transformation einer fallenden Nullstelle zu einem Minimum, wodurch eine weitere Erhöhung der spektralen Auflösung und eine verbesserte Zuordnung der Banden erfolgen konnten. Gleichzeitig erfolgte eine weitere Minimierung der begleitenden Streueffekte.

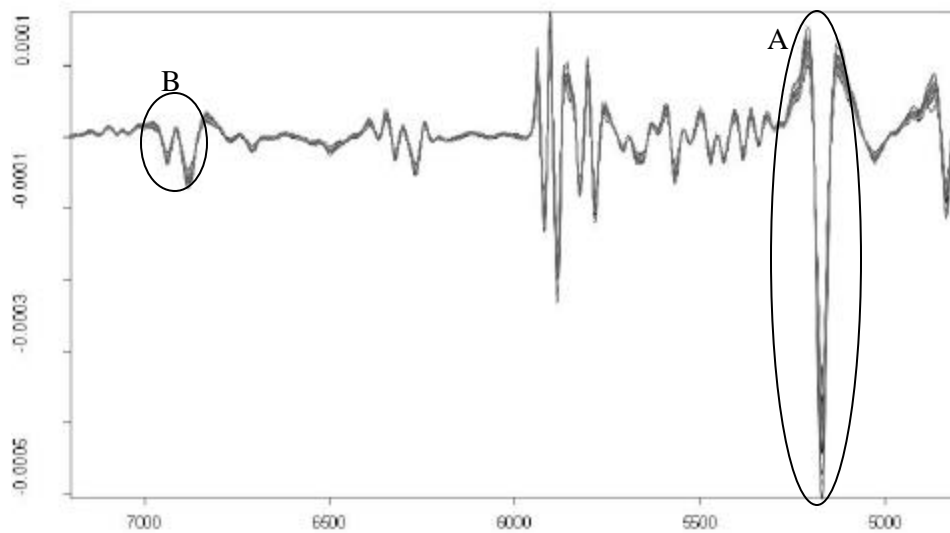


Abbildung 4.1.6 Zweite Ableitung der Lactosespektren (7000-5000 cm^{-1})

Bei der Bildung von Ableitungen der NIR-Spektren entsteht zwar zunächst ein schlechteres Signal/ Rausch-Verhältnis, welchem jedoch durch die gleichzeitige Polynomglättung nach Savitzky-Golay entgegengewirkt wird. Die Wahl der Polynomglättungspunkte muss allerdings sorgfältig vorgenommen werden, da sonst eine Verfälschung der Ergebnisse durch zu starke Glättung der Banden auftreten kann (Kapitel 2.4.4.2). Dieses ist besonders bei der Auswertung schwacher spektraler Effekte von Bedeutung. Bei Schwingungen mit starker Absorption oder bei Komponenten hoher Konzentration macht sich dieser Fehler nicht so schnell bemerkbar.

Zur Darstellung der Lactosespektren wurden bei der ersten Ableitung 17, bei der zweiten Ableitung 21 Glättungspunkte gewählt, die bei der hohen optischen Auflösung von 4 cm^{-1} angemessen sind.

Die deutlich zu erkennenden Wasserbanden in den Lactose-Spektren eigneten sich dazu, den Wassergehalt der Substanzen mittels NIRS auch quantitativ zu ermitteln. Aufgrund der starken Überlagerungen und der Beeinflussung der Banden durch physikalische Eigenschaften der Probenmatrix ist eine direkte Auswertung der Spektren im NIR-Bereich nicht möglich. Eine vorherige Kalibrierung des Spektrometers mit einer chemometrisch entwickelten Methode ist Voraussetzung und wird im Folgenden beschrieben.

4.1.3 Methodenentwicklung zur Kalibrierung des Spektrometers

Zur quantitativen Analytik mittels NIRS wird die bereits in Kapitel 2.4 beschriebene Chemometrie verwendet. Die Voraussetzung hierfür ist immer eine geeignete primäre Referenzanalytik, die in diesem Fall zur Ermittlung des wahren Wassergehaltes der Kalibriermuster dient.

Als Referenzmethode zur Wassergehaltsbestimmung der Lactosen wurde die Karl-Fischer Titration (Kapitel 3.3.2) eingesetzt, da sie auch in der Monographie Lactose (Ph.Eur. 1997) als Verfahren zur Gesamtwassergehaltsbestimmung vorgeschrieben wird.

Mit den NIR-Spektren aller Lactosen als x-Variablen und den Referenzwerten als y-Variablen wurde mittels PLS-Regression ein mathematisches Modell entwickelt, mit dem das Spektrometer zur Wassergehaltsbestimmung von Lactosen kalibriert werden konnte.

4.1.3.1 Testkalibrierung

Der mittels Karl-Fischer-Titration ermittelte Gesamtwassergehalt aller 25 untersuchten unbehandelten Lactosen lag zwischen 4,66 % und 5,27 % bei einer mittleren relativen Standardabweichung von 1,95 % bei 5 Einzelbestimmungen (Anhang Kapitel 7.5).

Um Abschätzen zu können, ob die Referenzwerte überhaupt mit den spektralen Informationen korrelieren, wurde zunächst eine Testkalibrierung mit den unbehandelten Lactosen durchgeführt.

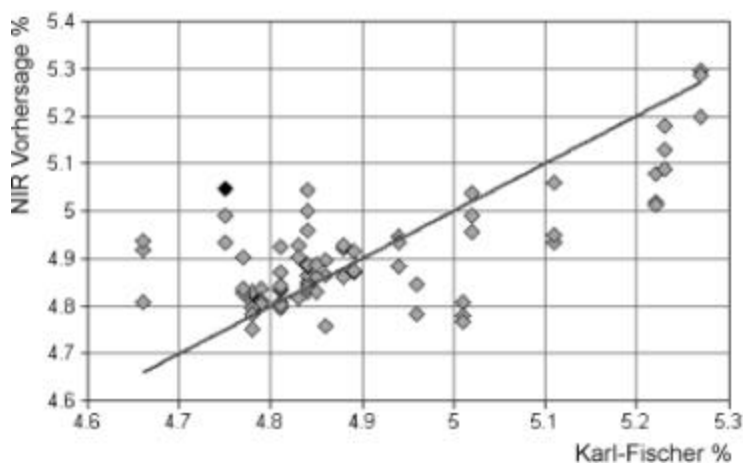


Abbildung 4.1.7 Testkalibrierung mit unbehandelten Lactosen

In Abbildung 4.1.7 ist eine PLS-Regression von 75 Lactose-Spektren (3 Spektren je Probe) und Karl-Fischer Referenzwerten in % dargestellt. Von den Spektren wurde im Bereich von $7500\text{-}4500\text{ cm}^{-1}$ eine Vektornormierung und 1. Ableitung gebildet und anschließend eine Kreuzvalidierung durchgeführt. Mit 7 Faktoren wurde nur ein Korrelationskoeffizient von 47,22 bei einem mittleren Vorhersagefehler (RMSECV) von 1,113 % erreicht.

Dieses Modell zeigte deutlich, dass sich die Spannweite von 0,61 % Wassergehalt als zu eng erwies um ein Kalibrierungsmodell zur Wassergehaltsbestimmung von Lactosen mittels NIRS zu erstellen. Trotz Spektrenvorbehandlung war die spektrale Varianz der verschiedenen Lactose-Produkte durch Einflüsse der Partikelgröße und Partikelmorphologie zu hoch, um eine präzise Vorhersage des Wassergehaltes mittels NIRS zu machen.

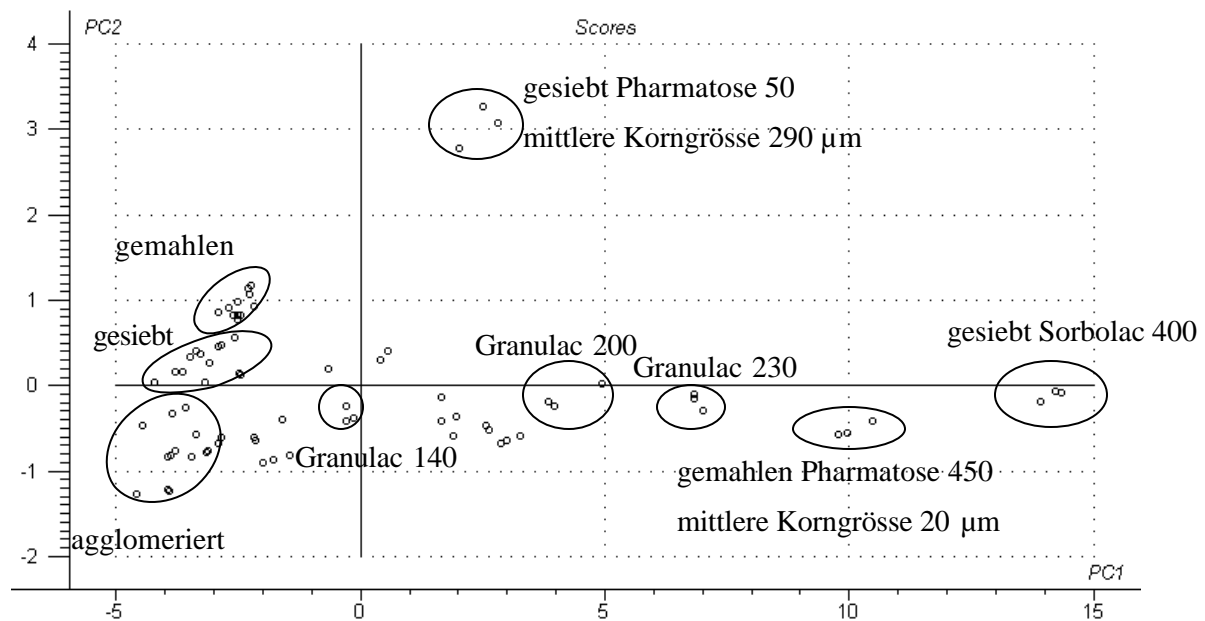


Abbildung 4.1.8 Hauptkomponentenanalyse Faktor 1 (PC 1)/ Faktor 2 (PC 2)

Eine Hauptkomponentenanalyse der Lactose-Spektren konnte diese Annahme bestätigen (Abbildung 4.1.8). Beim Auftragen der ersten gegen die zweite Hauptkomponente wurde eine Auftrennung der Proben auf Grund ihrer partikulären Eigenschaften deutlich.

Die x-Achse (1. Hauptkomponente) verläuft linear zur Partikelgröße der gesiebten Lactosen von Meggle, deren mittlere Partikelgrößen Tabelle 4.1 entnommen werden können. Auf der y-Achse (2. Hauptkomponente) kann man einen Zusammenhang mit dem Herstellungsverfahren der Lactosen erkennen (Kapitel 3.1.1), welches sich in der Morphologie der Partikeloberfläche widerspiegelt. Von unten nach oben sind agglomerierte, gesiebte und gemahlene Produkte entlang der Achse angeordnet.

Die Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse drückten eine hohe spektrale Relevanz der Partikelgröße und des Herstellungsverfahrens aus, da sich diese Einflüsse in den beiden ersten wichtigsten Faktoren widerspiegelten. Die gesiebte Lactose mit der größten Partikelgröße von 290 µm (Pharmatose 50) ließ sich durch die beiden ersten beiden Hauptkomponenten nicht ausreichend charakterisieren, wodurch sie sich von den übrigen Clustern separierte.

4.1.3.2 Konditionierung der Kalibriermuster

Um eine Wassergehaltsbestimmung aller Lactose-Produkte trotz ihrer physikochemischen Differenzen mittels NIRS durchführen zu können, wurde der Wassergehalt der Proben auf einen Kalibrierungsbereich von 7,89 % erweitert.

54 Proben, die in dieser Arbeit verwendeten Lactosen, wurden unter definierten Bedingungen eingelagert (Kapitel 3.3.5).

Nach anschließender Karl-Fischer Titration der konditionierten Lactosen wurde ein Gesamtwassergehalt von 0,91 % bis 8,81 % ermittelt (Tabelle 4.1). Bei der Titration wurden jeweils 5 Einzelbestimmungen mit einer mittleren relativen Standardabweichung von 2,00 % durchgeführt (Anhang Kapitel 7.6).

Probe	Partikelgröße µm	105 °C	44 % RH	75 % RH	85 % RH	97,5 % RH	100 % RH
Granulac 70	212	3.38	4.60	-	5.09	6.02	7.69
Granulac 140	106	2.69	4.68	-	4.97	5.90	7.09
Granulac 200	75	2.23	4.58	-	4.86	5.49	7.25
Granulac 230	63	1.62	4.60	-	4.86	5.39	8.67
Sorbolac 400	38	0.93	4.58	-	4.92	5.84	8.81
Prismalac 40	425	4.01	4.55	4.55	-	5.40	7.55
Capsulac 60	250	3.95	-	4.63	-	5.60	8.28
Sachelac 80	180	3.99	4.57	4.66	-	5.33	7.74
Spherolac 100	150	3.98	-	4.50	-	5.37	8.28
Tablettose 70	212	2.75	-	-	-	5.44	8.11
Tablettose 80	180	2.57	-	4.56	-	5.47	7.74
Flowlac 100	150	2.61	-	5.33	-	5.46	8.12

Tabelle 4.1 Wasseraufnahme der konditionierten Lactosen

Nach Aufnahme der NIR-Spektren konnten in den Bereichen der Absorptionsmaxima von OH-Kombinations- und erster OH-Oberschwingung sehr gut die Effekte der Wasseraufnahme und Wasserabgabe der Proben gezeigt werden.

Das Ausmaß des Kristallwasserverlustes bzw. der Feuchtigkeitsaufnahme der Lactosen ist bei gleichen Lagerbedingungen von der mittleren Partikelgröße (Tabelle 4.1) abhängig und im Spektrum erkennbar.

In Abbildung 4.1.9 und Abbildung 4.1.10 ist die 2. Ableitung der OH-Banden der eingelagerten Lactosen dargestellt. Die Peakgröße der OH-Schwingungen nimmt in der 2. Ableitung der Spektren proportional zum Wassergehalt der Lactosen zu.

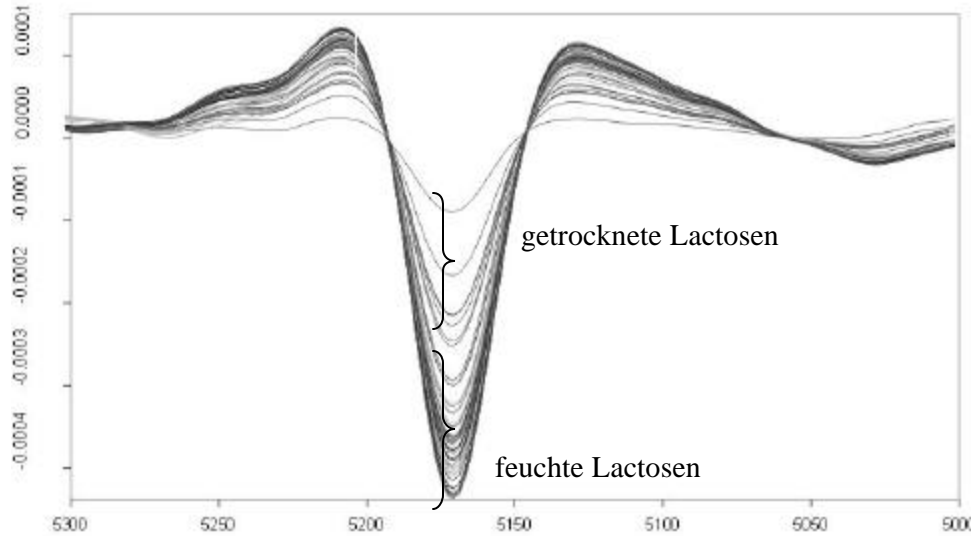


Abbildung 4.1.9 Zweite Ableitung der OH-Oberschwingung der eingelagerten Lactosen

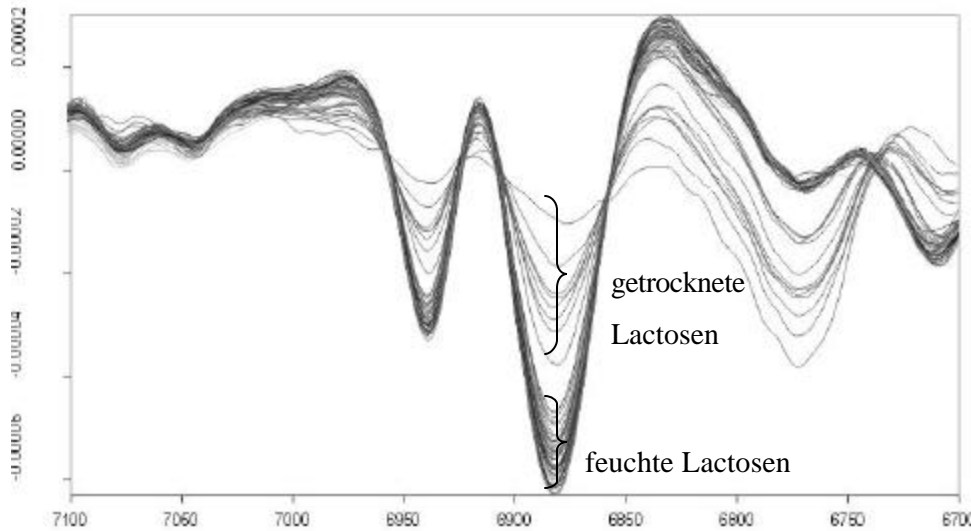


Abbildung 4.1.10 Zweite Ableitung der OH-Kombinationsschwingung der eingelagerten Lactose

Die Relevanz der OH-Schwingungen in den Lactose-Spektren hat durch die Konditionierung gegenüber den übrigen physikochemischen Eigenschaften der Kalibriermuster zugenommen. Besonders in der 2. Ableitung der Spektren konnten diese Effekte besonders deutlich dargestellt werden, daher wurde diese Vorbehandlung auch für die PLS-Regression gewählt.

4.1.3.3 Kalibrierungsmodell

Für die Berechnung eines Kalibrierungsmodells zur Gesamtwassergehaltsbestimmung aller Lactose-Produkte wurde eine PLS-Regression von 162 Spektren der 54 eingelagerten Lactosen in 2. Ableitung im spektralen Bereich von $7500\text{-}4500\text{ cm}^{-1}$ durchgeführt. Als Referenzanalytik wurde die Karl-Fischer-Titration eingesetzt.

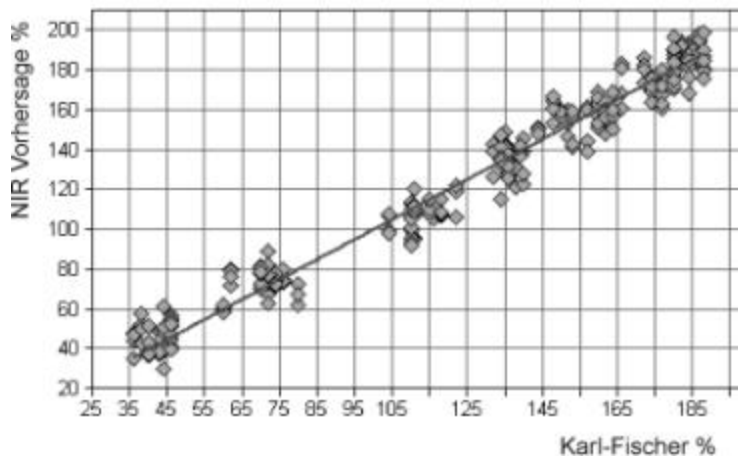


Abbildung 4.1.11 Kalibrierungsmodell mit eingelagerten Lactosen

In Abbildung 4.1.11 ist die PLS-Regression nach Kreuzvalidierung dargestellt. Es wurden trotz der unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften aller verwendeter Lactosen nur 5 PLS-Faktoren benötigt, um das Modell mit einem Korrelationskoeffizient von 97,52 und einem RMSECV von 0,284 % zu beschreiben.

4.1.3.4 Überprüfung des Modells

Die Präzision des im vorhergehenden Kapitel entwickelten Kalibrierungsmodells zur zerstörungsfreien Gesamtwassergehaltsbestimmung von α -Lactose-Monohydrat wurde anhand verschiedener unabhängiger Lactose-Produkte von zwei Herstellern überprüft.

Hierfür wurden jeweils 3 Spektren der unbehandelten Lactosen (Tabelle 3.1) mit den gleichen Messparametern aufgenommen.

Der Gesamtwassergehalt der Proben wurde mit dem in Abbildung 4.1.11 gezeigten Modell vorhergesagt und zum Vergleich mittels Karl-Fischer-Titration (Kapitel 3.3.2) bestimmt (mittlere relativen Standardabweichung 1,95 %, n=5).

Die Ergebnisse beider Methoden sind in der Tabelle 4.2 und Abbildung 4.1.12 dargestellt.

Nr.	Probe	NIRS %	SD	rSD %	Karl-Fischer %	SD	rSD %
1	Cap60	4.77	0.0197	0.41	4.94	0.0643	1.30
2	Fl100	4.80	0.0285	0.59	4.96	0.0941	1.90
3	Gr140	4.86	0.0264	0.54	4.78	0.0395	0.83
4	Gr200	4.85	0.0116	0.24	4.77	0.1063	2.23
5	Gr230	4.81	0.0537	1.11	4.84	0.0454	0.94
6	Gra70	4.70	0.0512	1.09	4.88	0.0727	1.49
7	Pri40	4.83	0.0347	0.72	4.81	0.0350	0.73
8	Sach80	4.62	0.0611	1.32	4.79	0.1056	2.20
9	So400	4.62	0.0628	1.36	4.83	0.0553	1.14
10	Sp100	4.62	0.0800	1.73	4.81	0.1390	2.89
11	Tab70	4.88	0.0526	1.08	4.89	0.1187	2.43
12	Tab80	4.82	0.0426	0.88	4.86	0.0650	1.34
13	Ph DLC11	4.91	0.0485	0.99	4.78	0.0687	1.44
14	Ph DLC15	3.70	0.0157	0.42	4.84	0.1823	3.77
15	Ph 100	4.68	0.0584	1.25	5.01	0.0650	1.30
16	Ph 110	4.91	0.1093	2.22	4.81	0.0611	1.27
17	Ph 125	4.77	0.0471	0.99	4.66	0.0929	1.99
18	Ph 150	4.78	0.0390	0.82	5.22	0.1382	2.65
19	Ph 200	4.77	0.0537	1.12	5.27	0.2128	4.04
20	Ph 325	4.93	0.0426	0.86	4.85	0.0201	0.41
21	Ph 350	4.90	0.0577	1.18	5.11	0.1410	2.76
22	Ph 450	4.94	0.0904	1.83	4.84	0.1048	2.17
23	Ph 50	4.31	0.0693	1.61	5.23	0.0746	1.43
24	Ph 80	4.75	0.0219	0.46	5.02	0.2167	4.32
25	Ph 90	4.75	0.0512	1.08	4.75	0.1035	2.18

Tabelle 4.2 Vergleich von NIR und KarlFischer Titration

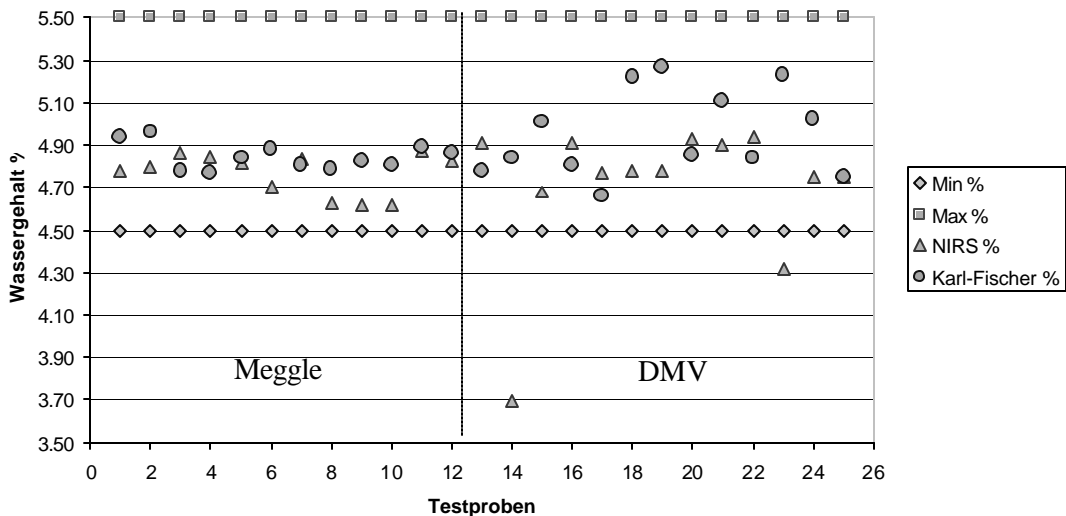


Abbildung 4.1.12 Methodenvergleich von NIRS und Karl-Fischer-Titration

Zur Darstellung der Ergebnisse wurde als obere (Max %) und untere Grenze (Min %) die vorgeschriebene Spannweite des Wassergehaltes der Monographie Lactose-Monohydrat (Ph.Eur. 97) gewählt.

In Abbildung 4.1.12 fällt deutlich auf, dass die Ergebnisse der DMV-Produkte mit Probenr. 13-25 stärker voneinander abweichen als die der Meggle-Produkte mit Probenr. 1-12. Diese Streuung lässt sich dadurch erklären, dass die Methode nur mit konditionierten Lactosen der Firma Meggle (Probenr. 1-12) erstellt wurde. Die Produkte der Firma DMV (Probenr. 13-25) lassen sich aufgrund größerer spektraler Differenzen nur schlecht mit diesem Kalibrierungsmodell mittels NIRS vorhersagen, was auch durch einen T-Test bestätigt wurde. Die Auswertung mittels T-Test (Tabelle 4.3) zeigte, dass sich die beiden Methoden sehr signifikant voneinander unterscheiden.

P-Wert für zweiseitigen T-Test: $0,0071 < 0,05 \Rightarrow$ Nullhypothese wird verworfen

Zw eistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Signifikanzniveau 0,05	NIRS	KF
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mittelwert	4.73	4.90
Varianz	0.06	0.03
Beobachtungen	25	25
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	40	
t-Statistik	-2.8390	
P-Wert (T<=t) einseitig	0.0035	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1.6839	
P-Wert (T<=t) zweiseitig	0.0071	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	2.0211	

Tabelle 4.3 T-Test zum Methodenvergleich von NIR und Karl-Fischer-Titration

Es konnte gezeigt werden, dass eine Wassergehaltsbestimmung verschiedener Lactose-Produkte mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften mit einem Kalibrierungsmodell mittels Nahinfrarot Spektroskopie zwar möglich ist, sich jedoch Herstellerunterschiede trotz ähnlicher Partikelgrößenverteilungen und Herstellungstechniken der Produkte deutlich auf die Lactose-Spektren auswirken.

Diese spektralen Differenzen müssen bei der Entwicklung eines Modells zur Bestimmung des Wassergehaltes unbedingt berücksichtigt werden, da es sonst zu fehlerhaften Werten bei der NIR-Vorhersage kommt, wie Abbildung 4.1.12 zeigt.

Anhand dieser Modellentwicklung konnte der starke Einfluss der unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften desselben Hilfsstoffes auf die NIR-Spektren und deren chemometrische Auswertung gezeigt werden.

4.1.4 Differenzierung von adsorbiertem Oberflächenwasser

In der USP wird in der Monographie Lactose-Monohydrat zwischen Kristallwassergehalt (water) und oberflächlich adsorbierten Wasser (loss on drying) unterschieden. Im vorhergehenden Kapitel wurde eine Gesamtwassergehaltbestimmung von Lactose-Monohydrat mittels NIR beschrieben, in diesem Kapitel sollte eine Differenzierung von fest gebundenem Kristallwasser und adsorptiv gebundenem Oberflächenwasser vorgenommen werden.

Durch Bildung der ersten Ableitung der Spektren konnte anhand der OH-Kombinations- und Oberschwingungen ein weiterer spektraler Effekt bei der Wasseraufnahme der Proben erkannt werden (Abbildung 4.1.13/ Abbildung 4.1.14).

Gemäß ihrer Sorptionsisotherme (Abbildung 3.3.4) nahmen Lactosen erst bei der Lagerung oberhalb von 80 % relativer Feuchte verstärkt Wasser an der Partikeloberfläche auf, welches zunächst nur adsorptiv gebunden wurde.

Wie einleitend schon erwähnt, vibriert freies adsorbiertes Oberflächenwasser leichter als stöchiometrisch gebundenes Kristallwasser, wodurch sich die im Kreis markierte Bandenverschiebung in den Spektren der bei 97 und 100 % relativer Feuchte eingelagerten Lactosen erklären ließ. Die OH-Schwingung nahm proportional zur Feuchte der Lactosen in Pfeilrichtung zu, die Gesamtwassergehälter der Proben sind in Tabelle 4.1 dargestellt.

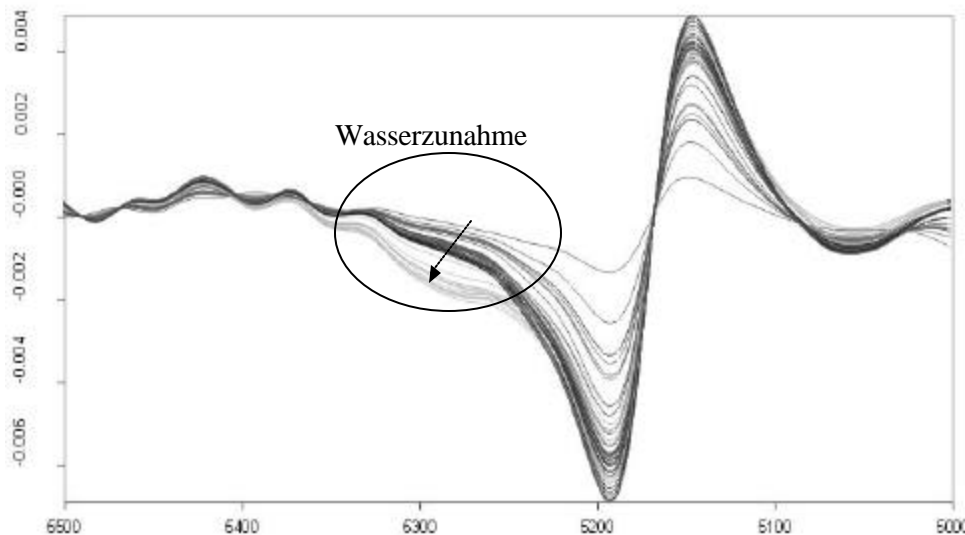


Abbildung 4.1.13 Wasserzunahme in 1. Ableitung der OH-Kombinationsschwingung

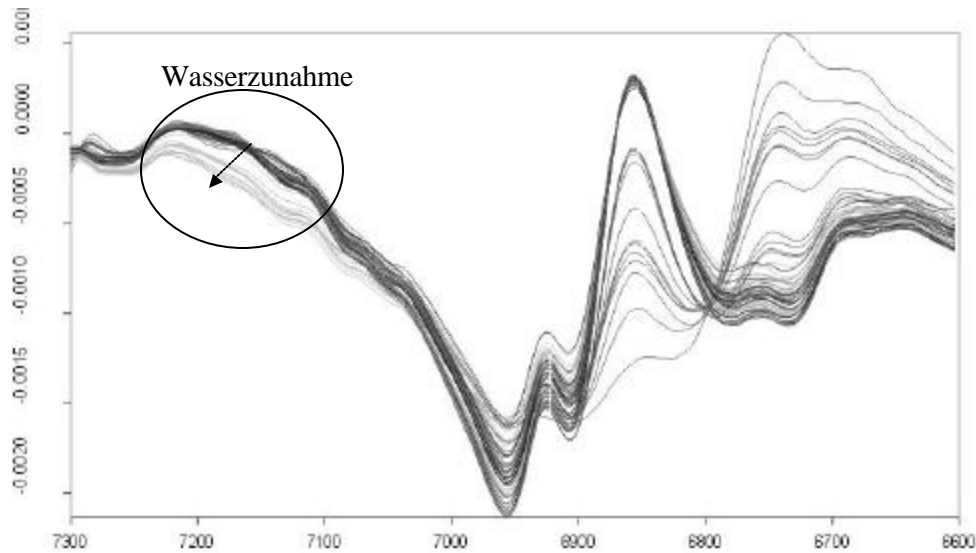


Abbildung 4.1.14 Wasserzunahme in 1. Ableitung der ersten OH-Oberschwingung

Die Unterscheidung von physikochemisch gebundenem Wasser und fest gebundenem Kristallwasser ist zwar spektral darstellbar, konnte jedoch quantitativ nicht getrennt voneinander mittels NIRS bestimmt werden.

Die Menge des adsorbierten Wassers war zu gering um sie bei der schwachen Absorption im NIR-Spektrum zu detektieren. Auch war die Überlagerung der OH-Schwingungen von Kristallwasser und Oberflächenwasser zu groß, um sie auch bei entsprechender Spektrenvorbehandlung trennen zu können.

Der wichtigste Grund war jedoch das Fehlen einer geeigneten Referenzanalytik, die immer die Voraussetzung einer quantitativen Bestimmung mittels NIRS darstellt.

Die Karl-Fischer Titration ist nur zur Erfassung des Gesamtwassers geeignet, hierbei ließ sich nicht zwischen Kristall- und Oberflächenwasser differenzieren.

Die Methode, die von der USP (Kapitel 3.3.3.1) zur Bestimmung des adsorbierten Wassers vorgeschrieben wird, war nicht als Referenzmethode für die PLS-Regression zur chemometrischen Vorhersage des Oberflächenwassers geeignet, da sie nicht präzise und nicht selektiv war.

4.2 Untersuchungen von Magnesiumstearaten mittels NIRS

Die Schmiereigenschaften von Magnesiumstearaten hängen im hohen Maße vom Wassergehalt und damit von der pseudopolymorphen Modifikation ab, welche durch das Herstellungsverfahren beeinflusst wird. Je nach Prozess erhält man amorphe kristallwasserfreie Formen, Plättchen mit 1-2 mol Kristallwasser, Nadeln mit 2-3 mol Kristallwasser, reine Di- oder Trihydrate, sowie Übergangszustände aller Formen (Müller 1977; Steffens 1978). Den kristallwasserreichen Magnesiumstearaten werden die besseren Schmiereigenschaften zugeschrieben (Koglin 1992) und ein Austausch von monographiekonformen Magnesiumstearaten untereinander kann zu Prozesskomplika­tionen führen. Demnach ist es unbedingt erforderlich, die physikochemischen Parameter der Substanzen vor ihrer technologischen Verwendung zu prüfen.

In Ph.Eur. und USP wird ein maximaler Trocknungsverlust von 6,0 % vorgeschrieben, wobei diese Prüfung nur unzureichend auf die Funktionalität der Substanz schließen lässt und zudem noch zeit- und arbeitsaufwendig ist.

In dieser Arbeit wurde eine zerstörungsfreie Methode entwickelt, die es ermöglicht, in kürzester Zeit gleichzeitig den Wassergehalt und die Kristallinität unterschiedlichen Magnesiumstearaten mittels Nahinfrarotspektroskopie zu bestimmen. Bei dieser Methode wurden die OH-Kombinations- und Oberschwingungen im nahinfraroten Bereich des elektromagnetischen Spektrums der Proben ausgewertet. Als Referenzmethoden zur Wassergehaltsbestimmung wurden die Thermogravimetrie (TG) und die IR-Trocknungswaage eingesetzt, bei den Kristallinitätsuntersuchungen wurden DSC und TG, sowie Röntgendiffraktometrie zur Primäranalytik verwendet.

4.2.1 OH-Schwingungen von Magnesiumstearaten

Die Spektren aller 23 Magnesiumstearat-Proben (Tabelle 3.2) wurden nach der Methode in Kapitel 3.3.1 aufgenommen und in Abbildung 4.2.1 dargestellt.

Die NIR-Spektren der Magnesiumstearate wurden erheblich durch Partikelgrößenunterschiede und vor allem durch ungleichmäßige Verdichtungen der Schicht während der Messung beeinflusst, wodurch eine starke Verschiebung der Basislinie entstand. Eine stärkere Verdichtung der vermessenen Schicht, sowie eine kleine Partikelgröße der Substanz führten zu einer stärkeren Absorption der Strahlung.

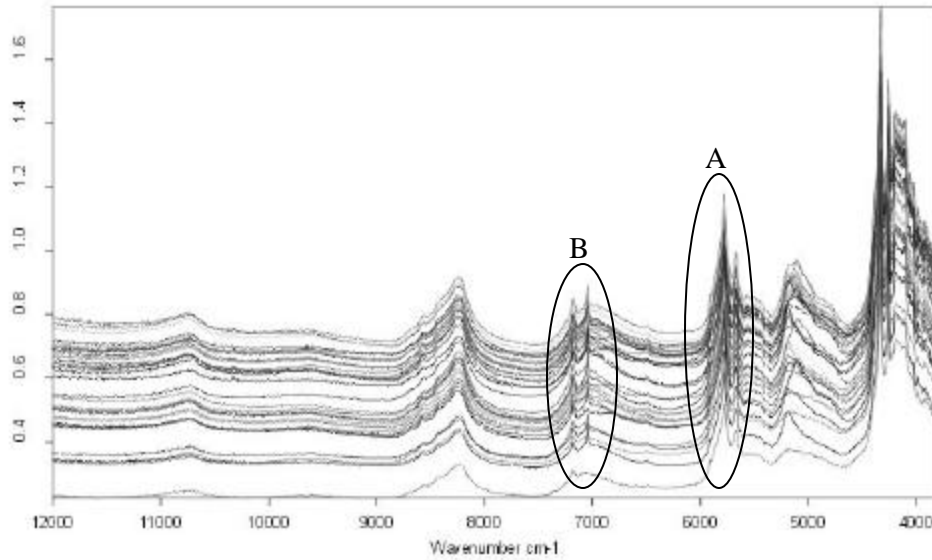


Abbildung 4.2.1 NIR-Reflexionsspektren aller Magnesiumstearate

In dem mit A gekennzeichneten Bereich sind die OH-Kombinationsschwingungen dargestellt, die sich bei ca. 5000 Wellenzahlen in einem breiten überlagerten Peak befinden.

Der schärfer ausgeprägte Bereich der ersten OH-Oberschwingung B ist bei ca. 7000 Wellenzahlen zu erkennen. Eine Reduktion der Basislinienverschiebung konnte durch mathematische Vorbehandlung der Spektren mittels Vektornormierung der Bereiche A (Abbildung 4.2.2) und B (Abbildung 4.2.3) erreicht werden.

Multiplikative Streueffekte wurden hierdurch deutlich minimiert (Kapitel 2.4.4).

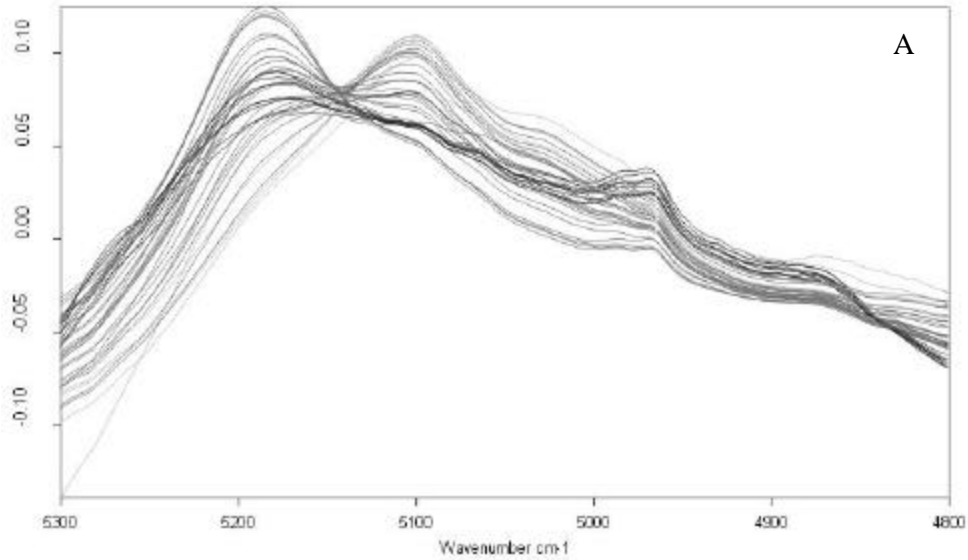


Abbildung 4.2.2 Vektornormierte OH-Kombinationsschwingung bei ca. 5000 cm⁻¹

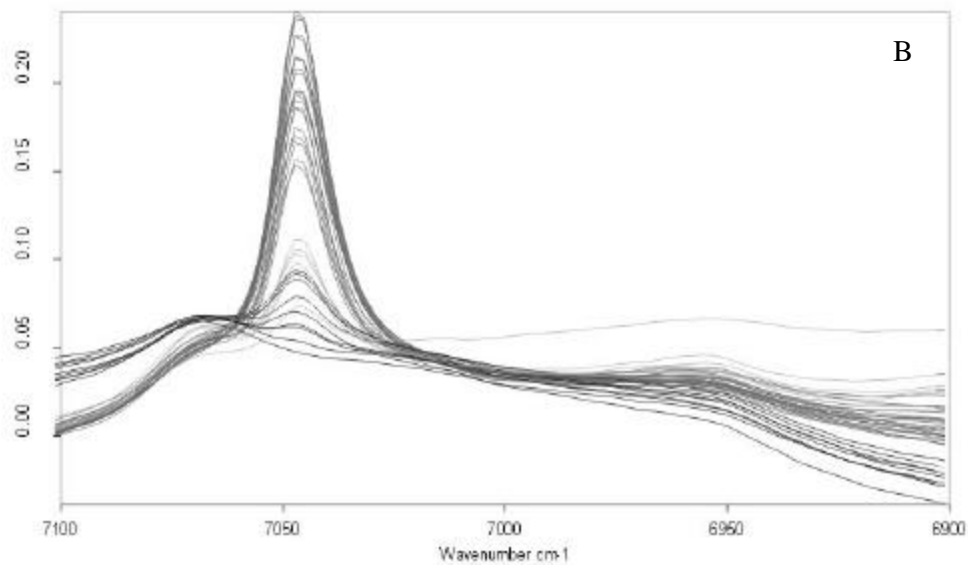


Abbildung 4.2.3 Vektornormierte erste OH-Oberschwingung bei ca. 7000 cm⁻¹

Auch durch Bildung der ersten Ableitung (Abbildung 4.2.4) konnten Streueffekte minimiert werden, so dass spektrale Einflüsse, die durch den Wassergehalt der Substanz entstanden, deutlicher dargestellt werden konnten.

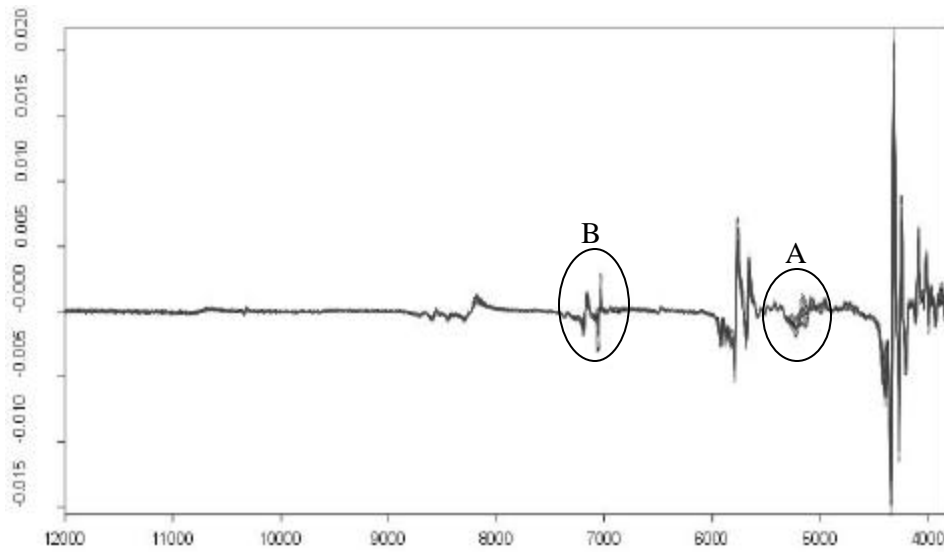


Abbildung 4.2.4 Erste Ableitung aller Magnesiumstearat-Spektren

In der vergrößerten Darstellung der zweiten Ableitung der ersten OH-Oberschwingung bei ca. 7000 cm^{-1} (Abbildung 4.2.5) sind die Unterschiede im Wassergehalt zwischen den einzelnen Proben am deutlichsten erkennbar.

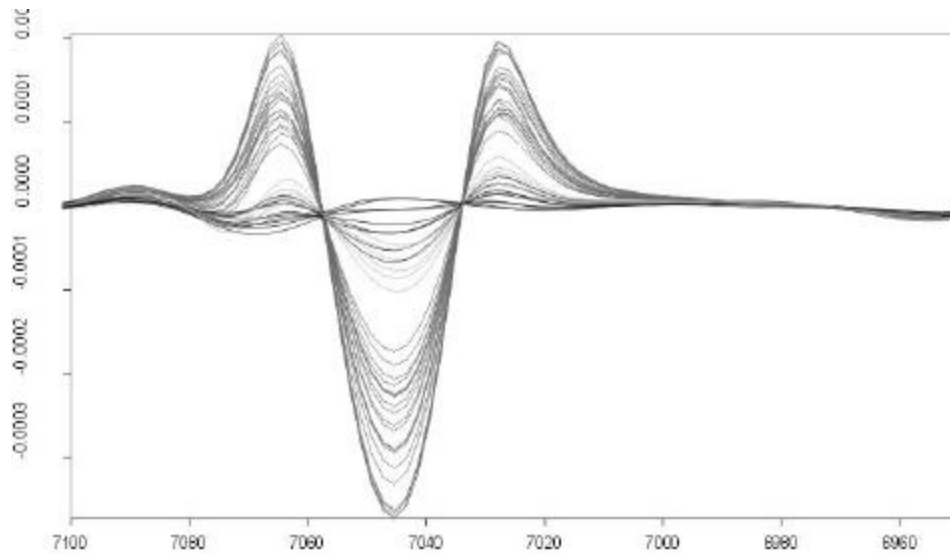


Abbildung 4.2.5 Zweite Ableitung der ersten OH-Oberschwingung aller Magnesiumstearate

4.2.2 Darstellung pseudopolymorpher Modifikationen mittels NIRS

Arbeiten von Gimet et al. (1987) zeigten bereits, dass eine Zuordnung und Quantifizierung polymorpher Formen in festen Arzneiformen mittels NIRS möglich ist. Auch Blanco et al. (2000) haben sich mit der Analyse polymorpher Formen mittels NIRS beschäftigt. Otsuka et al. (2001) verwendeten die Nahinfrarot Spektroskopie zur quantitativen Kristallinitätsanalyse von Indomethazin, Bauer et al. (2000) untersuchten die Polymorphie von Mannitol und Sorbitol mittels NIRS. In allen Arbeiten wurde die Röntgendiffraktometrie als primäre Referenzanalytik herangezogen.

Alle untersuchten Magnesiumstearate wurden zunächst nach ihren DSC- und TG-Thermogrammen (Kapitel 3.3.3) in fünf Gruppen eingeteilt (Koglin 1992). Eine Zuordnung der Kristallhabiti der Proben konnte danach auch anhand der OH-Schwingungen der NIR-Spektren in den im Kapitel 4.2.1 bereits dargestellten Bereichen durchgeführt werden. Bei den 23 Magnesiumstearaten von 12 Herstellern (Tabelle 3.2) handelte es sich um Produkte pflanzlichen und tierischen Ursprungs, die je nach Herstellungsprozess verschiedene pseudopolymorphe Modifikationen aufwiesen, wobei auch Übergangszustände und Mischungen mehrere Kristallformen identifiziert wurden.

Als Beispiel wurden für jede Gruppe ein DSC-Thermogramm und ein TG-Thermogramm dargestellt. Im DSC-Thermogramm wird durch die durchgehende Linie die Wärmestromdifferenz in mW/ mg repräsentiert (rechte y-Achse), durch die getrichelte Linie die 1. Ableitung davon (linke y-Achse). Im TG-Thermogramm zeigt die durchgehende Linie den Massenverlust der Probe in % (rechte y-Achse), die getrichelte Linie die 1. Ableitung davon (linke y-Achse).

Die Gruppe 1 beschrieb amorphe Magnesiumstearate, die nahezu kristallwasserfrei waren und lediglich oberflächlich adsorbiertes Wasser enthielten.

Hier konnten die 7 folgenden Produkte eingeordnet werden, deren charakteristische Thermogramme in Abbildung 4.2.6 und Abbildung 4.2.7 dargestellt sind: Pharma, Fagi; Pharma vegetal, Fagi; Pharma Bärlocher; Kemilub, Union Derivan; Pharma veg.; Magnesia; Desitin 866; Desitin 931

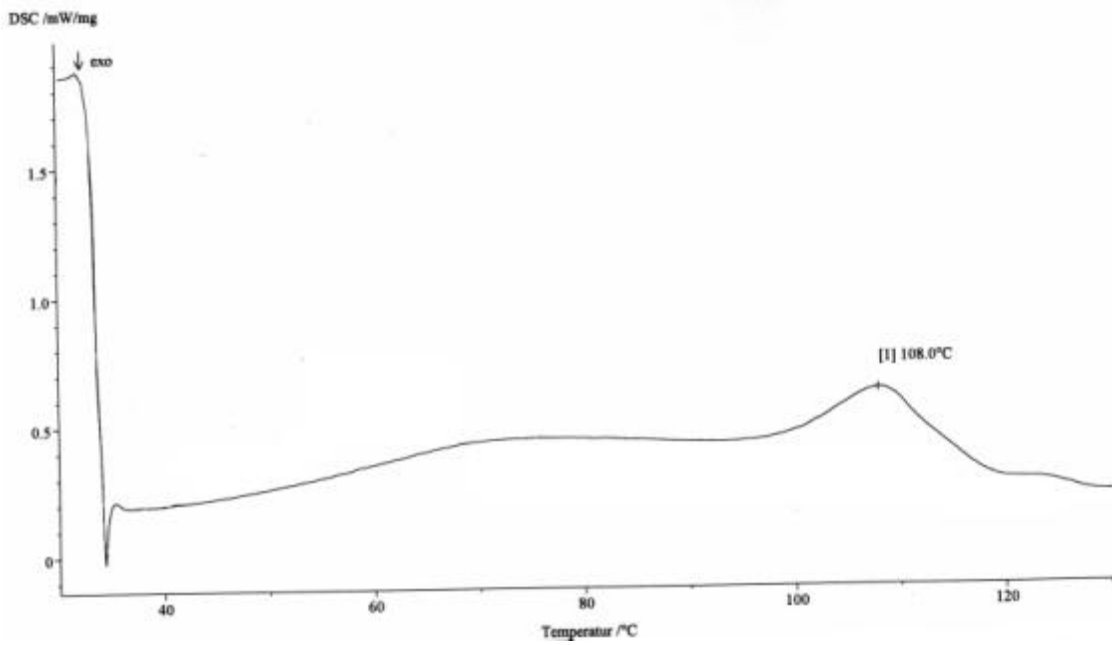


Abbildung 4.2.6 DSC-Thermogramm Magnesiumstearat Pharma, Fagi

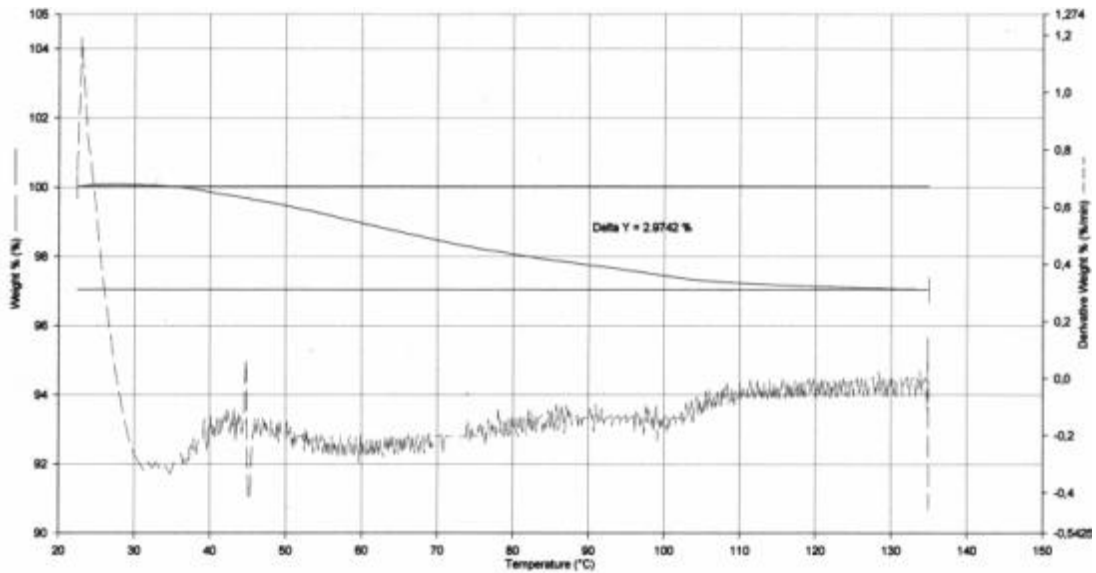


Abbildung 4.2.7 TG-Thermogramm Magnesiumstearat Pharma, Fagi (2,97 % H₂O)

Die Gruppe 2 bestand im Wesentlichen aus Magnesiumstearat Dihydraten. Diese Produkte enthielten Kristallwasser, was besonders an den endothermen Peaks im DSC Thermogramm (Abbildung 4.2.8) und dem stufigen Massenverlust im TG-Thermogramm (Abbildung 4.2.9) deutlich gesehen werden konnte. Zu dieser Gruppe gehörten die Produkte Liga E / U, Peter Greven; MF-2-V, Acros; HA Hebron; Mgs Pflanzlich und P. Lohmann.

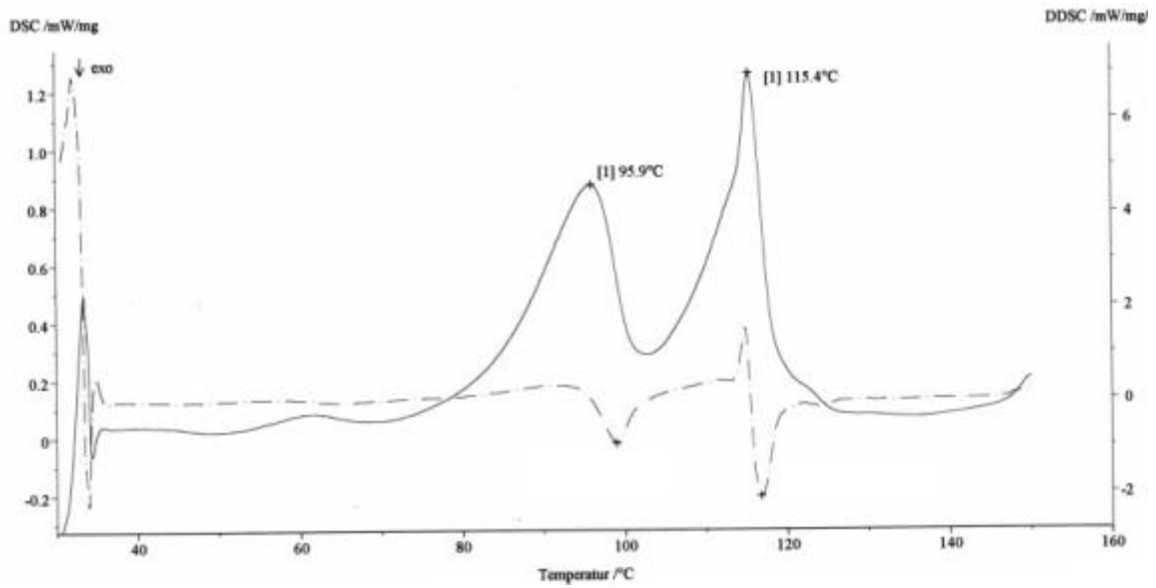


Abbildung 4.2.8 DSC-Thermogramm Liga E, Peter Greven

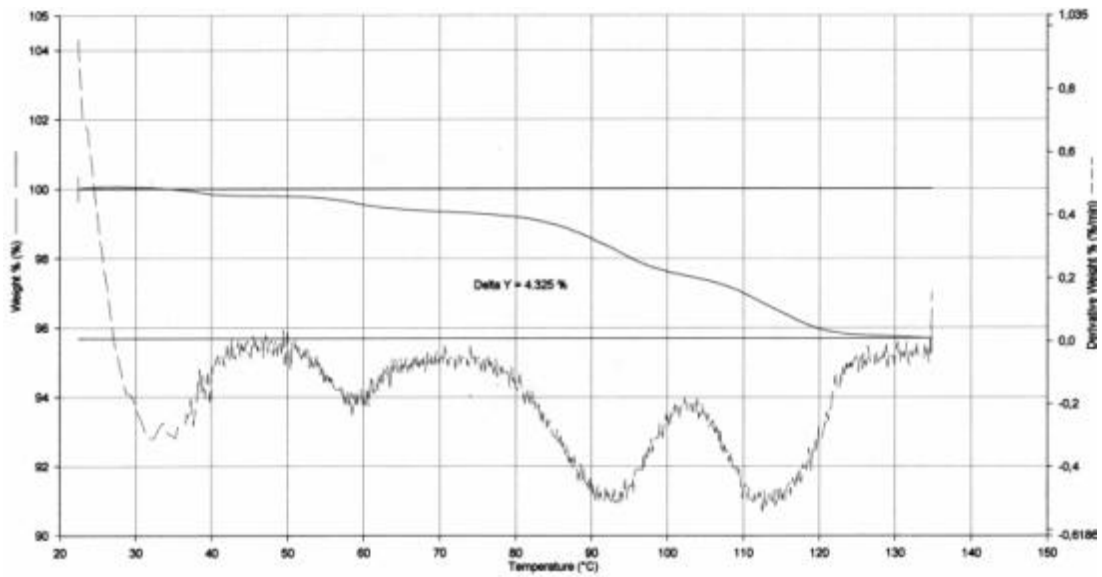


Abbildung 4.2.9 TG-Thermogramm Liga E, Peter Greven (4,33 % H₂O)

Gruppe 3 stellte Gemische verschiedener Hydrate dar, die überwiegend aus Trihydraten bestanden. Zu der Modifikation mit dem höchsten Kristallwassergehalt konnten die folgenden 6 Produkte zugeordnet werden: Pharma kosher, Bärlocher; Desitin 434; Desitin 769; Desitin 846; PM, Bärlocher; SW-F, Bärlocher.

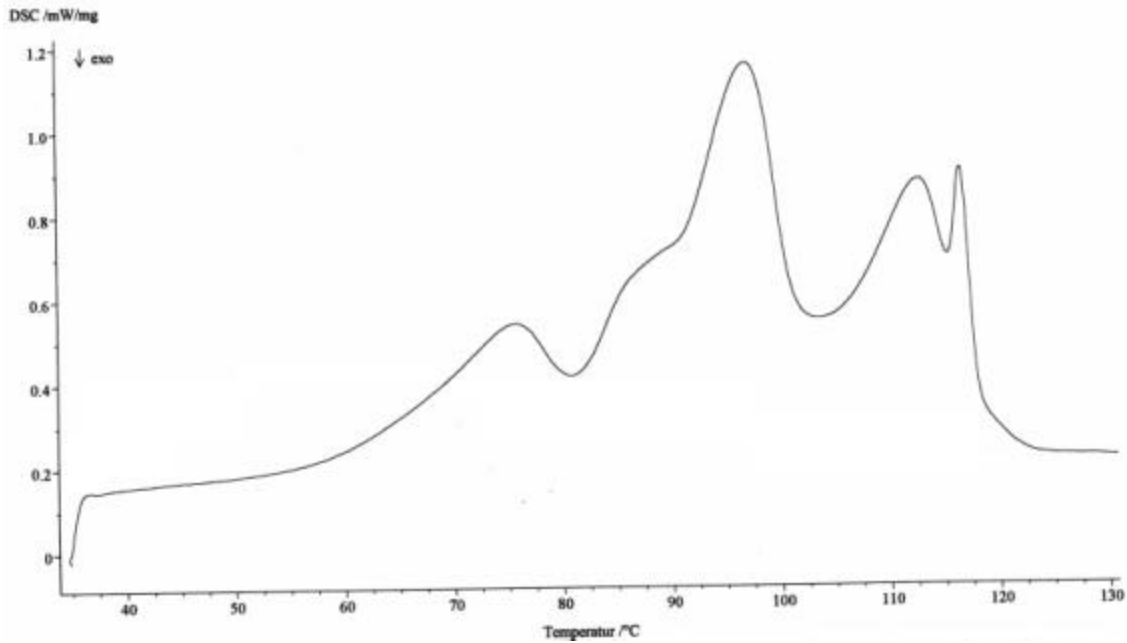


Abbildung 4.2.10 DSC-Thermogramm Pharma kosher, Bärlocher

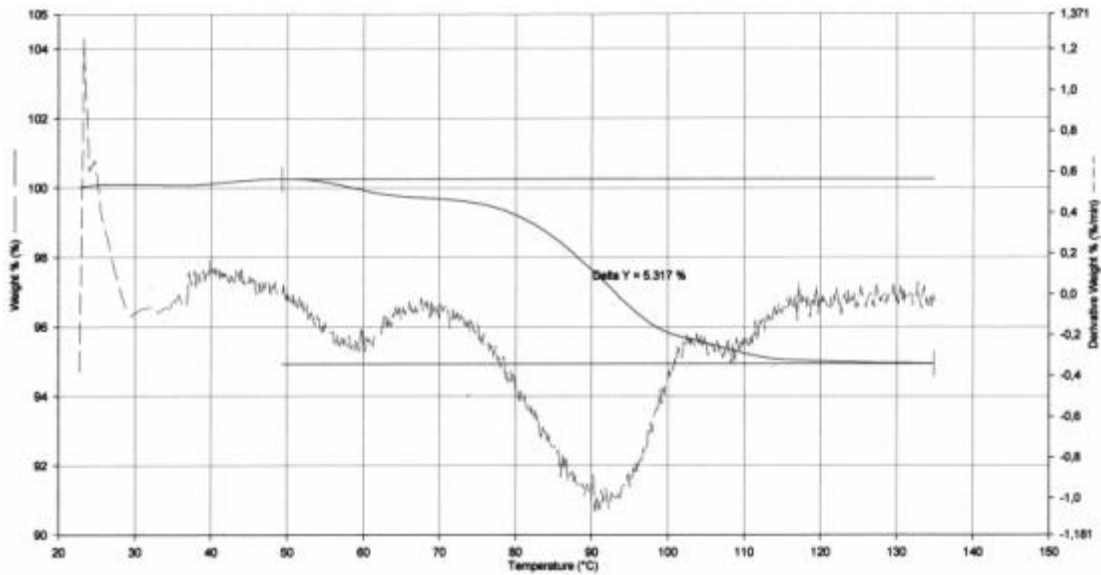


Abbildung 4.2.11 TG-Thermogramm Pharma kosher, Bärlocher (5,32 % H₂O)

Gruppe 4 bestand aus einer Mischung aus Mono-, Di- und Trihydraten. Zwei der untersuchten Produkte enthielten Übergangszustände aller Kristallformen (BP kosher, Brown und Liga T, Peter Greven), wobei auch oberflächlich adsorbiertes Wasser vorhanden war.

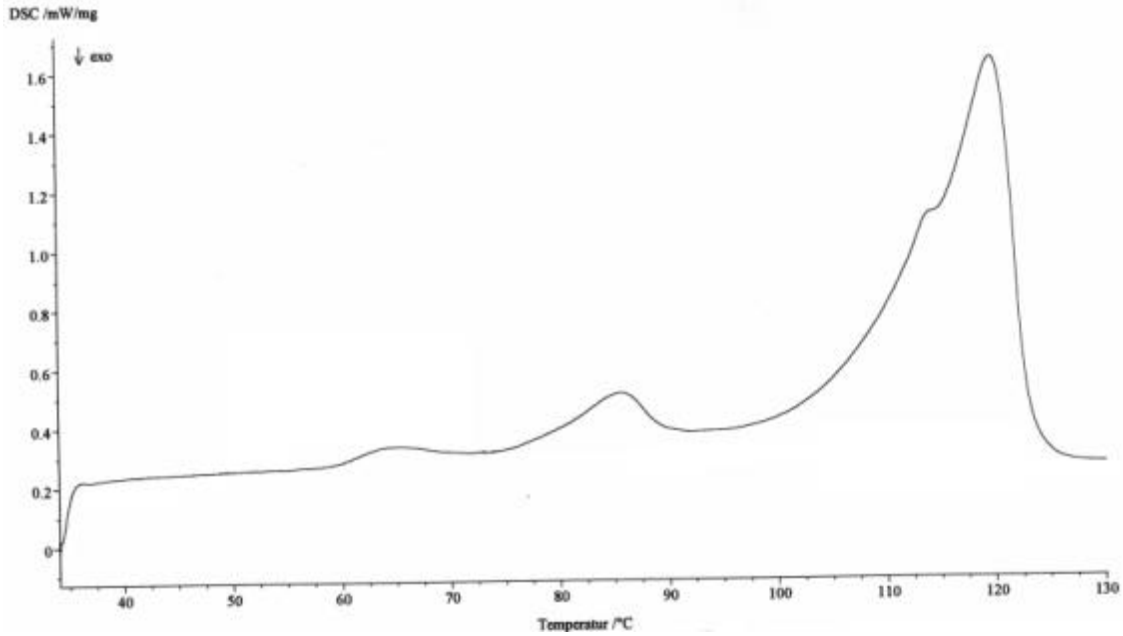


Abbildung 4.2.12 DSC-Thermogramm Liga T, Peter Greven

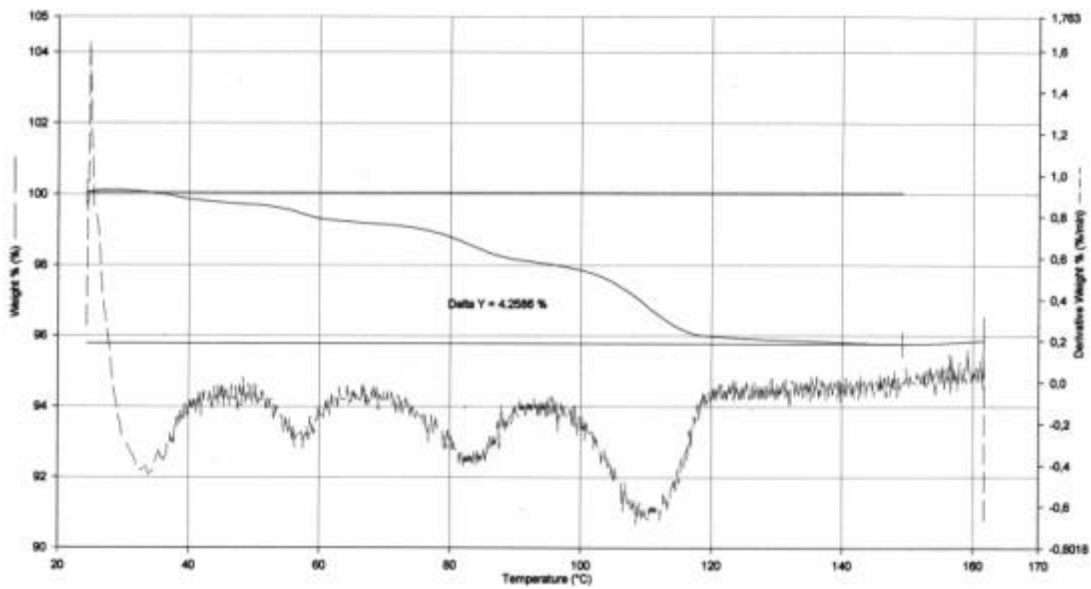


Abbildung 4.2.13 TG-Thermogramm Liga T, Peter Greven (4,26 % H₂O)

Die 5. Gruppe stellte überwiegend Monohydrate dar, die möglicherweise mit anderen Hydratformen gemischt waren. Es konnte einen deutlicher Peak im DSC-Thermogramm (Abbildung 4.2.14) und ein einstufiger Massenverlust im TG-Thermogramm (Abbildung 4.2.15) detektiert werden.

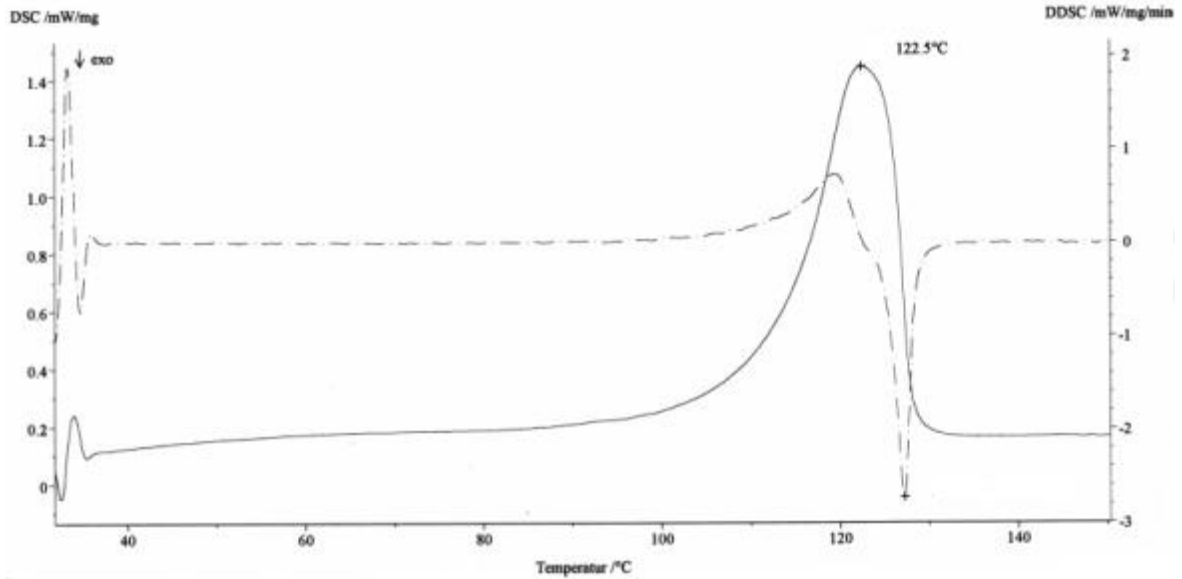


Abbildung 4.2.14 DSC-Thermogramm Magnesiumstearat Food Grade, Mallinckrodt

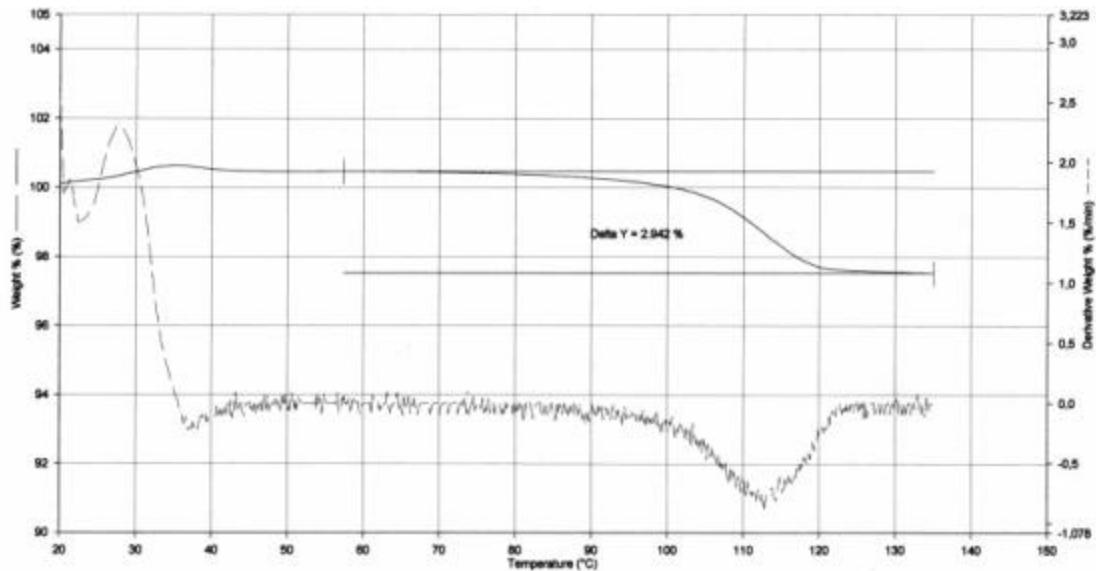


Abbildung 4.2.15 TG-Thermogramm Magnesiumstearat Food Grade, Mallinckrodt (2,94 % H₂O)

Die 23 in dieser Arbeit untersuchten Magnesiumstearate spiegeln in etwa die breiten Variation der sich auf dem Markt befindlichen Produkte wieder.

Die Detektion des auf verschiedene Weise gebundenen Wassers war mittels NIRS nicht in der gleichen Weise wie anhand der Thermogramme möglich. Die Gesamtheit aller OH-Schwingungen, d.h. vom festgebundenen Kristallwasser der verschiedenen Hydratformen und vom oberflächlich adsorbierten Wasser, stellte sich im NIR-Spektrum in einem breiten sich überlagernden Bereich dar, dessen Differenzierung schwer möglich war und nur eine grobere Zuordnung der Substanzen zuließ.

Die Röntgendiffraktometrie erwies sich hier als geeignete Referenzmethode (Kapitel 3.3.4), die eine Einteilung in 3 große Gruppen ermöglichte. Stellvertretend für jede Gruppe sind nachfolgend typische Diffraktogramme dargestellt, die auch für die sekundäre Analyse der Magnesiumstearate anhand ihrer NIR Spektren herangezogen werden konnten.

Unter den 23 Produkten konnten 7 amorphe Formen identifiziert werden, die kristallwasserfrei waren, jedoch oberflächlich adsorbiertes Wasser enthielten. Diese Zuordnung entsprach der nach DSC und TG erstellten Gruppe 1.

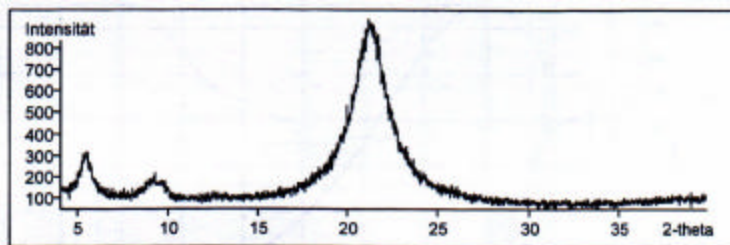


Abbildung 4.2.16 amorphes Magnesiumstearat (Quelle Friedrich)

Im Diffraktogramm in Abbildung 4.2.16 kann man deutlich einen breiten Peak mit geringer Intensität erkennen, der typisch für amorphe Zustände ist. Die Abbildung 4.2.17 hingegen zeigt ein Diffraktogramm eines plättchenförmigen Magnesiumstearats, welches ca. 1-2 mol Kristallwasser enthält. Hier ist eine doppelt so hohe Intensität eines schärfer gezackten Peaks zu erkennen.

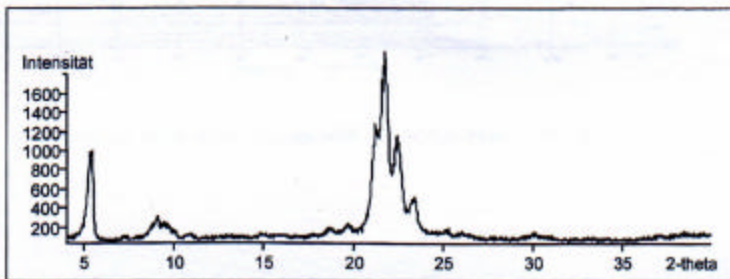


Abbildung 4.2.17 plättchenförmiges Magnesiumstearat (Quelle Friedrich)

Insgesamt wurden 10 Produkte dieser Gruppe zugeordnet, wobei hier die Produkte der Gruppen 2, 4 und 5 als Plättchen-Gemische zusammengefasst wurden. Eine Differenzierung zwischen reinen Plättchen und Plättchen-Gemischen war anhand der NIR-Spektren nur unzureichend möglich.

Als dritte Gruppe konnten nadelförmige Produkte identifiziert werden (Abbildung 4.2 18), welche die wasserreichsten Magnesiumstearate mit 2-3 mol Kristallwassergehalt darstellten.

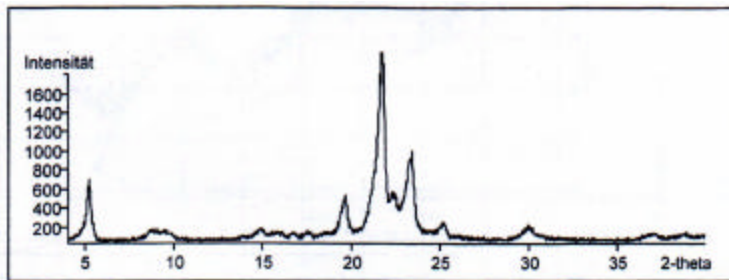


Abbildung 4.2.18 nadelförmiges Magnesiumstearat (Quelle Friedrich)

Das Diffraktogramm deutet durch den scharfen intensiven Peak bei 22 2-theta auf hohe Kristallinität und somit auf einen hohen Kristallwassergehalt hin.

In diese Gruppe wurden 6 der untersuchten Produkte eingeteilt, was der Gruppe 3 (Trihydrat-Gemische) entsprach.

Gemäß dieser Einteilung war es möglich, die Magnesiumstearate allein anhand der NIR-Spektren, besonders im Bereich der ersten Oberschwingung visuell zu charakterisieren, was aus Abbildung 4.2 19 und Abbildung 4.2 20 hervorgeht.

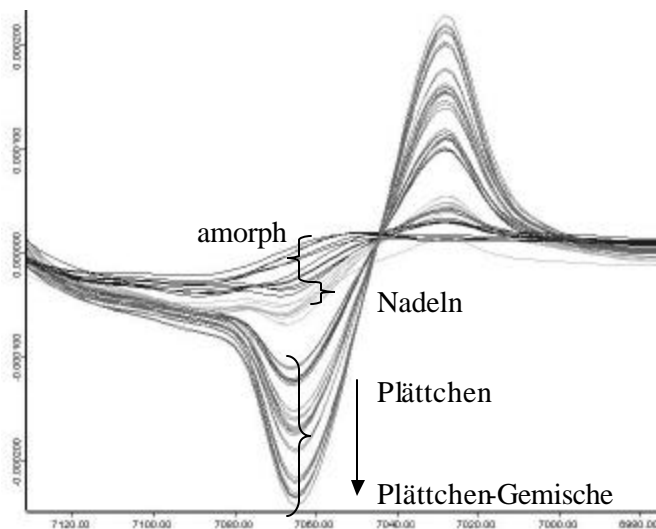


Abbildung 4.2.19 Erste Ableitung der ersten OH-Oberschwingung aller Magnesiumstearate

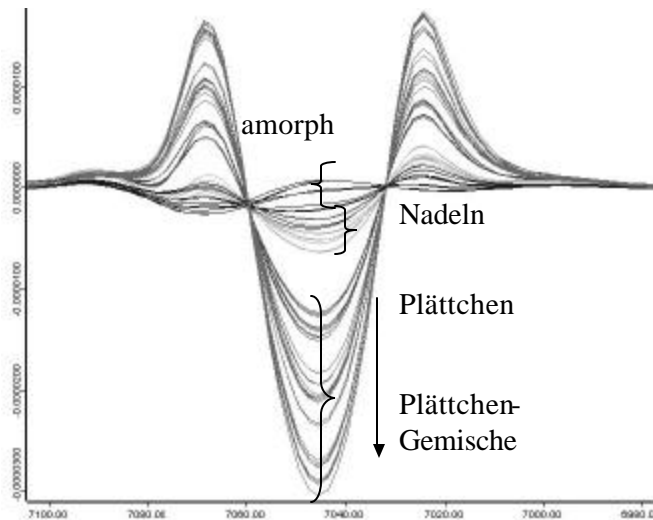


Abbildung 4.2.20 Zweite Ableitung der ersten OH-Oberschwungung aller Magnesiumstearate

4.2.2.1 Identifizierung der Herkunft mittels NIRS

Die in dieser Arbeit untersuchten Magnesiumstearate waren sowohl tierischer als auch pflanzlicher Herkunft. In der heutigen Zeit wird in der pharmazeutischen Industrie versucht auf Produkte tierischer Herkunft auf Grund möglicher Infektionen mit BSE zu verzichten. Friedrichs (2000) stellte bereits Vergleiche zu Funktionalitätsunterschieden von Magnesiumstearaten unterschiedlicher Herkunft dar. Das führte zu der Frage ob eine Differenzierung der Herkunft der Fettsäuren auch mittels NIRS möglich ist. Nach Aufnahme der NIR-Spektren und Durchführung mehrere mathematischer Spektrenvorbehandlungen stellt sich jedoch heraus, dass eine Differenzierung der Magnesiumstearate pflanzlichen (15 Produkte) und tierischen Ursprungs (8 Produkte) anhand der NIR-Spektren nicht erfolgen konnte. Die NIR-Spektren der Substanzen wurden nur durch die physikalischen oder chemischen Eigenschaften der Proben bestimmt. Da sich die Zusammensetzung der natürlichen Fettsäuregemische, die zur großtechnischen Herstellung von Magnesiumstearat verwendet werden, jedoch nicht physikalisch oder chemisch aufgrund ihrer pflanzlichen oder tierischen Herkunft unterschieden, war auch eine Unterscheidung im NIR-Spektrum nicht möglich.

4.2.3 Wassergehaltsbestimmung von Magnesiumstearat mittels NIRS

Die OH-Schwingungen in den Magnesiumstearat-Spektren konnten auch als sekundäre Methode zur Wassergehaltsbestimmung herangezogen werden.

Wie vorangehend bereits beschrieben, ist der Wassergehalt ein wichtiger Parameter, der die Funktionalität von Magnesiumstearat als Schmiermittel im Wesentlichen beeinflusst. Aus diesem Grund ist dessen Bestimmung von erheblicher Bedeutung.

In den Pharmakopöen wird die Bestimmung des Trocknungsverlustes von Magnesiumstearat vorgeschrieben. Um diese Prüfung zu vereinfachen und zu beschleunigen, wurde eine zerstörungsfreie Methode mittels NIRS entwickelt, mit der eine Wassergehaltsbestimmung verschiedenster Magnesiumstearat Handelsprodukte innerhalb von Sekunden möglich ist.

4.2.3.1 Auswahl der Referenzmethode

Die Voraussetzung für eine PLS-Regression zur Entwicklung einer quantitativen NIR-Methode stellt eine präzise Referenzanalytik dar.

Zwei Thermoanalytische Methoden (Kapitel 3.3.3) wurden als Referenzmethoden zur Nahinfrarotspektroskopie miteinander verglichen.

Zum einen wurde die Thermogravimetrie (TG) zur Wassergehaltsbestimmung eingesetzt, denn die Integration der Thermogramme nach Anlegen von Tangenten ermöglicht die Angabe des Massenverlustes der Probe in % als Trocknungsverlust (Abbildung 4.2.7/ Abbildung 4.2.9/ Abbildung 4.2.11/ Abbildung 4.2.15).

Desweiteren wurde die IR-Trocknungswaage zur Bestimmung des Trocknungsverlustes verwendet, da sie eine alternative Methode zu der von den Pharmakopöen vorgeschriebenen Methode des Trocknens im Trockenschrank darstellt.

Die in Tabelle 4.4 dargestellten Magnesiumstearat Handelsprodukte wurden als Kalibriermuster zur Modellerstellung verwendet und mittels TG- und IR-Waage analysiert. Die physikochemischen Parameter, sowie die Herkunft der Proben deckte einen breiten Bereich der sich auf dem Markt befindlichen Produkte ab.

Der herstellungsbedingte Wassergehalt der Magnesiumstearate erstreckte sich über einen Kalibrierbereich von ca. 2-6 % und entsprach somit auch dem Bereich, der üblicherweise in der pharmazeutischen Technologie eingesetzt wird.

Name	Hersteller	Herkunft	Kristallform	TG %	IR-Waage %
LIGA Euro	Peter Greven	pflanzl.	Plättchen/ Nadeln	4.92	5.33
LIGA Euro (Heumann)	Peter Greven	pflanzl.	Plättchen/ Nadeln	4.33	4.94
LIGA techn.	Peter Greven	tier.	Plättchen/ Nadeln	4.26	4.47
LIGA USP	Peter Greven	pflanzl.	Plättchen/ Nadeln	5.04	5.66
LIGA USP (Merkle 1)	Peter Greven	pflanzl.	Plättchen/ Nadeln	4.71	5.13
LIGA USP (Merkle 2)	Peter Greven	pflanzl.	Plättchen/ Nadeln	4.78	5.35
LIGA USP (Merkle 3)	Peter Greven	pflanzl.	Plättchen/ Nadeln	4.58	5.15
LIGA USP (Merkle 4)	Peter Greven	pflanzl.	Plättchen/ Nadeln	5.01	5.52
MF-2-V	Akcros	pflanzl.	Plättchen / Nadeln	3.37	4.41
MF-2-V (Klosterfrau)	Akcros	pflanzl.	Plättchen/ Nadeln	3.71	4.33
NF. IMP. Food Grade	Mallinckrodt	tier.	Plättchen/ Nadeln	2.94	3.91
NF. Non bovine	Mallinckrodt	pflanzl.	Plättchen/ Nadeln	3.45	3.88
Pflanzlich	Lohmann	pflanzl.	Plättchen/ Nadeln	3.82	4.93
Pharma	Fagi SPA	tier.	amorph	2.97	3.66
Pharma	Bärlocher	tier.	amorph	2.80	3.43
Pharma-kosher	Bärlocher	pflanzl.	Nadeln	5.32	5.62
PM	Bärlocher	tier.	Nadeln	4.54	5.04
SW-F	Bärlocher	tier.	Nadeln	3.27	4.36

Tabelle 4.4 Magnesiumstearat-Kalibriermuster

Der signifikante Unterschied beider Methoden wurde durch eine Regression in Abbildung 4.2.21 und eine Varianzanalyse dargestellt (Prüfgröße F: 127,81 > F kritisch: 4,60 E⁻¹³ ⇒ Nullhypothese wird verworfen) und durch einen T-Test (Tabelle 4.5) bestätigt.

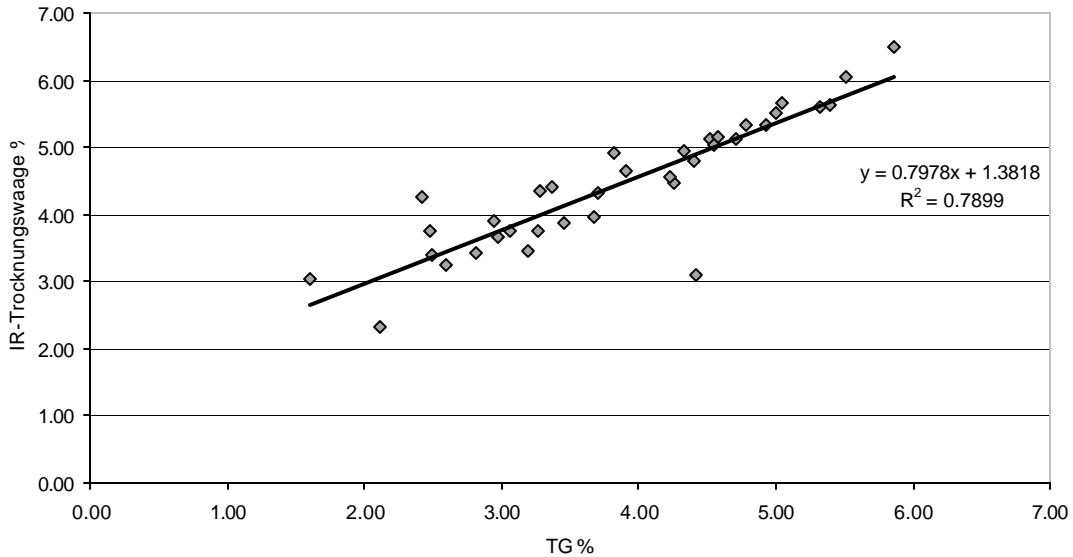


Abbildung 4.2.21 Vergleich der Referenzmethoden zur Bestimmung des Trocknungsverlustes

P-Wert für zweiseitigen T-Test: $0,0140 < 0,05 \Rightarrow$ Nullhypothese wird verworfen

Zweiseitigen t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Signifikanzniveau 0,05	TG	IR
	Variable 1	Variable 2
Mittelwert	3.86	4.46
Varianz	1.14	0.92
Beobachtungen	36	36
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	69	
t-Statistik	-2.5205	
P-Wert (T<=t) einseitig	0.0070	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1.6672	
P-Wert (T<=t) zweiseitig	0.0140	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1.9949	

Tabelle 4.5 T-Test zum Vergleich der Referenzmethoden

4.2.3.2 Kalibrierungsmodell

Zur Entwicklung des Kalibrierungsmodells zur Wassergehaltsbestimmung von Magnesiumstearaten mittels NIRS wurden PLS-Regressionen mit den Werten beider Referenzmethoden durchgeführt.

In Abbildung 4.2.22 ist die PLS-Regression mit den Referenzwerten der Thermogravimetrie als y-Variablen dargestellt.

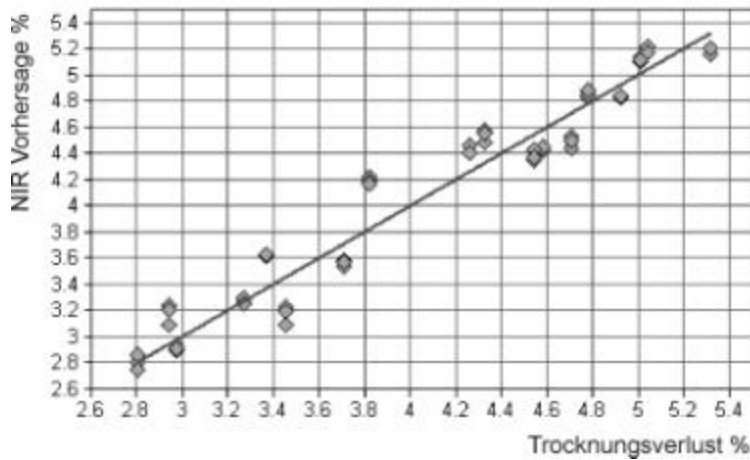


Abbildung 4.2.22 PLS-Regression von NIRS und Thermogravimetrie

Es wurde eine Kreuzvalidierung von 54 vektornormierten Spektren im Bereich von 5450-4600 cm^{-1} durchgeführt. Hierbei wurden 7 Faktoren benötigt um das Modell mit einem Korrelationskoeffizienten von 94,58 und einem RMSECV von 0,185 % zu beschreiben.

Bei Verwendung der IR-Trocknungswaage als Referenzmethode für die PLS-Regression und Kreuzvalidierung der 54 vektornormierten Spektren, wurden nur 5 Faktoren benötigt, um das Model mit einem weitaus besseren Korrelationskoeffizienten von 99,58 und einem RMSECV von nur 0,0448 % zu beschreiben (Abbildung 4.2.23).

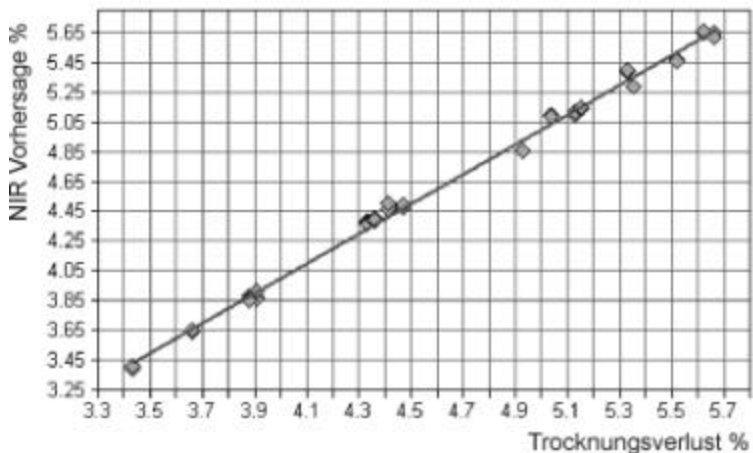


Abbildung 4.2.23 PLS-Regression von NIRS und IR-Trocknungswaage

Die Thermogravimetrie eignete sich in diesem Fall nicht als Referenzmethode bei der Methodenentwicklung zur Wassergehaltsbestimmung von Magnesiumstearaten.

Die IR-Waage lieferte präzisere Werte, die besser mit den spektralen Informationen der OH-Schwingungen korrelierten.

Daher wurde das Model in Abbildung 4.2.23 zur Gehaltsbestimmung unbekannter Proben eingesetzt, was im Folgenden überprüft wurde.

Anhand der Gegenüberstellung dieser Ergebnisse am Beispiel der Wassergehaltsbestimmung von Magnesiumstearat konnte die direkte Abhängigkeit der quantitativen Nahinfrarot-Spektroskopie von der primären Referenzanalytik dargestellt werden.

4.2.3.3 Überprüfung des Modells

Die im vorangehenden Kapitel entwickelten Kalibrierungsmodelle wurde mit den in Tabelle 4.6 aufgeführten unabhängigen Magnesiumstearat-Proben getestet.

Die Testproben deckten den gesamten Kalibrierungsbereich sowohl in Bezug auf den Wassergehalt, als auch auf Kristallinität und Herkunft ab.

Die Ergebnisse aller drei Bestimmungsmethoden (Tabelle 4.6) wurden in Abbildung 4.2.24 auch graphisch miteinander verglichen.

Nr.	Muster	Modifikation	TGA %	IR-Waage%	NIRS %
1	Acros, pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	2.42	4.27	4.50
2	Bärlocher, pflanzlich	Nadeln	5.51	6.06	5.76
3	Bärlocher, tierisch	amorph	1.60	3.04	3.43
4	Desitin 434, pflanzlich	Nadeln	5.39	5.64	5.57
5	Desitin 769, pflanzlich	Nadeln	3.90	4.64	4.56
6	Desitin 846, pflanzlich	Nadeln	5.86	6.5	5.74
7	Desitin 866, pflanzlich	amorph	2.49	3.41	3.70
8	Desitin 931, pflanzlich	amorph	4.42	3.1	3.54
9	Faci, pflanzlich	amorph	3.19	3.47	3.55
10	Ferro, tierisch	Plättchen/ Nadeln	2.47	3.76	3.88
11	Hebron, pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	4.51	5.14	5.04
12	J.M.Brown	amorph	2.11	2.32	3.21
13	Magnesia, pflanzlich	amorph	3.67	3.95	3.77
14	Mallinckrodt, pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	3.06	3.76	3.75
15	P.Greven, pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	4.22	4.56	4.61
16	P.Greven, tierisch	Plättchen/ Nadeln	3.27	3.76	4.13
17	P.Lohmann, pflanzlich	Plättchen/ Nadeln	4.40	4.81	4.69
18	Union Derivan, pflanzlich	amorph	2.59	3.25	3.63

Tabelle 4.6 Magnesiumstearat-Testproben

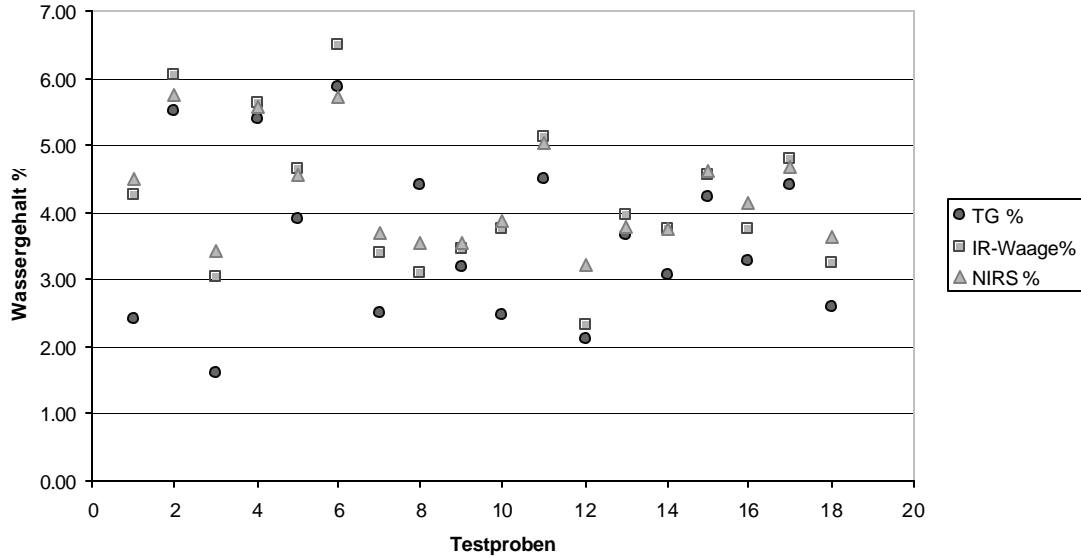


Abbildung 4.2.24 Methodenvergleich zur Wassergehaltsbestimmung von Magnesiumstearaten

Die Abbildung 4.2.24 zeigte deutliche Abweichungen der TG-Werte von den Werten der IR-Waage und der NIR Vorhersage.

Die Werte der IR-Waage und der NIR Vorhersage unterscheiden sich nicht signifikant voneinander, was auch durch einen T-Test (Tabelle 4.7) bestätigt werden konnte.

P-Wert für zweiseitigen T-Test: $0,7825 > 0,05 \Rightarrow$ Nullhypothese wird angenommen.

Zw eistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Signifikanzniveau 0,05	IR-Waage <i>Variable 1</i>	NIRS <i>Variable 2</i>
Mittelwert	4.19	4.28
Varianz	1.25	0.67
Beobachtungen	18	18
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	31	
t-Statistik	-0.2784	
P-Wert (T<=t) einseitig	0.3912	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1.6955	
P-Wert (T<=t) zweiseitig	0.7825	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	2.0395	

Tabelle 4.7 T-Test zum Vergleich von IR-Waage und NIRS

Eine Wassergehaltsbestimmung aller Magnesiumstearate konnte mittels Nahinfrarot-Spektroskopie trotz erheblicher Abweichungen ihrer physikochemischen Parameter untereinander mittels eines einzigen Kalibrierungsmodells durchgeführt werden.

Bei diesen Untersuchungen stellte sich die IR-Trocknungswaage als geeignete Referenzmethode zur Ermittlung des Trocknungsverlustes dar.

Nach vorangehender Kalibrierung des Spektrometers mit dieser Methode war eine zerstörungsfreie Wassergehaltsbestimmung mit gleichzeitiger Abschätzung der pseudopolymorphen Modifikation von Magnesiumstearaten innerhalb kürzester Zeit möglich.

4.3 Wassergehaltsbestimmung von Mikrokristalliner Cellulose

In Kapitel 3.1.3 wurde bereits beschrieben, dass das Ausgangsmaterial zur Herstellung von Mikrokristalliner Cellulose (MCC) einen entscheidenden Einfluss auf die technologische Funktionalität der Produkte und deren Einsatz als pharmazeutischer Hilfsstoff hat.

Der Polymerisationsgrad ist ein wichtiger Parameter, der die Pulvereigenschaften, sowie Kompaktierungs- und Komprimierungseigenschaften von MCC wesentlich beeinflusst.

In der Monographie des Ph.Eur. wird dieser Parameter zur Identitätsprüfung vorgeschrieben, denn er gibt Aufschluss über die pharmazeutische Qualität des Materials. In die Berechnung des Polymerisationsgrades geht u. a. der Trocknungsverlustes der Probe mit ein, welcher durch dreistündiges Trocknen im Trockenschrank bei 100-105 °C ermittelt wird und nicht mehr als 6,0 % betragen darf. In der USP ist ein Trocknungsverlust von 7,0 % erlaubt.

Die Wasseraufnahme von MCC ist proportional zum Polymerisierungsgrad, da ein höheres Molekulargewicht eine höhere Wasseraufnahmefähigkeit bedingt (Shlieout et al. 2002).

Hierdurch wird die u.a. die Bedeutung der Wassergehaltsbestimmung von Mcc deutlich.

Die Identifizierung von Cellulosen mit Hilfe verschiedener spektroskopischer Methoden wurde schon von Langkilde et al. (1995) dargestellt. Auch Ebube et al. (1999) haben verschiedene Avicel Produkte mittels NIRS charakterisiert. In Arbeiten von Buckton et al. (1999) konnte der Einfluss der Wasseraufnahme auf MCC-Spektren gezeigt werden.

In dieser Arbeit sollte ein Model zur Wassergehaltsbestimmung 15 verschiedener MCC-Handelsprodukte von 5 Herstellern (Tabelle 3.3) in Unabhängigkeit ihrer physikochemischen Eigenschaften erstellt werden, um die Bestimmung des Trocknungsverlustes wesentlich zu vereinfachen.

4.3.1 Darstellung der OH-Schwingungen von Mikrokristalliner Cellulose

OH-Gruppen treten bei Mikrokristalliner Cellulose kovalent gebunden und als oberflächlich adsorbiertes Wasser auf.

In Anlehnung an die vorhergehenden Kapitel konnten die OH-Schwingungen daher ebenfalls gut im NIR-Spektrum detektiert werden.

Die Originalspektren aller Proben sind in Abbildung 4.3.1 dargestellt, die Bereiche der OH-Schwingungen sind mit (A) und (B) gekennzeichnet.

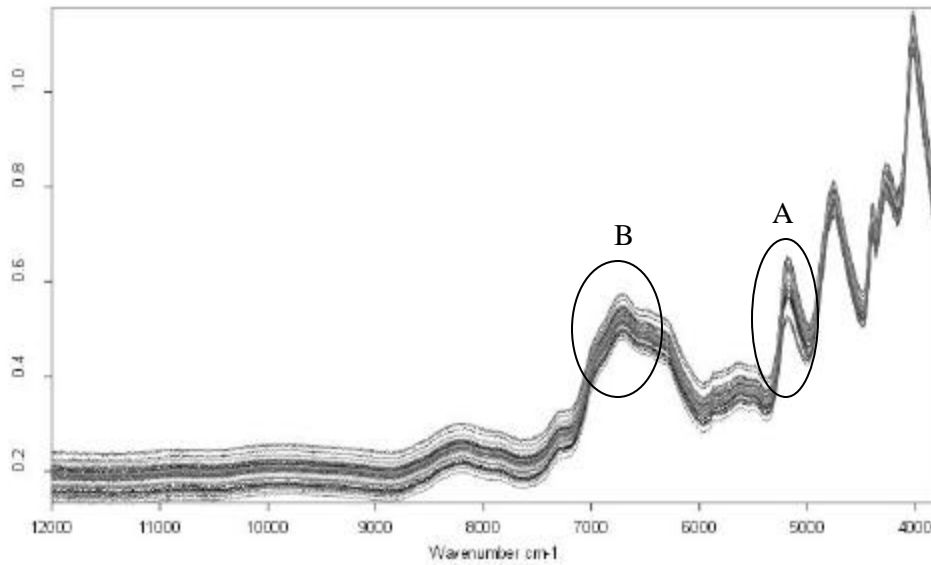


Abbildung 4.3.1 Reflexionsspektren aller Mikrokristallinen Cellulosen

Die OH-Kombinationsschwingung (A) war deutlich bei ca. 5000 cm^{-1} zu erkennen, die erste OH-Oberschwingung (B) wurde innerhalb eines stark überlagerten Bereichs um 7000 cm^{-1} detektiert. Die Streueffekte, die sich in den unbehandelten MCC-Spektren hauptsächlich durch eine gleichmäßige Basislinienverschiebung bemerkbar machten, traten aufgrund der Partikelgrößenunterschiede (50 bis $185\text{ }\mu\text{m}$) der vermessenen Produkte auf (O’Neil et al. 1999). Um jedoch OH-Schwingungsunterschiede trotz unterschiedlicher Partikelgrößen der Substanzen besser darstellen zu können, wurde eine Spektrenvorbehandlung durch Vektornormierung des Bereichs von $4900\text{-}5300\text{ cm}^{-1}$ durchgeführt. Hierdurch ließen sich multiplikative Streueffekte durch Partikelgrößendifferenzen minimieren (Abbildung 4.3.2).

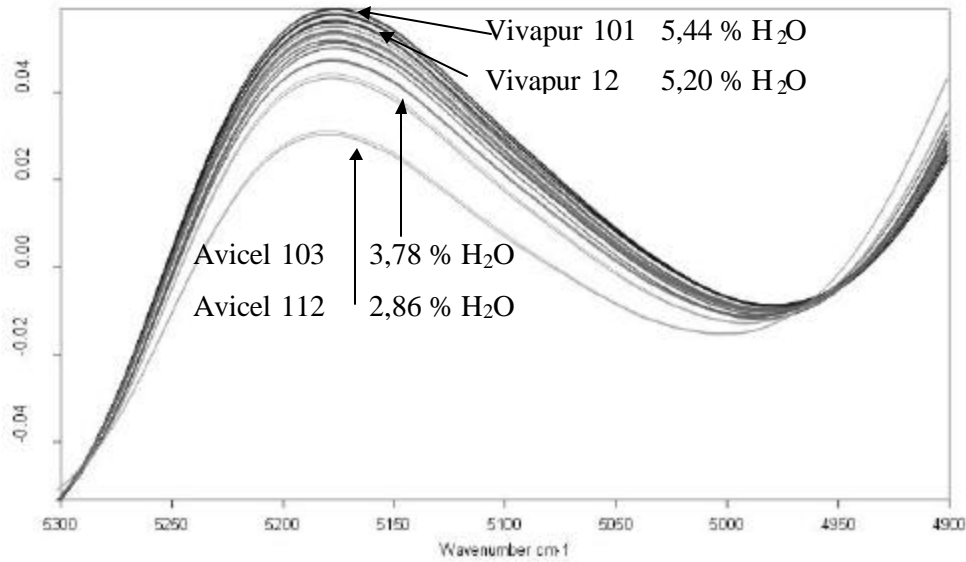


Abbildung 4.3.2 Vektornormierte Reflexionsspektren im Bereich der OH-Kombinationsschwingung

Die Intensität der Absorption verläuft bei vektornormierten Spektren direkt proportional zum Wassergehalt der Probe, was durch hell (trockene) und dunkel (feuchte) gezeichnete Spektren erkennbar ist.

In Abbildung 4.3.2 sind die Spektren der beiden trockensten und feuchtesten aller untersuchten Produkte markiert.

Auch die erste und zweite Ableitung der OH-Schwingungen sind geeignet, um die Differenzen im Wassergehalt deutlicher darzustellen.

Die Pfeile in Abbildung 4.3.3 und Abbildung 4.3.4 verdeutlichen die Wasserzunahme der Proben von den helleren zu den dunkleren Spektren. Dieser Effekt ist sowohl in der OH-Kombinations- als auch in der OH-Oberschwingung gut zu erkennen.

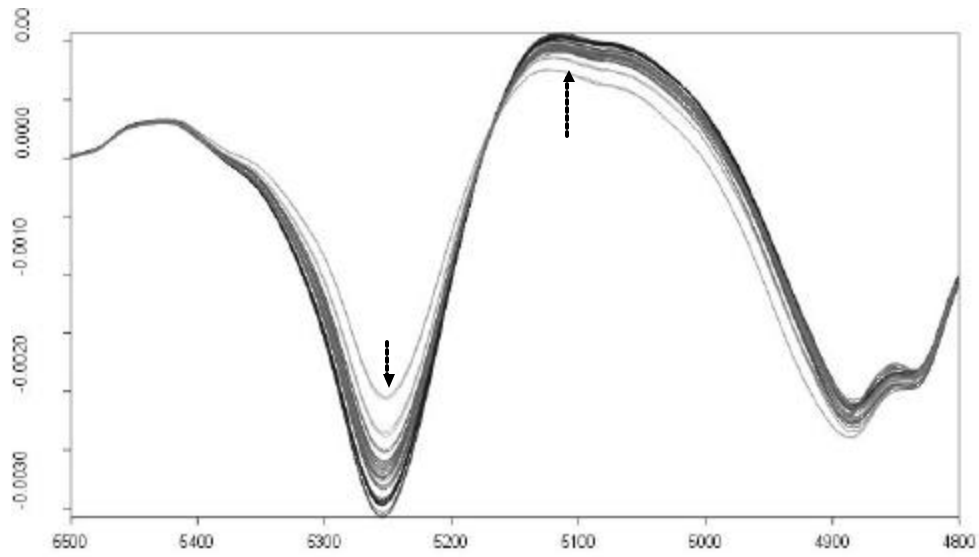


Abbildung 4.3.3 Effekt der Wasserzunahme (in Pfeilrichtung) in der 1. Ableitung der OH-Kombinationsschwingung von MCC

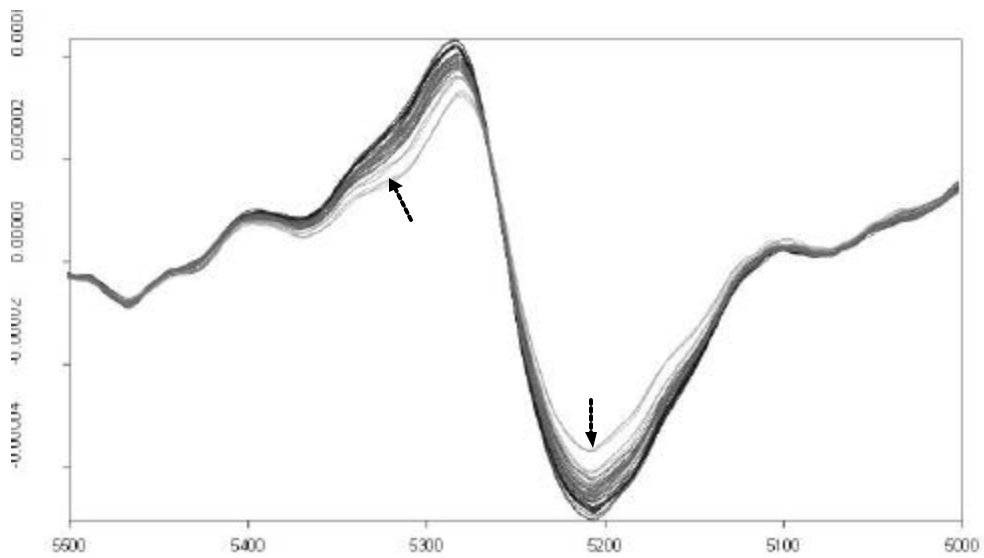


Abbildung 4.3.4 Effekt der Wasserzunahme (in Pfeilrichtung) in der 2. Ableitung der ersten OH-Oberschwingung von MCC

Die MCC-Proben wiesen aufgrund ihrer Herstellung einen unterschiedlichen Trocknungsverlust auf, der sich über einen Bereich von 2,86 % bei Avicel 112 (FMC) bis zu 5,44 % bei Vivapur (Rettenmeier) über eine Spannweite von 2,58 % erstreckte.

Die innere Festigkeit von Tabletten wird hauptsächlich durch van der Waals-Kräfte und durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen bedingt. Daher ist bei MCC als Hilfsstoff zur Direkttablettierung eine bestimmte Restfeuchte erforderlich, damit sich diese Bindungen bilden können.

Auf dem Markt sind jedoch auch Produkte mit geringer Feuchte erhältlich, die vor allem zur Verarbeitung hydrolyseempfindlicher Wirkstoffe eingesetzt werden. Zu diesen Produkten gehören u. a. die Produkte Avicel PH 103/ 112 (FMC), die laut Spezifikation nur 1,5 % Wasser enthalten sollten, aber bei Lagerung unter normalen Umgebungsfeuchten aufgrund ihrer Polarität schnell oberflächlich Wasser adsorbieren. Dies war auch der Grund, weshalb die in dieser Arbeit untersuchten Produkte nicht mehr der Spezifikation entsprachen.

Die Sorptionsisotherme in Abbildung 4.3.5 zeigt den Verlauf der Wasseraufnahme und Wasserabgabe von Avicel PH 102 (A102) und Vivacel PH 102 (V102) bei Lagerung unter verschiedenen relativen Feuchten (Klein 1998).

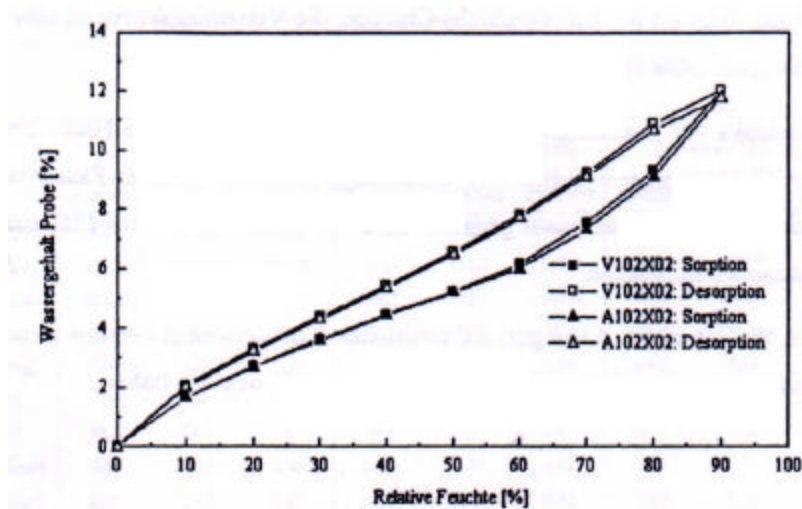


Abbildung 4.3.5 Sorptionsisotherme von Mikrokristalliner Cellulose (Quelle Klein)

4.3.2 Kalibrierungsmodell zur Wassergehaltsbestimmung

Die Referenzwerte zur Wassergehaltsbestimmung der Mikrokristallinen Cellulosen wurden mittels IR-Trocknungswaage ermittelt (Kapitel 3.3.3.2), die NIR-Spektren wurden gemäß Kapitel 3.3.1 aufgenommen. Für die Untersuchungen wurden alle in Tabelle 3.3 aufgeführten Proben verwendet.

Durch eine Hauptkomponentenanalyse mit unbehandelten MCC-Spektren konnte im Zweifaktoren-Plott in Abbildung 4.3.6 dargestellt werden, dass der spektrale Einfluss von Partikelgröße (PC1, x-Achse) und Wassergehalt (PC2, y-Achse) durch die wichtigsten ersten beiden Hauptkomponenten beschrieben wurde.

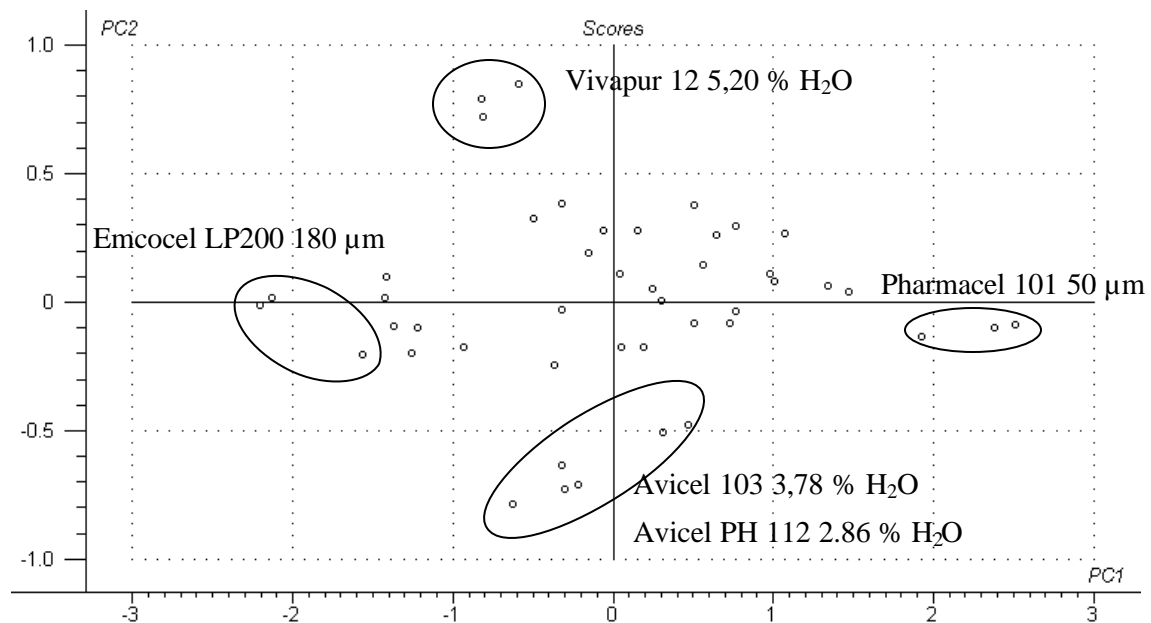


Abbildung 4.3.6 Zweifaktoren-Plott der Hauptkomponentenanalyse von MCC

Die x-Achse stellte die erste Hauptkomponente dar und beschrieb im Wesentlichen die Partikelgröße. Die mittlere Korngröße der vermessenen Produkte nimmt von rechts (50 µm) nach links (185 µm) zu.

Die y-Achse bildete die zweite Hauptkomponente, welche den Wassergehalt der Produkte repräsentierte. Eine Zunahme der Produktfeuchte ist von unten nach oben zu erkennen.

Der Einfluß der ersten Komponente (Partikelgröße) konnte, wie bereits in Abbildung 4.3.2-Abbildung 4.3.4 beschrieben, durch mathematische Vorbehandlung der Spektren minimiert werden.

Anhand dieser Voruntersuchungen, konnte von einer guten Korrelation von spektraler Information und Trocknungsverlust der Mikrokristallinen Cellulosen ausgegangen werden, was sich durch die folgende PLS-Regression (Abbildung 4.3.7) bestätigte.

Als Spektrenvorbehandlung wurde die zweite Ableitung des spektralen Bereiches von 4500-5500 cm^{-1} gewählt und daraufhin eine PLS-Regression mit anschließender Kreuzvalidierung durchgeführt.

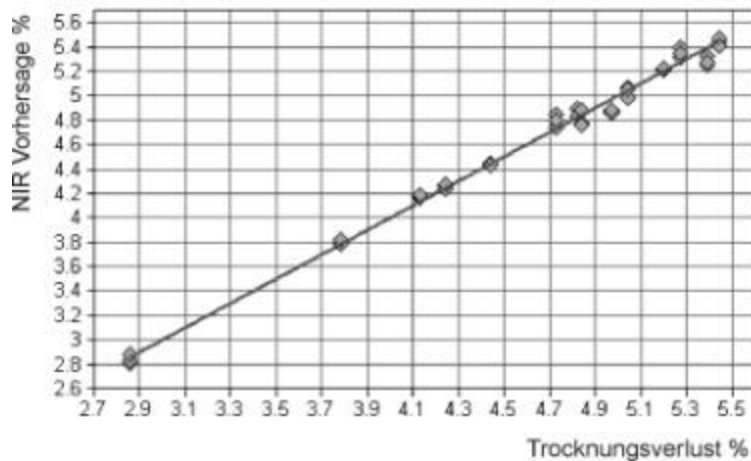


Abbildung 4.3.7 PLS-Regression mit 42 MCC-Spektren

Es wurden nur 4 Faktoren benötigt um dieses Modell zu beschreiben und bei einem Korrelationskoeffizienten von 99,26 und einem RMSECV von 0,059 % lag eine gute Korrelation von spektraler Information und Referenzanalytik vor.

4.3.3 Überprüfung des Modells

Das im vorhergegangenen Kapitel entwickelte Modell zur Wassergehaltsbestimmung von Mikrokristallinen Cellulosen wurde mit 30 unabhängigen Testproben überprüft. Hierzu wurden weitere Chargen der in Tabelle 3.3 beschriebenen Produkte verwendet, die ebenfalls mittels IR-Trocknungswaage analysiert wurden (Anhang Kapitel 7.7).

Im Diagramm in Abbildung 4.3.8 ist eine Gegenüberstellung der mittels IR-Waage und mittels NIR vorhergesagten Werte dargestellt.

Es war kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Methoden zu erkennen, was auch durch einen T-Test in Tabelle 4.8 bestätigt wurde.

Bis auf wenige Ausnahmen lag die durch die Spektren vorhergesagten Werte im Bereich der mittels IR-Waage ermittelten Werte.

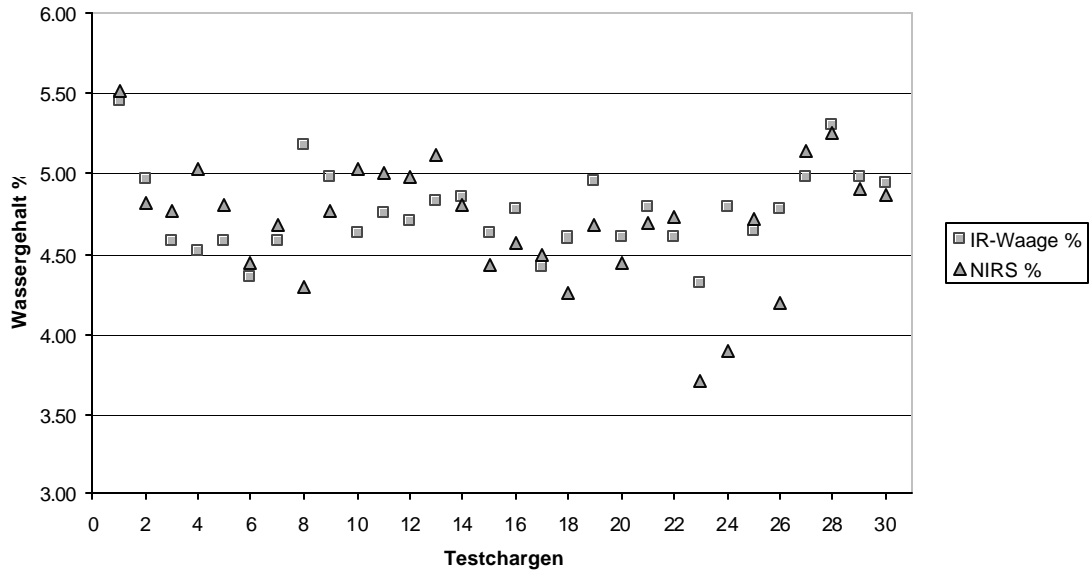


Abbildung 4.3.8 Methodenvergleich zur Wassergehaltsbestimmung von MCC

P-Wert für zweiseitigen T-Test: $0,42 > 0,05 \Rightarrow$ Nullhypothese wird angenommen

Zw eistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen	NIRS	IR-Waage
Signifikanzniveau 0,05	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mittelwert	4.70	4.77
Varianz	0.15	0.07
Beobachtungen	30	30
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	51	
t-Statistik	-0.8113	
P-Wert ($T <= t$) einseitig	0.2105	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1.6753	
P-Wert ($T <= t$) zweiseitig	0.4210	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	2.0076	

Tabelle 4.8 T-Test zum Methodenvergleich

4.4 Wassergehaltsbestimmung von Stärke mittels Nahinfrarot Spektroskopie

Der Wassergehalt ist mit einer der wichtigsten technologischen Parameter, die beim Einsatz von Stärke als technologischem Hilfsstoff geprüft wird.

Wie in Kapitel 3.1.4 schon erwähnt, stellen die Pharmakopöen unterschiedliche Anforderungen an pharmazeutisch genutzte Stärke, denn die USP unterscheidet als einziges Arzneibuch nicht zwischen der Herkunft der Stärke und lässt nur geringeren Wassergehalt zu. Beim Aufbau eines Stärkekorns wechseln sich amorphe mit kristallinen Regionen ab und bilden ein dreidimensionales Netzwerk von schwammartiger Struktur, in dessen Bereichen Wasser auf unterschiedliche Art und Weise eingelagert sein kann.

Die primären und die beiden sekundären Hydroxylgruppen des Glucose-Monomers sind für die konstitutionelle Bindung des Wassers im Stärkemolekül von Bedeutung. Adsorption von Wassermolekülen tritt nur in den amorphen Bereichen des Stärkekorns auf, die etwa 70 % ausmachen, denn in den kristallinen Bereichen übersteigt die Bindungsstärke der Wasserstoffbrücken von Glucose-Molekülketten untereinander, die der Wassermoleküle. Daneben ist in Stärke auch Kapillarwasser zu finden. Die Kristallinität des Stärkekorns nimmt mit steigender Menge adsorbierten Wassers zu (Stahl).

Der Gesamtwassergehalt der Stärke ist von der Herkunft abhängig und kann bei handelsüblichen Produkten zwischen 10 und 20 % liegen. Hiervon sind ca. 8-11 % fest gebunden, der Rest liegt als adsorbiertes Wasser und als Kapillarwasser vor.

Kartoffelstärken weisen mit 17-20 % den höchsten Wassergehalt auf.

4.4.1 Darstellung der OH-Schwingungen von Stärke

Die NIR-Spektroskopie bietet auch bei Stärken die Möglichkeit, die Schwingungen des auf unterschiedlichste Weise gebundenen Wassers zu detektieren. Die Stärke-Spektren können somit wiederum zur quantitativen Wassergehaltsbestimmung genutzt werden.

In Abbildung 4.4.1 sind die unbehandelten Reflexionsspektren aller untersuchten Stärken aus Tabelle 3.4 dargestellt.

Die NIR-Spektren wurden gemäß Kapitel 3.3.1 aufgenommen, die Referenzanalytik erfolgte durch Bestimmung des Trocknungsverlustes im Trockenschrank (Kap. 3.3.3.1).

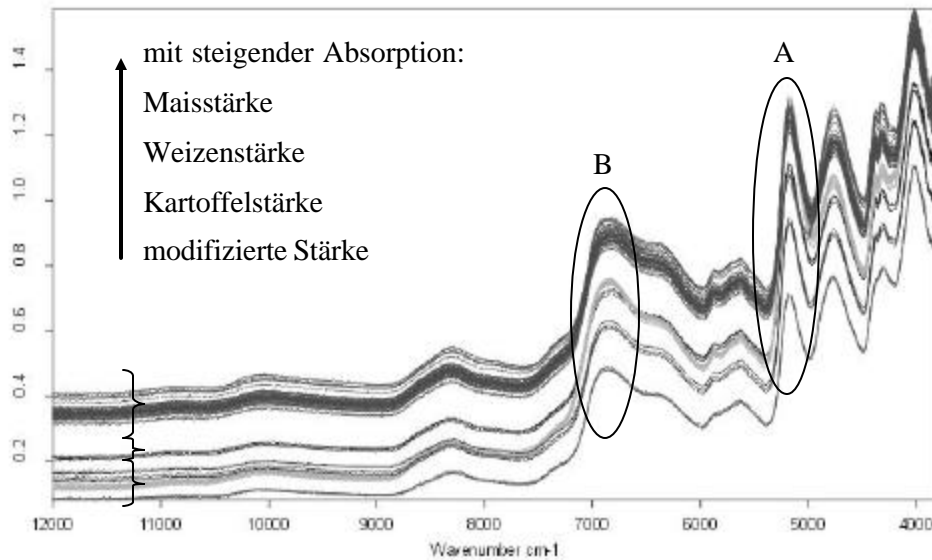


Abbildung 4.4.1 Reflexionsspektren aller Stärken

In den Stärke-Spektren war eine deutliche Gruppierung durch starke Basislinienverschiebung zu erkennen. Dieser multiplikative Streueffekt trat durch unterschiedliche Korngrößen der nativen Stärken und modifizierten Produkte auf.

Maisstärke wies mit ca. 15 μm die kleinste mittlere Korngröße auf, was die höchste Absorption der Strahlung bewirkte, es folgten Weizenstärke mit 25 μm , Kartoffelstärke mit 35 μm und die modifizierten Produkte mit 80 und 175 μm , die durch die Modifizierung eine Quellung und somit eine Partikelvergrößerung erfahren haben (C*Pharm 93000 80 μm , C*Pharm 12012 175 μm).

Die OH-Kombinationsschwingung wurde in Abbildung 4.4.1 bei ca. 5000 cm^{-1} , die erste OH-Oberschwingung bei 7000 cm^{-1} durch die eingekreisten Bereiche A und B markiert.

Wie bereits in vorhergehenden Kapiteln beschrieben, konnte der Streueffekt der Partikelgrößendifferenzen auch hier durch Vektornormierung der Spektren minimiert werden, wodurch vor allem im Bereich von 5300-4900 cm^{-1} die spektralen Effekte der unterschiedlichen Wassergehälte deutlicher herausgestellt werden konnten (Abbildung 4.4.2).

Die Kartoffelstärken zeigten mit 15-21 % Trocknungsverlust den intensivsten Peak, gefolgt von den Maisstärken, die ca. 10 % Trocknungsverlust aufwiesen. Die geringste Absorption, da auch den geringsten Wassergehalt (ca. 2-6 %), hatten die prägelatinierten und die getrockneten Maisstärken, die ebenfalls in die Untersuchung miteinbezogen wurden.

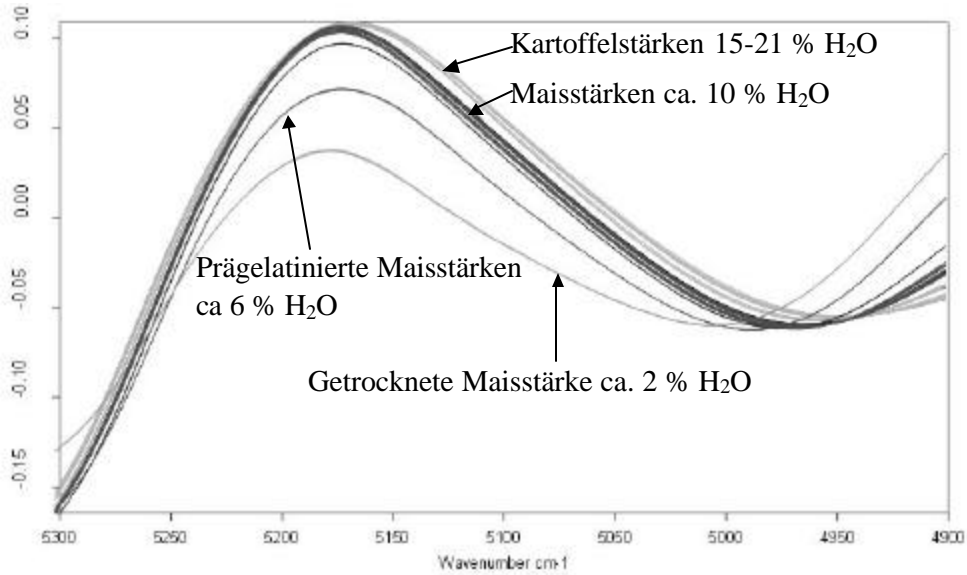


Abbildung 4.4.2 OH-Kombinationsschwingung der vektornormierten Stärke-Spektren

Auch in der ersten Ableitung der OH-Kombinationsschwingung waren die spektralen Effekte unterschiedlichen Wassergehalts gut darstellbar (Abbildung 4.4.3). Durch den Pfeil markiert, trat bei ca. 5100 cm^{-1} eine Abnahme der Absorption mit abnehmender Probenfeuchte auf.

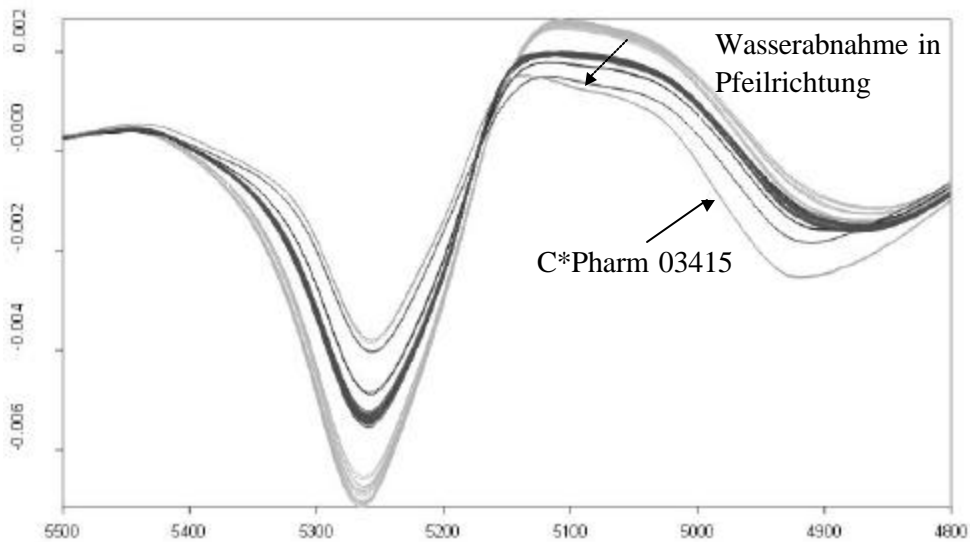


Abbildung 4.4.3 Erste Ableitung der OH-Kombinationsschwingung

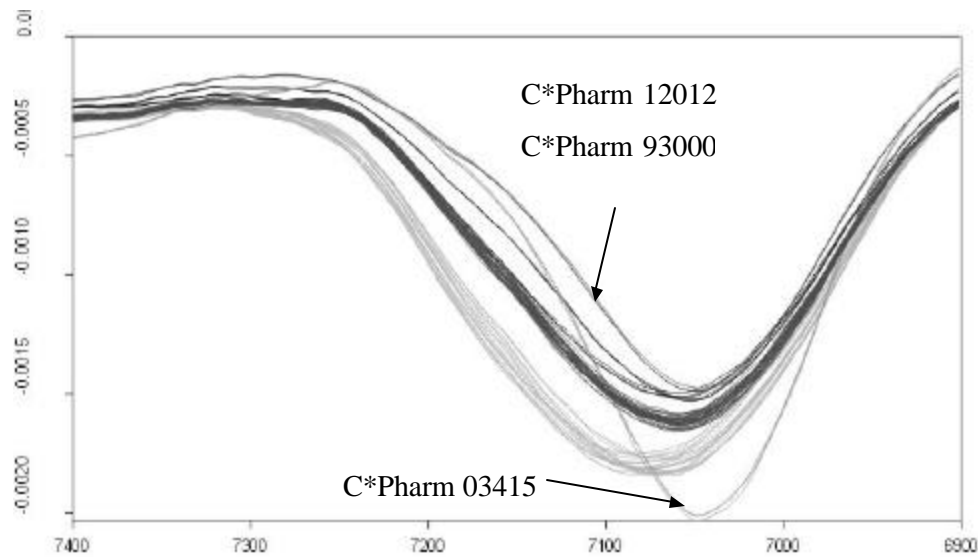


Abbildung 4.4.4 Erste Ableitung der ersten OH-Oberschwingung

Es konnte ein zusätzliche Bandenverschiebung erkannt werden, die durch Trocknung der Stärkekörner beim Produkt C*Pharm 03415 entstand.

Dieser Effekt konnte besonders in Abbildung 4.4.4 durch die erste OH-Oberschwingung gezeigt werden, denn hier ist bei der getrockneten Maisstärke C*Pharm 03415 eine deutliche Bandenverschiebung des schärfer ausgeprägten OH-Peaks zu kleineren Wellenzahlen erkennbar.

Dieses deutet daraufhin, dass durch den Trocknungsprozess hauptsächlich das oberflächlich gebundene Wasser aus den amorphen Bereichen des Stärkekorns entfernt wurde und die OH-Schwingung durch das restliche fest gebundene Kristallwasser verursacht wird.

Im Gegensatz dazu weisen die prägelatinierten Stärken (C*Pharm 12012/ 93000) diesen Effekt nicht auf, obwohl sie auch einen geringeren Wassergehalt als die nativen Produkte aufwiesen.

Durch eine Hauptkomponentenanalyse konnte gezeigt werden, dass alle untersuchten Produkte aufgrund ihrer Herkunft eindeutig voneinander unterscheidbar waren.

In Abbildung 4.4.5 ist ein Zweifaktoren-Plott der ersten und zweiten Hauptkomponente dargestellt.

Die Spektren wiesen deutliche Unterschiede auf, die durch Kornstruktur und Partikelgröße, sowie den artbedingten unterschiedlichen Wassergehalt der Stärken entstanden. Aus diesem Grund war eine gute Zuordnung der Proben mit physikochemischen Differenzen anhand ihrer NIR-Spektren möglich.

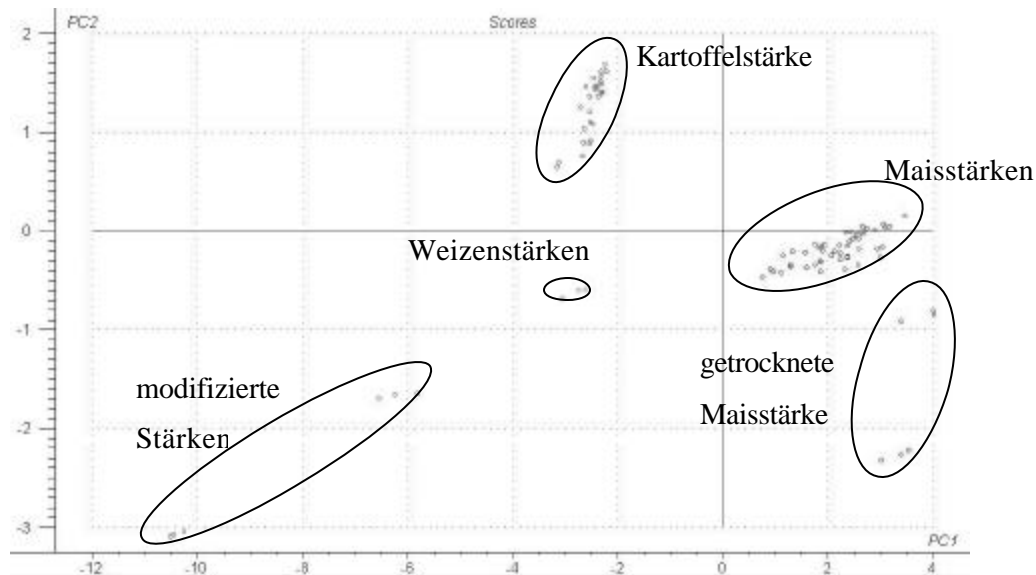


Abbildung 4.4.5 PCA aller untersuchten Stärken im Bereich von 5000-7000 cm^{-1}

4.4.2 Kalibrierungsmodell

Die OH-Schwingungen der Stärke-Spektren hatten eine ausreichende Intensität und spektrale Varianz, um ein quantitatives Modell mittels chemometrischer PLS-Regression zur Wassergehaltsbestimmung aller Stärke-Produkte zu entwickeln.

Hierbei wurde eine Kreuzvalidierung des vektornormierten Spektralbereichs von 5450-4600 cm^{-1} und der mittels Trocknungsverlust ermittelten Referenzdaten durchgeführt.

In Abbildung 4.4.6 ist die erhaltene Regressionsgerade mit einem Korrelationskoeffizienten von 99,71 und einem RMSECV von 0,193 % dargestellt.

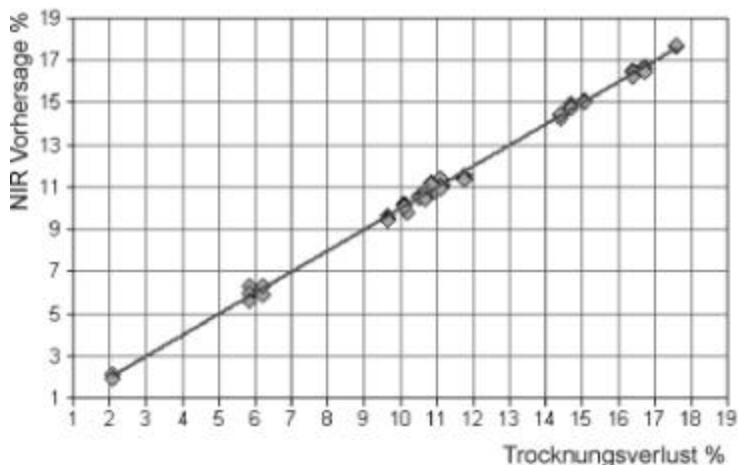


Abbildung 4.4.6 PLS-Regression von Stärke-Spektren und Trocknungsverlust

Anhand dieses Modells, welches durch 6 Faktoren beschrieben werden konnte, wurde gezeigt, dass eine gemeinsame Wassergehaltsbestimmung aller Stärke-Produkte, trotz starker physikochemischer Unterschiede, mittels NIR möglich war.

4.4.3 Überprüfung des Modells

Das Modell wurde an 8 unabhängigen Chargen der bereits für das Kalibrierungsmodell verwendeten Stärke-Produkte überprüft, deren Trocknungsverlust im Trockenschrank bestimmt wurde.

Nr.	Testproben	NIRS %	Trocknungsverlust %
1	C*Pharm 03302 Cerestar(CS1)	10.07	9.82
2	C*Pharm 03302 Cerestar (LO2)	10.50	11.09
3	C*Pharm 03413 Cerestar (AP1)	10.11	10.26
4	C*Pharm 03413 Cerestar (AP3)	10.23	10.18
5	Supra NP Bacterio Roquette (RO1)	16.18	17.20
6	Extra Weiss Roquette (MR2)	9.66	9.68
7	Solani Amylum AVEBE (AV1)	16.86	17.53
8	Solani Amylum AVEBE (ST1)	16.69	17.65

Tabelle 4.9 Stärke-Testchargen

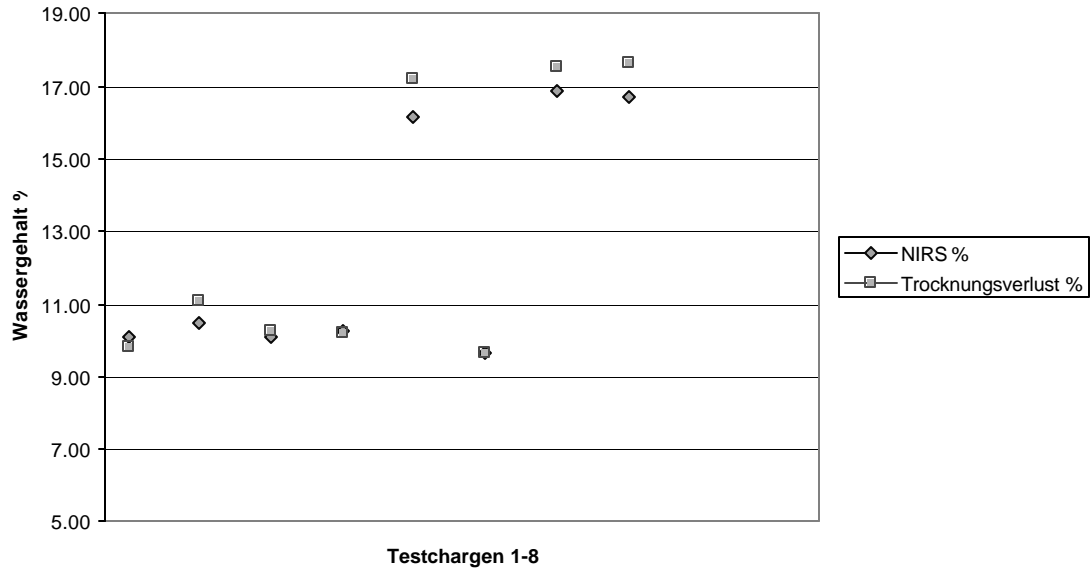


Abbildung 4.4.7 Methodenvergleich zur Wassergehaltsbestimmung von Stärke

Die untersuchten Chargen ließen sich sehr gut mittels NIRS bestimmen, denn es traten nur geringe Abweichungen zu den Referenzwerten auf (Tabelle 4.9/ Abbildung 4.4.7).

Eine gemeinsame Wassergehaltsbestimmung von verschiedenen Stärkeprodukten ist mit einem Kalibrierungsmodell mit NIRS möglich.

5 Ergebnisse und Diskussion – Teil 2

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit wurde eine Methode zur Gehaltsbestimmung von Tablettenkernen mit zwei Wirkstoffen mittels Nahinfrarot Spektroskopie entwickelt. Die Nahinfrarot Spektroskopie bietet in der pharmazeutischen Industrie durch ihre zerstörungsfreie, schnelle Technologie die Möglichkeit, die Produktqualität zu jedem Zeitpunkt sicher stellen zu können und eine 100 % In-Prozess-Kontrolle zu ermöglichen (Afnan 1998). Die Durchführung einer Methodenentwicklung zur Gehaltsbestimmung mittels NIRS ist jedoch aufwändig und setzt drei wesentliche Punkte voraus, die zunächst geprüft werden müssen. Hierunter fallen die Überprüfung der theoretischen Durchführbarkeit, der praktischen Durchführbarkeit und der chemometrischen Durchführbarkeit. Anschließend muss die Methode nach anerkannten Richtlinien validiert werden (Blanco et al. 1999; PASG 2001) um erfolgreich eingesetzt werden zu können.

5.1 Untersuchung der Wirkstoffe mittels NIRS

Die wichtigste Voraussetzung bei der Entwicklung einer quantitativen NIRS-Methode ist die Überprüfung der NIR-Aktivität der zu bestimmenden Wirkstoffe. Wie in Kapitel 3.2 bereits beschrieben, stellten Kalium- und Magnesiumaspartat die Wirkstoffe der Arzneiform dar.

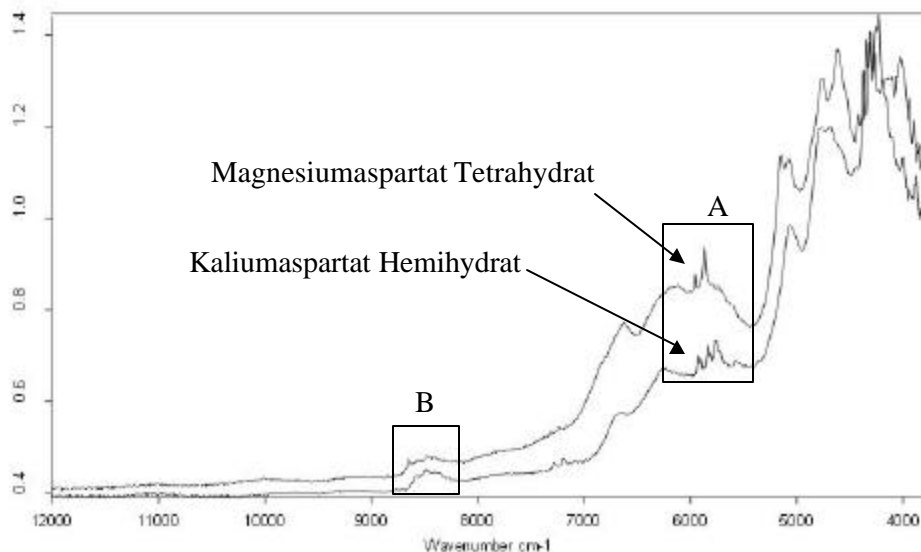


Abbildung 5.1.1 Reflexionsspektren von Kalium- und Magnesiumaspartat

Im unbehandelten Originalspektrum der Wirkstoffe (Abbildung 5.1.1) konnten im Bereich der ersten Oberschwingung charakteristische scharfe Peaks detektiert werden (A), die sich reproduzierbar zur Differenzierung und Quantifizierung beider Wirkstoffe eigneten. Der zweite Oberton dieser Schwingung ließ sich ebenfalls im Spektrum darstellen (B), hatte aber eine weitaus schwächere Intensität und war dadurch stärker von Streueffekten überlagert. Da der auswertbare Bereich gut anhand der Wirkstoffspektren ermittelt werden konnte, wurde durch Testmessungen von Pulvermischungen, Granulaten und Tablettenkernen der Originalrezeptur (Kapitel 3.4.1) überprüft, ob sich die Wirkstoff-Peaks auch in unterschiedlichen Hilfsstoff-Matrizes reproduzierbar darstellen ließen.

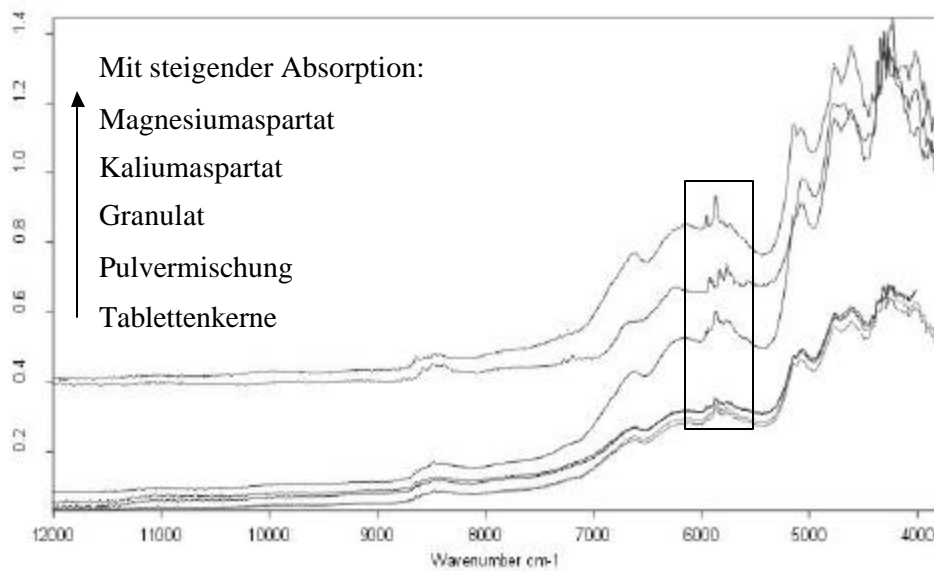


Abbildung 5.1.2 Spektren von Wirkstoff, Pulvermischung, Granulat, Tabletten

Abbildung 5.1.2 zeigte, dass sich im Bereich um 6000 cm^{-1} ein ausgeprägter überlagerter Peak beider Wirkstoffe in allen drei Arzneiformen detektieren ließ. Die Basislinienverschiebung entstand durch die unterschiedliche Partikelgröße / -form und die unterschiedliche Verdichtung der vermessenen Proben, wodurch die Spektren stark beeinflusst wurden.

Es konnte gezeigt werden, dass beide Wirkstoffe detektierbare Schwingungen im nahinfraroten Bereich besaßen, die auch in der Hilfsstoffmatrix der Tablettenkerne selektiv identifiziert werden konnten.

Die Voraussetzung für eine Quantifizierung der Wirkstoffe mittels NIRS stellte eine validierte Referenzanalytik dar, die bei der PLS-Regression zur chemometrischen Vorhersage des Gehaltes als y-Variable benötigt wird.

In Kapitel 3.4.7 wurde bereits beschrieben, dass zur Gehaltsbestimmung von Magnesiumaspartat und Kaliumaspartat zum einen die AAS (Kapitel 3.4.7.1) zur Bestimmung der Kationen und zum anderen die HPLC (Kapitel 3.4.7.2) zur Bestimmung der Aspartate verwendet wurde.

Hier zeigte sich eine Diskrepanz zur NIR-Spektroskopie, denn durch die elektromagnetische Anregung der Moleküle konnten beide Wirkstoffe im Spektrum, im Unterschied zur den Referenzmethoden, eindeutig getrennt voneinander detektiert werden.

Dieser Effekt lag an der stöchiometrischen Zusammensetzung der Verbindungen und der Menge des gebundenen Kristallwassers, welches erheblich zur Schwingung der Gesamtverbindung beitrug (Kapitel 4.1).

Das zweiwertige Magnesium-Kation bindet zwei Aspartat-Anionen und 4 mol Kristallwasser, das einwertige Kalium-Kation bindet ein Aspartat-Anion und 0,5 mol Kristallwasser, wodurch eine veränderte Kristallmorphologie der Salze entstand. Dieser physikalische Parameter wirkte sich stark auf die NIR-Spektren aus (Kapitel 4.2.2, Abbildung 5.1.1), wurde jedoch in der nasschemischen Referenzanalytik nicht berücksichtigt, denn dort wird der Kristallwassergehalt nicht miterfasst. Hinzukommt, dass anorganische Verbindungen keine Schwingungen im NIR-Bereich aufweisen, weshalb Magnesiumaspartat und Kaliumaspartat schon aus diesem Grund bei der NIR-Methode nur als Gesamtverbindung selektiv bestimmt werden können.

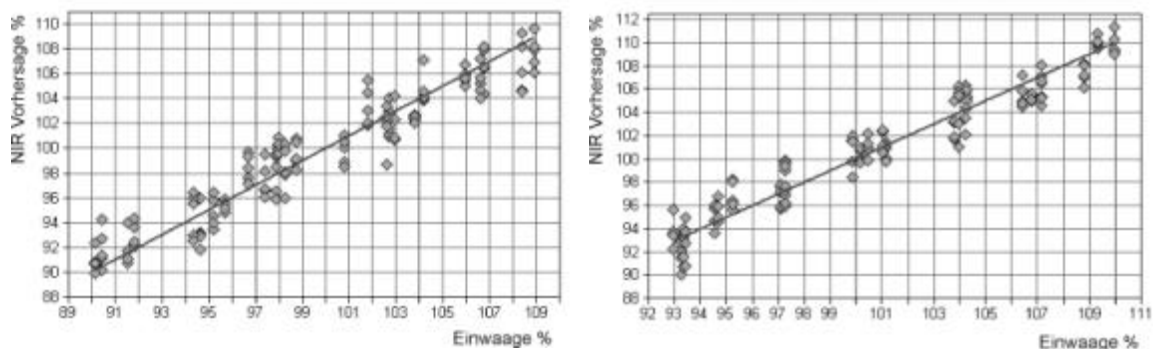
Um die Ergebnisse der hier durchgeführten Referenzmethoden trotzdem als y-Variablen für eine PLS-Regression verwenden zu können, musste zunächst eine stöchiometrische Umrechnung von Kalium-/ Magnesium-Gehalt und wasserfreiem Gesamtaspartat-Gehalt in Kaliumaspartat*0,5 H₂O-Gehalt und Magnesiumaspartat*4 H₂O-Gehalt durchgeführt werden. Hieraus ergab sich der Nachteil, dass sich beide Methodenfehler additiv auf die Ergebnisse auswirkten, was bei der Gehaltsbestimmung mittels NIRS zu berücksichtigen war.

5.1.1 Testkalibrierungen von Pulvermischungen

Die Entwicklung einer NIR-Methode zur Gehaltsbestimmung von Tabletten, und hierbei besonders die Herstellung geeigneter unabhängiger Kalibriermuster ist sehr aufwändig, daher sollten bereits frühzeitig Machbarkeitsstudien durchgeführt werden, um abschätzen zu können, ob eine Quantifizierung beider Wirkstoffe innerhalb der Hilfsstoffmatrix überhaupt möglich ist.

In dieser Arbeit wurde bereits zu Beginn der Methodenentwicklung Testkalibrierungen mit 26 unterschiedlichen Pulvermischungen aus Wirkstoffen und Hilfsstoffen der Formulierung durchgeführt, wobei der Wirkstoffgehalt im Bereich von 90-110 % zufällig variiert wurde. Es wurden jeweils 5 Spektren der unabhängigen Mischung n aufgenommen und mit der Einwaage der Wirkstoffe in % korreliert, ohne eine Referenzanalytik durchzuführen (Moffat 1998). In Arbeiten von Molt et al. 1996 und Wargo et al. 1996 wurde bereits über NIR-Quantifizierungen von Pulvermischungen berichtet. Charakterisierungen von Pulvermischungen mittels NIRS wurden auch von Burger et al. 1998 durchgeführt. In Abbildung 5.1.3 sind PLS-Regressionen von jeweils 130 Pulvermischungsspektren dargestellt, die es ermöglichten, a) Kaliumaspartat % und b) Magnesiumaspartat % mittels NIRS zu quantifizieren.

Anhand dieser Ergebnisse konnte man von einer guten NIR-Vorhersage der Wirkstoffgehalte ausgehen, bei der sich eine insgesamt erfolgreiche Methodenentwicklung andeutete.



a) Kaliumaspartat %

Rang: 9; R^2 : 91,62; RMSECV: 1,59 %

b) Magnesiumaspartat %

Rang: 6; R^2 : 93,6; RMSECV: 1,59 %

Abbildung 5.1.3 Testkalibrierungen von Pulvermischungen

5.2 Einfluss des Scale downs auf die Kalibriermuster

In Kapitel 3.4.1 wurde bereits beschrieben, dass zur quantitativen Methodenentwicklung eine ausreichende Anzahl unabhängiger Kalibriermuster benötigt werden, die einen breiten Kalibrierungsbereich abdecken und deren physikalische Eigenschaften mit denen der Produktionschargen übereinstimmen müssen. In dieser Arbeit wurden nach Abschluss der erfolgreichen Testkalibrierungen 30 synthetische Kalibrierchargen durch Scale down des Produktionsansatzes und zufällige Variation der Wirkstoffkonzentration im Bereich von 70 % und 130 % hergestellt.

Da diese synthetischen Muster in einem Maßstab von 1 kg hergestellt wurden, mussten zunächst die physikalischen Eigenschaften der Granulate und Tablettenkerne untersucht und mit denen der Produktionschargen verglichen werden.

Ziel dieser Untersuchungen war, einen Überblick über die wichtigsten Einflüsse bei der Kalibriermusterherstellung zu bekommen, die sich später in den NIR-Spektren widerspiegeln und letztendlich die Ergebnisse der Gehaltsbestimmung beeinflussen würden.

5.2.1 Untersuchungen der Granulatchargen

In Kapitel 3.4.3 wurde dargestellt, dass sich der Scale down von 270 kg auf 1 kg Ansatzgröße und die Variation des Hilfsstoffanteils zwischen 10 % und 18 % auf die physikalischen Eigenschaften der Granulate und somit auf die NIR-Spektren auswirken kann (Rantanen et al. 2000), da die Prozessparameter gegenüber der Herstellung des Originalgranulates erheblich verändert wurden. In der Arbeit von Schütte (2001) wurde u. a. dem Einfluß der Ansatzgröße und der Granulierflüssigkeitsmenge eine wesentliche Bedeutung zugeschrieben, daher wurden diese Parameter im folgenden genauer anhand repräsentativer Chargen untersucht und mit dem Originalgranulat aus der Produktion verglichen.

Diese Chargen wurden aus den 30 veränderten Rezepturen (Anhang Kapitel 7.3) so ausgewählt, dass die gesamte Variation aller Kalibriermuster abgedeckt wurde.

Die Untersuchung der Einflüsse der Konzentrationsunterschiede beider Wirkstoffe wurden bei diesen Betrachtungen vernachlässigt, da ihre physikalischen Eigenschaften gleich waren und die Spannweite der Gesamtwirkstoffkonzentration zwischen 83 % und 91 % durch die ausgewählten Chargen repräsentiert wurden.

Die 5 ausgewählten Chargen wurden sowohl mit dem Originalgranulat aus der Produktion (Org T), als auch mit zwei Laboransätzen (Org 1/ 2) mit unveränderter Rezeptur verglichen. In Abbildung 5.2.1 ist die Zusammensetzung der untersuchten Granulate dargestellt.

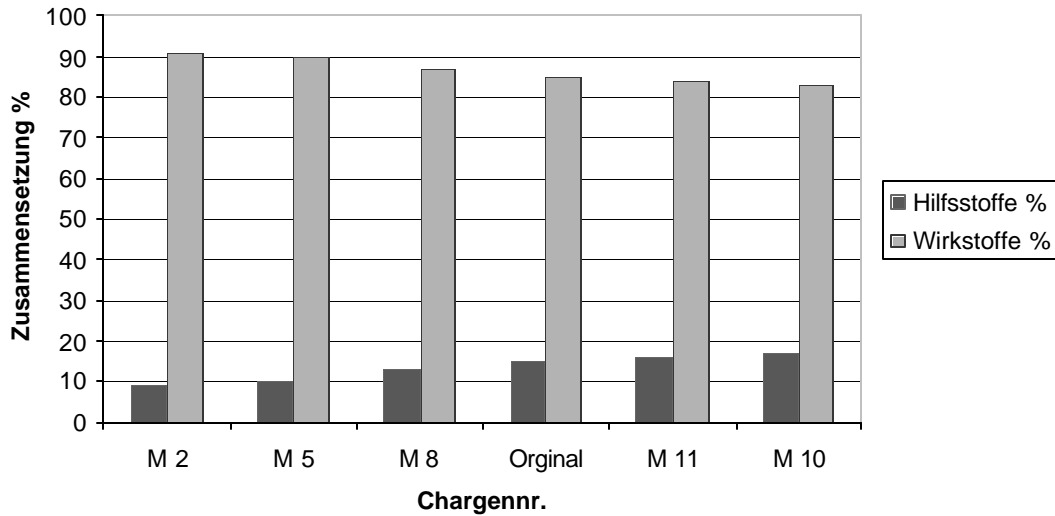
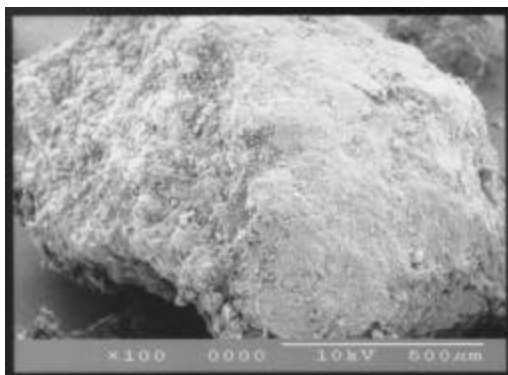


Abbildung 5.2.1 Zusammensetzung der Testchargen

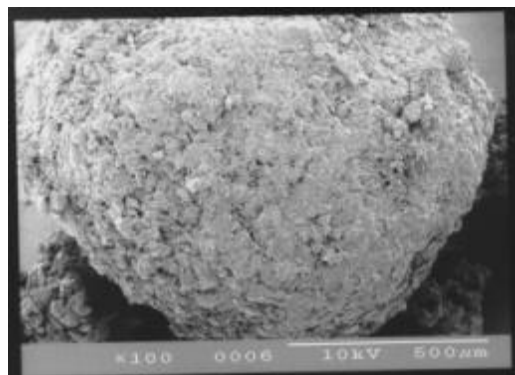
5.2.1.1 Morphologie der Granulatkörner

Der morphologische Aufbau der Granulatkörner wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM, Kapitel 3.4.3.4) untersucht. Im Anhang Kapitel 7.8 sind weitere Abbildungen der Laborchargen in 100facher Vergrößerung dargestellt.

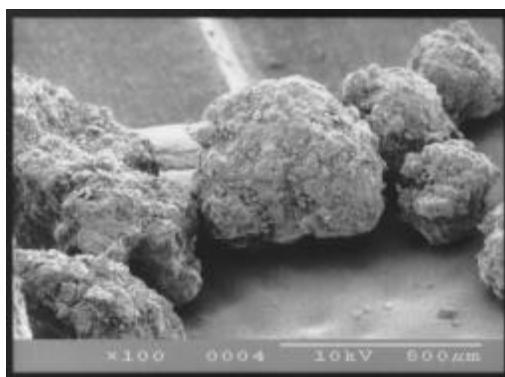
Durch die reduzierte Ansatzgröße wirkten bei der Feuchtgranulierung im Intensivmischer geringere Scherkräfte auf die Partikel ein, wodurch sich die Oberflächenstruktur der Agglomerate gegenüber dem Originalgranulat veränderte. Dieser Einfluss ist in Abbildung 5.2.2 a-d zu erkennen.



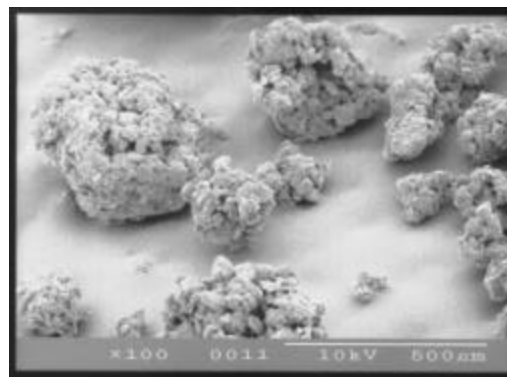
a) Originalgranulat grobes Korn



b) Laboransatz 1kg



c) Originalgranulat Feinanteil



d) Laboransatz 1kg

Abbildung 5.2.2 a-d Vergleich von Originalgranulat und Laboransatz

Der Laboransatz im 1 kg Maßstab wies eine rauere, porösere Oberfläche auf, als das Originalgranulat aus der Produktion. Diese Unterschiede waren sowohl im groben Korn (Abbildung 5.2.2 a/ b), als auch im Feinanteil (Abbildung 5.2.2 c/ d) zu erkennen. Die hohe Porosität führte zu einer geringeren Härte der Agglomerate, was der Grund für einen höheren Feinanteil des Laboransatzes sein könnte.

5.2.1.2 Partikelgrößenverteilung

Die Erkenntnisse aus den REM-Bildern konnten durch die Messung der Partikelgrößenverteilung bestätigt werden.

Die Dichteverteilungen, die mit Hilfe des Helos-Gradis-Systems gemessen wurden (Kapitel 3.4.3.3), zeigten einen bimodalen Verlauf bei allen untersuchten Chargen, was auf Bruchvorgänge bereits gebildeter Agglomerate schließen ließ.

Beim Vergleich der Dichteverteilung von Originalgranulat (Org T) und Laboransatz (Org 1/ Org 2), konnte beim Laboransatz eine leichte Verschiebung zu kleineren Partikelgrößen beobachtet werden (Abbildung 5.2.3). Dieses ließ sich durch die geringeren Scherkräfte der kleineren Ansätze im Intensivmischer und den dadurch verbundenen höheren Abrieb der insgesamt weicheren Partikel begründen.

Die Perzentilen x_{-10} , x_{-50} und x_{-90} wurden bei gleicher Rezeptur (Org 1/ Org 2) jedoch nicht wesentlich durch den Scale down beeinflusst (Abbildung 5.2.4).

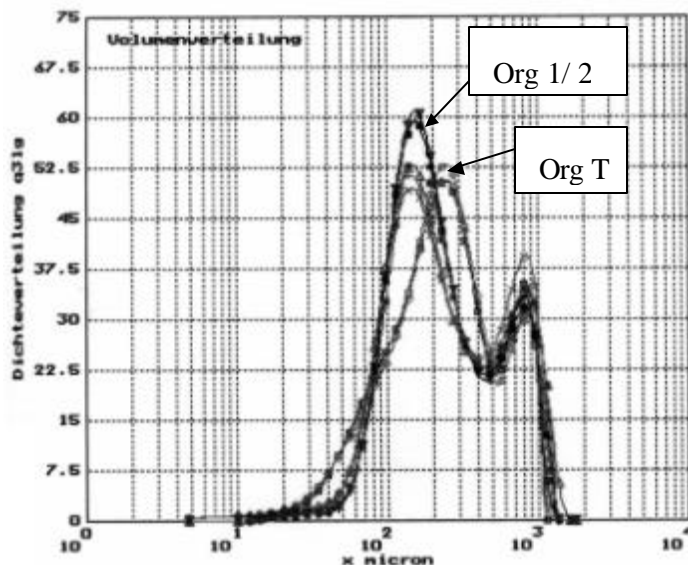


Abbildung 5.2.3 Dichteverteilung im Vergleich

Wie vorangehend schon erwähnt, wurde die Partikelgrößenverteilung entscheidend durch die unterschiedliche Granulierflüssigkeitsmenge beeinflusst.

Die Chargen M2, M5 und M8, die mit einer geringere Granulierflüssigkeitsmenge hergestellt wurden, weisen geringere x_{-10} , x_{-50} und x_{-90} -Werte in μm auf als die Chargen M10 und M11, die mit mehr Granulierflüssigkeit als in der Originalrezeptur hergestellt wurden, wie in Abbildung 5.2.4 zu erkennen ist (siehe auch Anhang Kapitel 7.9).

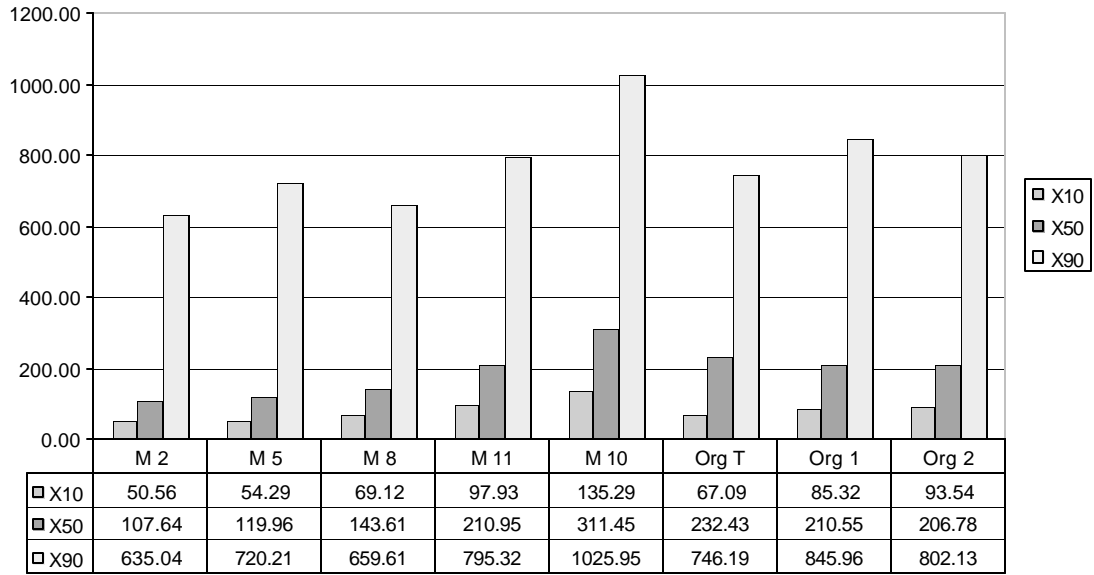


Abbildung 5.2.4 Partikelgrößenverteilung in µm (Perzentilen x-10, x-50, x-90) ausgewählter Granulatchargen

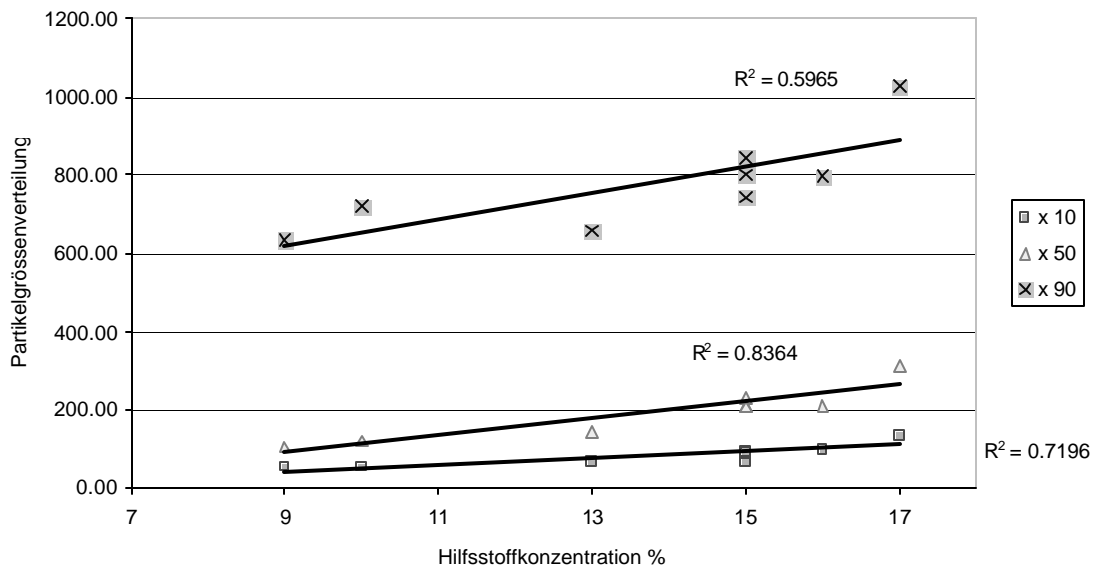


Abbildung 5.2.5 Korrelation von Partikelgrößenverteilung in µm und Hilfsstoffkonzentration in %

Diese lineare Abhängigkeit konnte in Abbildung 5.2.5 dargestellt werden, in der eine Korrelation der Perzentilen $x-10$, $x-50$ und $x-90$ mit der Granulierflüssigkeitsmenge zu erkennen ist.

5.2.1.3 Bulkdichten

Die Granulatmischungen stellten Zwischenprodukte zur Herstellung der Kalibriermuster dar. Ihre technologischen Eigenschaften sind für eine gute Verpressbarkeit wichtig.

Um die Verdichtung eines Haufwerks zu beschreiben, kann man die Bulkdichten nach Methode 2.9.15 Ph.Eur. bestimmen und daraus den Hausner-Faktor berechnen (Kapitel 3.4.3.5). Dieser Wert wurde zum Vergleich der Granulatchargen M1-30 untereinander und mit dem Originalgranulat Org 1 (Chargenr. 31)/ Org 2 (Chargenr. 32) und Org T (Chargenr. 33) herangezogen.

In der Abbildung 5.2.6 ist zu erkennen, dass sich die Granulatchargen im Bezug auf Ihre Verdichtung kaum voneinander und den Granulaten der Originalrezeptur (Org 1/ 2) unterscheiden.

Das Originalgranulat aus der Produktion (Chargenr. 33) wies das geringste Schüttvolumen von allen Proben auf, welches auf eine insgesamt bessere Masse/ Volumenkorrelation bei der Tablettierung hindeutet, jedoch keinen Einfluss auf die Verdichtung insgesamt hatte.

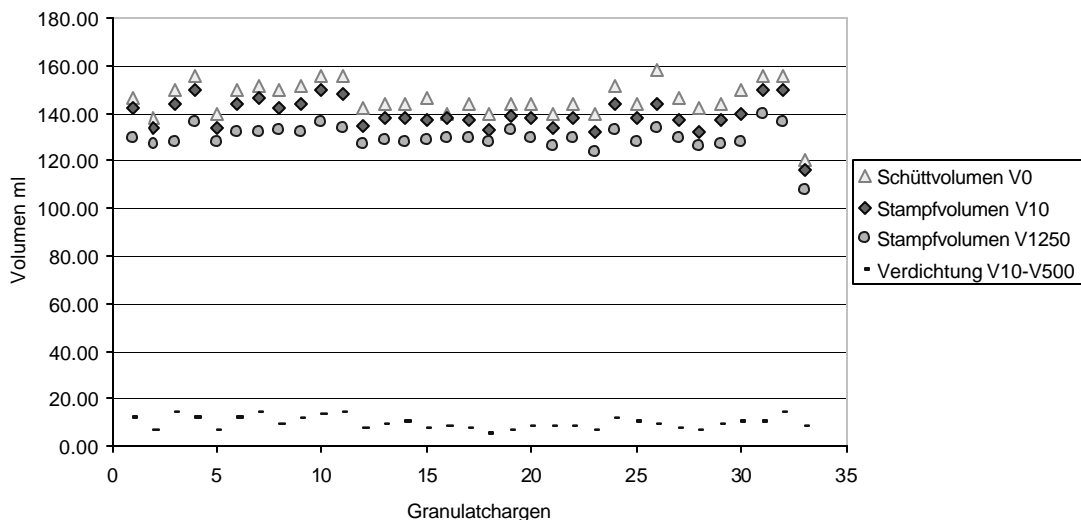


Abbildung 5.2.6 Vergleich der Verdichtung aller Granulatchargen

In Abbildung 5.2.7 konnte eine gewisse Abhängigkeit von Hausner-Faktor und Hilfsstoffkonzentration dargestellt werden.

Die Chargen mit höherer Hilfsstoffkonzentration wiesen durchschnittlich größere Hausner-Faktoren auf, d.h. der Einfluss der mechanischen Beanspruchung auf die Verdichtung des Granulates stieg an. Die insgesamt größeren Partikel ließen sich erst durch Stampfbewegungen auf ein geringeres Volumen verdichten.

Alle Werte lagen jedoch innerhalb der Spanne von 1,0 und 1,2, die als ideal für eine gute Verpressbarkeit der Mischung angesehen wird.

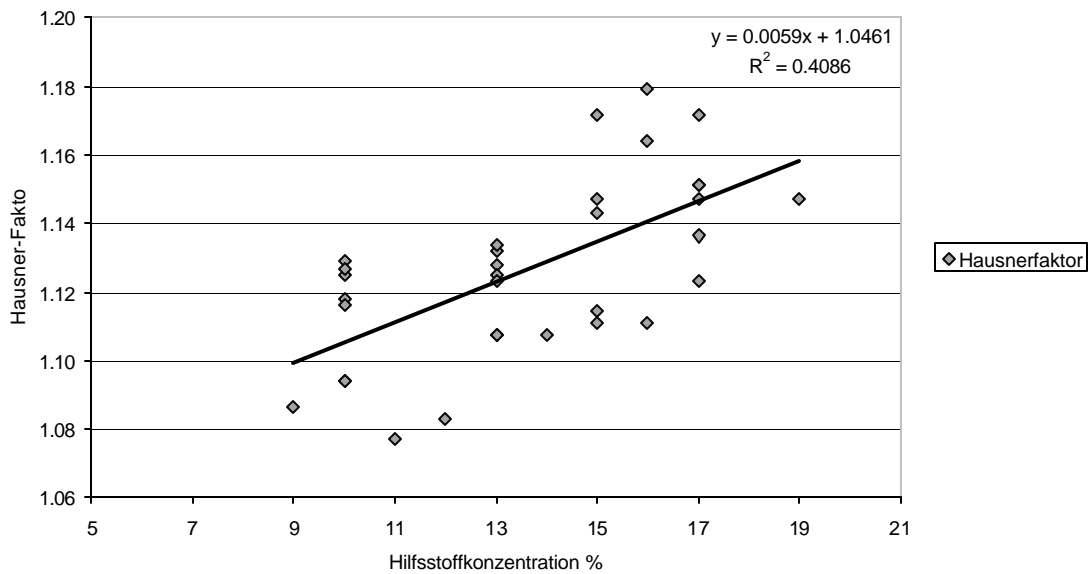


Abbildung 5.2.7 Korrelation von Hausner-Faktor und Hilfsstoffkonzentration

5.2.1.4 Restfeuchte

Die Restfeuchte von Granulaten ist ein wesentlicher Faktor, der sich auf ihre Verpressbarkeit und somit auf die Eigenschaften der daraus hergestellten Tabletten auswirkt.

Die Bindungskräfte in einer Tablette bestehen hauptsächlich aus van der Waals Kräften, wobei die Wasserstoffbrückenbindungen eine große Rolle spielen. Aus diesem Grund ist eine Restfeuchte von 2-5 % bei Granulaten, als Zwischenprodukten bei der Herstellung von Tabletten üblich. Eine zu hohe Restfeuchte hat negative Auswirkungen auf die Verpressbarkeit von Granulaten, da sich hierdurch die Fließeigenschaften verschlechtern können, was zu unregelmäßiger Matrizenfüllung und somit zu Massenschwankungen bei den Tabletten führen kann.

Bei der Herstellung der Laboransätze wurden die Granulate im Hordentrockenschrank getrocknet, in der Produktion hingegen wurde eine Trocknung in der Wirbelschicht durchgeführt. Diese Prozessunterschiede können u. a. Auswirkungen auf die Restfeuchte der Granulate, und somit auf die daraus hergestellten Tabletten haben.

Abgesehen von den Auswirkungen auf die Verpressbarkeit, hat die Restfeuchte auch einen sehr starken Einfluss auf die NIR-Spektren der Granulatchargen, wie bereits von List und Steffens (1996) und Goebel und Steffens (1998) gezeigt werden konnte. Mit der NIR überwachten Steuerung von Granulationsprozessen in der Wirbelschicht haben sich auch Frake et al. (1997) beschäftigt.

Um gleichmäßige Produktionsbedingungen im Labormaßstab zu schaffen und die Herstellung vergleichbarer Granulate als Zwischenprodukte für die Kalibriermuster zu gewährleisten, wurde die Restfeuchte der 30 Granulate gemäß Kapitel 3.3.3.2 mit der IR-Waage kontrolliert, wobei die durchschnittliche Restfeuchte aller fertigen Granulate vor dem Verpressen 2,59 % bei einer Standardabweichung von 0,53 % betrug.

Zur Darstellung der Einflüsse der Restfeuchte auf die NIR-Spektren, wurde vom feuchten Granulat direkt nach der Granulierung, und vom getrockneten Granulat ohne weitere Hilfsstoffe jeweils ein Spektrum aufgenommen, um ein PLS-Regression gegen den mittels IR-Waage gemessenen Trocknungsverlust (Anhang Kapitel 7.10) durchzuführen.

An den mittels 1. Ableitung und Vektornormierung vorbehandelten Spektren ist der Einfluss der Granulierflüssigkeit direkt nach der Herstellung sehr gut zu erkennen (Abbildung 5.2.8). Wie bereits bei den Untersuchungen von Lactose in Kapitel 4.1 beschrieben wurde, enthielt das feuchte Granulat größere Mengen oberflächlich absorbierten Wassers und Kapillarwasser, welches durch die nahinfrarote Strahlung leichter zu Schwingungen angeregt wurde. Hierdurch wurde die Wasserbande zu größeren Wellenzahlen hin verschoben. Weiterhin konnten trotz Spektrenvorbehandlung die starken Streueffekte dargestellt werden, die durch die ungleichmäßige Agglomeratstruktur vor allem der feuchten Granulat Körner hervorgerufen wurden.

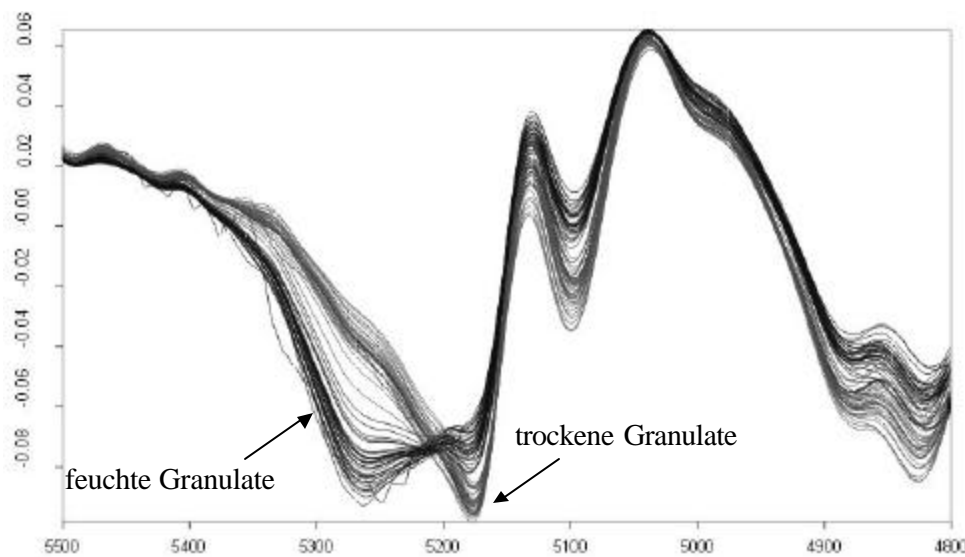


Abbildung 5.2.8 Erste Ableitung der OH-Kombinationsschwingung aller Granulatspektren

Bei der Verwendung des in Abbildung 5.2.8 dargestellten Spektralbereichs und gleicher Spektrenvorbehandlung für eine PLS-Regression, war im Faktor-Plott der wichtigsten beiden Faktoren in Abbildung 5.2.9 eine Gruppierung von feuchten und trockenen Proben zu erkennen.

Diese Einflüsse auf die Granulatspektren kamen durch die unterschiedlichen Restfeuchten der vermessenen Proben zustande, die bei den feuchten Granulaten proportional zu den unterschiedlichen Mengen verwendeter Granulierflüssigkeit lag.

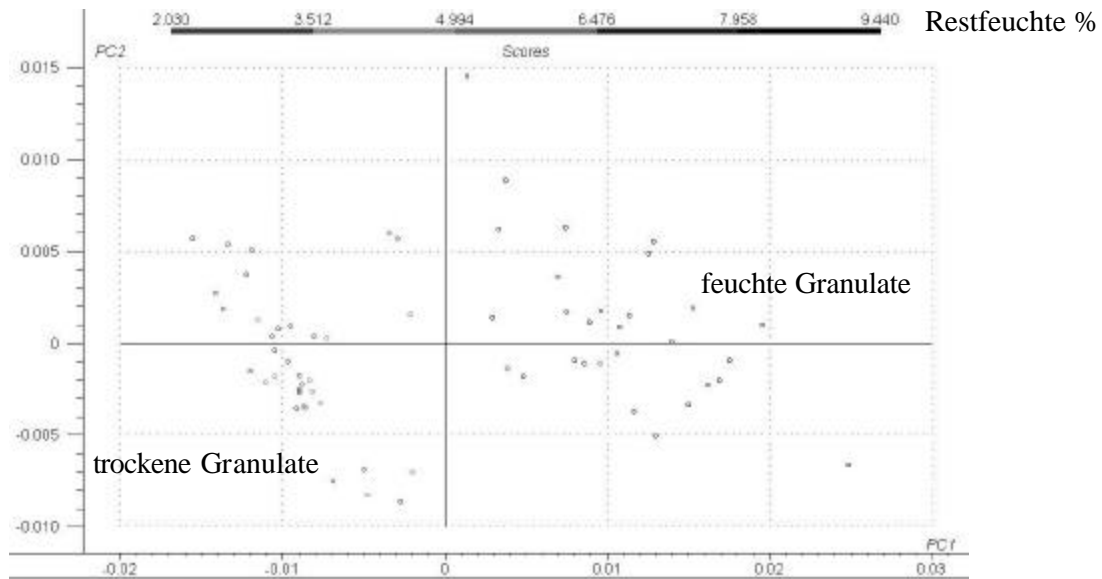


Abbildung 5.2.9 PLS-Faktor-Plott der ersten und zweiten Hauptkomponente

Eine Hauptkomponentenanalyse der unbehandelten Spektren aller fertig gemischten Granulatchargen mit Zusatz aller Hilfsstoffe über den gesamten NIR-Spektralbereich zeigte, dass zwischen den Laboransätzen (M1-30; Org 1/ 2) und dem Originalgranulat aus der Produktion (Org T), abgesehen von der Wirkstoffkonzentration, kein wesentlicher spektraler Unterschied bestand.

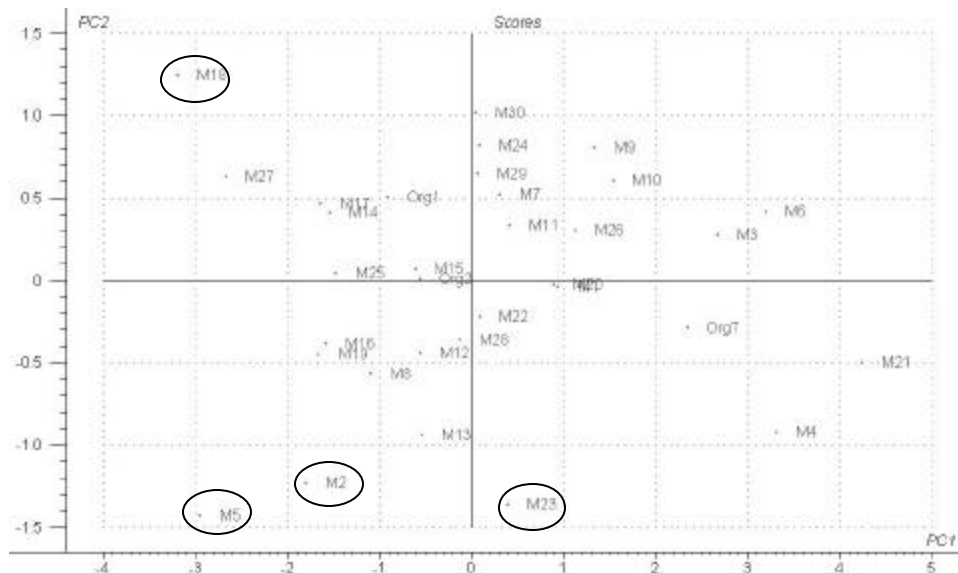


Abbildung 5.2.10 Zweifaktorenplott der Hauptkomponentenanalyse aller Granulate

Mit dem in Abbildung 5.2 10 dargestellten Zweifaktoren-Plott der beiden wichtigsten PLS-Hauptkomponenten konnte gezeigt werden, dass sich durch den Scale down des Produktionsansatzes und die Variation der Granulierflüssigkeitsmenge keine wesentlichen Veränderungen der Granulatspektren gegenüber denen des Originalgranulates (Org T, Org 1/2: grau hinterlegt) ergeben hatte, welche die Verwendung der Granulate zur Herstellung der Kalibriermuster nachteilig beeinflussen könnte.

Es war jedoch zu erkennen, dass einige mit geringen Granulierflüssigkeitsmengen hergestellten Chargen (M 2, M 5, M 18, M 23: mit Kreis markiert) auf Grund des höheren Feinanteils und der dadurch veränderten Partikelgrößenverteilung größere spektrale Distanzen zu den übrigen Chargen aufwiesen, und daher am Rand des Faktor-Plotts lagen.

5.2.2 Untersuchungen der Tablettenkerne

Bei den Granulatuntersuchungen wurde bereits beschrieben, dass Einflüsse durch die Tablettierung Auswirkungen auf die physikalischen Eigenschaften der Tablettenkerne, und somit auch auf die NIR-Spektren haben können.

Aus diesem Grund wurden nach der Herstellung der Kalibriermuster gemäß Kapitel 3.4.4 Tablettenprüfungen in Anlehnung an die Herstellungsvorschriften der Produktionschargen durchgeführt (Kapitel 3.4.5), um die physikalischen Eigenschaftender synthetischen Chargen mit denen der Originalchargen zu vergleichen.

Es wurden zwei Dosierungen der Kalibriermuster hergestellt, denn es sollte sowohl für Tromcardin Tabletten (10,5 mm Durchmesser), als auch für Tromcardin forte Tabletten (12 mm Durchmesser) eine Gehaltsbestimmung entwickelt werden.

Da die Zusammensetzung der Tabletten gleich war und die Dosierung über das Volumen der Matrize bestimmt wurde, konnte mit denselben 30 Granulatchargen gearbeitet werden, die jeweils mit 10,5 mm und 12 mm bikonkaven Stempeln verpresst wurden.

5.2.2.1 Gleichförmigkeit der Masse und Abmessungen der Kerne

Von allen 60 Tablettenchargen wurden 20 Stichproben ausgewählt, die gewogen und mittels Schieblehre vermessen wurden, um die Gleichförmigkeit der Kalibriermuster sicher zu stellen und eine Vergleichbarkeit mit den Originalkernen zu gewährleisten.

Der Mittelwert der Masse aller 600 Stichproben der 10,5 mm Kerne lag bei 383,93 mg bei einer relativen Standardabweichung von 0,56 %, der Sollwert betrug 382,80 mg.

Die Höhe der Kerne dieser Stichproben variierte mit einer relativen Standardabweichung von 0,83 % um den Mittelwert von 4,66 mm. Laut Herstellungsvorschrift war eine Spannweite von 4,50-5,00 mm spezifiziert.

Bei den 12 mm Kalibriermustern lag der Mittelwert der 600 Stichproben bei 784,66 mg mit einer relativen Standardabweichung von 0,37 % und einem Sollwert von 785,00 mg.

Die Kernhöhe streute hier etwas stärker, trotzdem lagen alle Werte bei einem Mittelwert von 6,93 mm mit 1,29 % relativer Standardabweichung innerhalb der geforderten 6,70-7,30 mm. Es konnte festgestellt werden, dass alle Kalibriermuster den Anforderungen der Herstellungsvorschrift entsprachen.

Im Anhang Kapitel 7.11 sind die 60 Mittelwerte aller 20 Stichproben graphisch dargestellt.

5.2.2.2 Zerfall und Friabilität

Zum Vergleich mit den Originalkernen aus der Produktion wurden von jeder Dosierung die selben fünf Chargen wie bei der Granulatprüfung in Kapitel 5.2.1 ausgewählt, welche die gesamte Breite der Kalibriermusterzusammensetzung abdeckten.

Der Zerfall und die Friabilität wurden von Charge M2, M5, M8, M10 und M11 gemessen, um darzustellen ob die Kalibriermuster den Anforderungen der Herstellungsvorschrift entsprachen und sich ein Einfluss der Hilfsstoffkonzentration auf diese beiden Parameter auswirkte.

Der Zerfall der Kerne lag bei allen 10,5 mm Testproben zwischen 4,30 min und 5,47 min, die Originalkerne zerfielen unterhalb von 4,40 min.

Bei den 12 mm Kernen lag der Zerfall zwischen 7,44 min und 11,04 min, wobei die Originalkerne am längsten benötigten.

Alle Werte lagen deutlich unter dem maximal spezifizierten Wert von 30 min und eine Abhängigkeit von Zerfallszeit und Hilfsstoffkonzentration konnte nicht festgestellt werden.

Die Friabilität lag bei allen untersuchten Chargen mit ca. 0,04 % deutlich unter dem zugelassenen Grenzwert von 0,25 %, was auf eine ausreichende Festigkeit der Kerne gemäß den Anforderungen schließen ließ.

5.2.3 Untersuchung der Bruchfestigkeit

Der Untersuchung der Bruchfestigkeit kam bei den Kalibrierchargen eine besondere Bedeutung zu, denn die physikalischen Eigenschaften von Tablettenkernen ändern sich mit der Bruchfestigkeit derart, dass dieser Parameter direkten Einfluss auf die NIR Spektren hat. In der Arbeit von Morisseau et al. (1997) wurde bereits über die Möglichkeit berichtet, Bruchfestigkeit von Tabletten mittels NIRS bestimmen zu können, denn durch eine glattere Oberfläche haben härtere Tabletten eine höhere Absorption im NIR-Bereich. Auf Grund dieses Effektes konnte durch chemometrische Methoden eine Beziehung zwischen Ergebnissen des herkömmlichen Bruchfestigkeitstesters und NIR-Spektren von Tabletten dargestellt werden. Allerdings war es nicht möglich eine allgemeingültige mathematische Vorbehandlung zur zerstörungsfreien Bruchfestigkeitsuntersuchung festzulegen. Auch Kirsch und Drennen (1995) haben die Festigkeit von überzogenen Tabletten untersucht und mit NIR-Spektren korreliert. Reich (2000) stellte sogar fest, dass in NIR-Transmissionspektren Veränderungen partikulärer Umlagerungen durch dichtere Kompaktierung, sowie Unterschiede in interpartikulären Bindungen aufgrund plastischer Verformung und Schmiermittelumverteilung detektiert werden können.

Unter Beachtung dieser Aspekte wurde der Einfluss der Presskraft auf die NIR-Spektren der Kalibriermuster genauer untersucht.

Bei den verwendeten Proben handelte es sich um bikonvexe weiße runde Tablettenkerne ohne Bruchkerbe, bei denen Ober- und Unterseite visuell nicht zu unterscheiden waren.

5.2.3.1 Einflüsse durch die Herstellungsbedingungen

In der Herstellungsvorschrift wurde lediglich festgelegt, dass die 10,5 mm Kerne eine Bruchfestigkeit von > 10 N und die 12 mm Kerne eine Bruchfestigkeit von > 40 N aufweisen müssen. Stichprobenartige Messungen von jeweils 10 Originalkernen ergaben für die 10,5 mm Kerne eine mittlere Bruchfestigkeit von 94,5 N bei einer relativen Standardabweichung von 10,5 %. Bei den 12 mm Kernen wurde eine mittlere Bruchfestigkeit von 142 N bei einer relativen Standardabweichung von 8,6 % ermittelt. Diese Werte wurden an Kernen nach ca. 1/2 jähriger Lagerung gemessen und wurden als Richtwerte bei der Einstellung der Presskraft zur Herstellung der Kalibriermuster im Labormaßstab verwendet.

Da NIR-Spektren durch Oberflächeneigenschaften der Kerne stark beeinflusst werden, galt es Unterschiede zwischen synthetischen Kalibriermustern und Produktionsmustern zu vermeiden, was schon aufgrund der Verwendung unterschiedlicher Tablettiermaschinen schwierig wurde.

In der Produktion wurde mit einer Rundläuferpresse gearbeitet, bei der es durch höhere Produktionsgeschwindigkeiten und den feststehenden Füllschuh, selten zu Entmischungstendenzen des Granulates in der Matrize kommt. Da auch die Komprimierung bilateral durch Ober- und Unterstempel gleichermaßen erfolgt, entstehen Kerne, deren Ober- und Unterseiten nahezu identische Oberflächeneigenschaften aufweisen. Bei der Exzenterpresse ist der Füllschuh beweglich, weshalb es durch ständige Rüttelbewegungen zu Entmischungsvorgängen des zu verpressenden Gutes kommen kann, da der Feinanteil zuerst in die Matrize gefüllt wird. Die anschließende unilaterale Komprimierung alleine durch den Oberstempel kann zu Kernen führen, deren Unterseiten härter gepresst sind als die Oberseiten. Bei Bruchfestigkeitsmessungen fielen solche Unterschiede nicht auf, doch bei Messungen der NIR-Spektren waren deutliche Unterschiede zwischen Ober- und Unterseite auf Grund veränderter Absorption der Oberflächen darstellbar.

In Abbildung 5.2.11 und Abbildung 5.2.12 sind 20 Spektren von einem mittels a) Exzenterpresse und von einem mittels b) Rundläufer hergestellten Tablettenkern dargestellt, wobei jeweils 10 mal Ober- und Unterseite vermessen wurden.

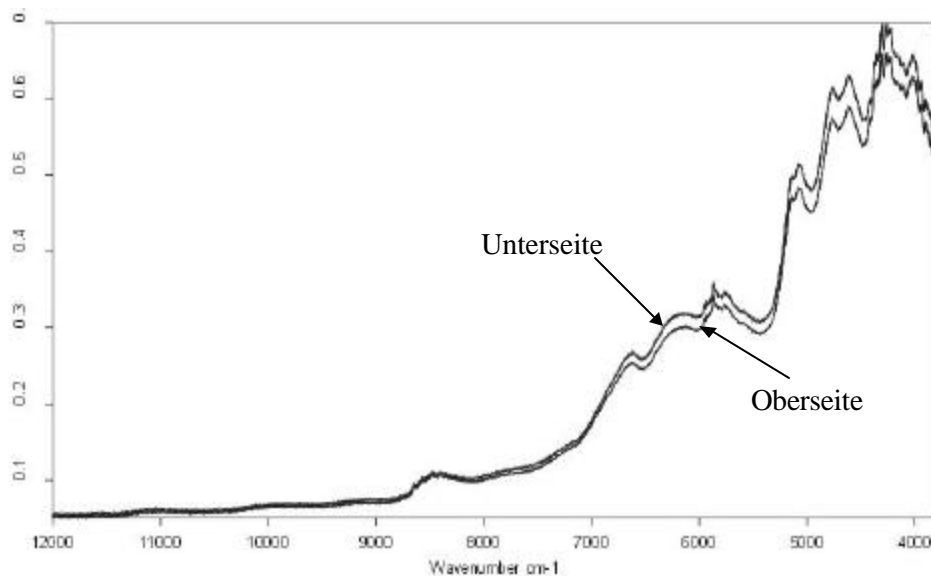


Abbildung 5.2.11 Reflexionsspektren von Ober-/ Unterseite eines Kerns beim Exzenter

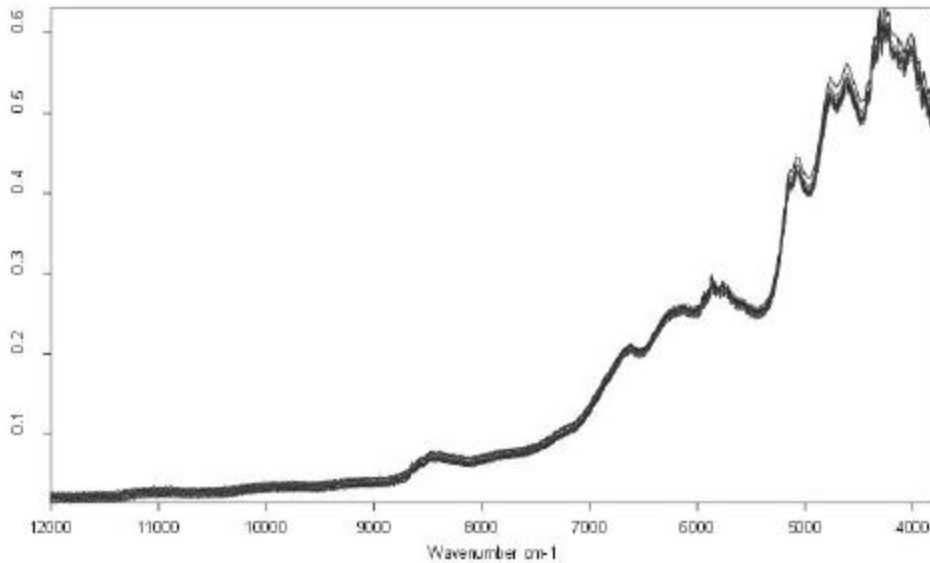


Abbildung 5.2.12 Reflexionsspektren von Ober-/ unterseite eines Kerns beim Rundläufer

In Abbildung 5.2.11 ist eine deutliche Gruppierung der Spektren in Ober- und Unterseite zu erkennen, denn laut Literatur weist die härtere Unterseite eine stärkere Absorption auf als die weichere Oberseite des Kerns. In Abbildung 5.2.12 tritt keine spektrale Differenzierung beider Seiten auf.

Dieser Effekt musste bei der Messung der Kalibriermuster unbedingt berücksichtigt werden, schon allein daher, weil Ober- und Unterseite visuell nicht voneinander unterscheidbar waren. Es wurde daraufhin festgelegt jeweils zwei Spektren von beiden Kernseiten in die Kalibrierung mit einzubeziehen, um sie gegenüber diesem Einfluss unempfindlicher zu machen.

5.2.3.2 Einflüsse durch die Nachhärtung

Weiterhin musste das Phänomen der Nachhärtung der Tablettenkerne berücksichtigt werden, da sie hierdurch auch physikalische Veränderungen erfahren, die sich in den NIR-Spektren widerspiegeln.

Um reproduzierbare Spektren der Tablettenkerne aufnehmen zu können, musste eine präzise Aussage über den Messzeitpunkt getroffen werden.

Für diese Untersuchung wurden Tablettenkerne beider Dosierungen mit Originalgranulat aus der Produktion bei 10 N bzw. 15 N gepresst und die Nachhärtung wurde über einen Zeitraum von zwei Monaten dokumentiert.

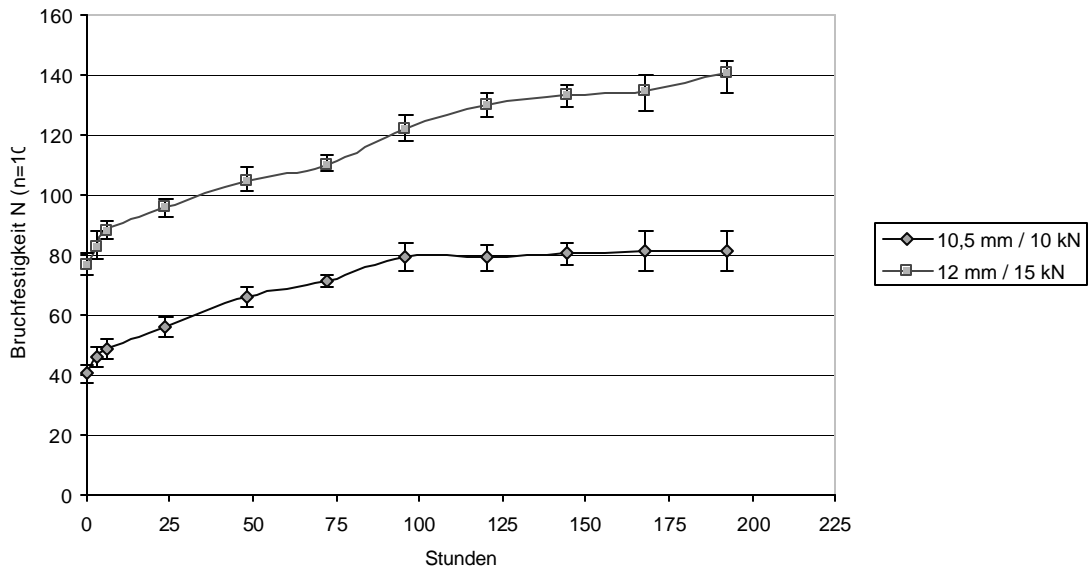


Abbildung 5.2.13 Nachhärtung der Kerne nach einer Woche

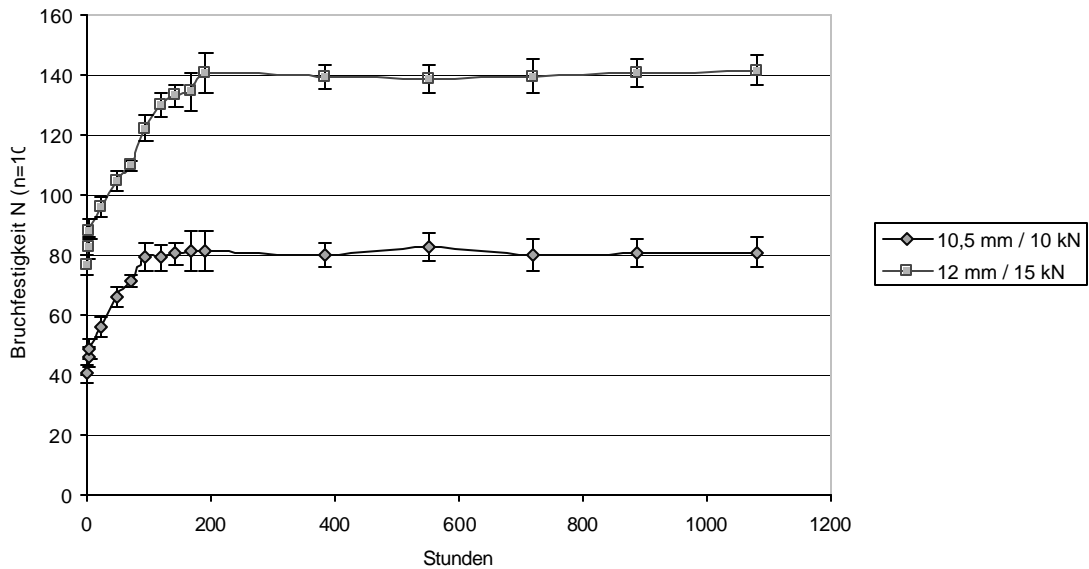


Abbildung 5.2.14 Nachhärtung der Kerne nach zwei Monaten

Abbildung 5.2.13 und Abbildung 5.2.14 zeigen, dass die 10,5 mm Kerne innerhalb einer Woche nach dem Verpressen um 100 % nachhärteten, die 12 mm Kerne um 75 %. Die Rohdaten zu diesen Diagrammen sind im Anhang Kapitel 7.12 dargestellt.

Nach ca. 1 Woche war die Nachhärtung bei beiden Dosierungen abgeschlossen und die Bruchfestigkeitswerte entsprachen in etwa denen der Produktionsmuster (Kapitel 5.2.3.1). Aus diesen Untersuchungen konnte abgeleitet werden, dass ein einheitlicher Messzeitpunkt bei allen Messungen gewählt werden muss, was jedoch zur Folge hat, dass die Kalibrierung empfindlicher gegenüber dem Einfluss der Nachhärtung wird.

Sinnvoller ist es allerdings, Stichproben aller Kalibrierchargen zu verschiedenen Zeitpunkten zu vermessen und die Kalibrierung somit dahingehend unempfindlicher zu gestalten.

In dieser Arbeit wurde von jeder der 60 Kalibrierchargen 5 Stichproben vermessen, wobei alle zwei Tage nach dem Verpressen eine Stichprobe im Reflexionsmodus 4fach vermessen wurde, sodass von jeder Charge ein Zeitraum von 10 Tagen abgedeckt wurde, wodurch der Prozess der Nachhärtung mit „einkalibriert“ wurde.

Im Transmissionsmodus wurden alle Proben nach Abschluss der Nachhärtung vermessen.

5.2.3.3 Einflüsse durch die Presskraft

Um den Einfluss unterschiedlicher Presskräfte auf die NIR-Spektren der Kalibriermuster zu untersuchen, wurden beide Kerngrößen aus dem Originalgranulat bei 7 unterschiedlichen Presskräften an der Exzenterpresse hergestellt.

Um Verfälschungen der Ergebnisse durch Nachhärtung der Muster oder durch Unterschiede von Ober- und Unterseite der Kerne zu vermeiden, wurden von 10 Stichproben aller Presskräfte jeweils 2 Reflexionsspektren von Ober- und Unterseite der Kerne direkt nach dem Verpressen und nach zwei Wochen aufgenommen und sofort danach mittels Bruchfestigkeitstester analysiert (Anhang Kapitel 7.13).

Die Transmissionsspektren wurden nach 2 Wochen Lagerung vermessen, wobei hier ebenfalls 4 Spektren von 10 Stichproben je Presskraft aufgenommen wurden.

In Abbildung 5.2.15 sind 4 unbehandelte Reflexionsspektren je Presskraft von 12mm Kernen dargestellt.

Abbildung 5.2.16 zeigt 4 unbehandelte Transmissionsspektren je Presskraft von beiden Kerngrößen.

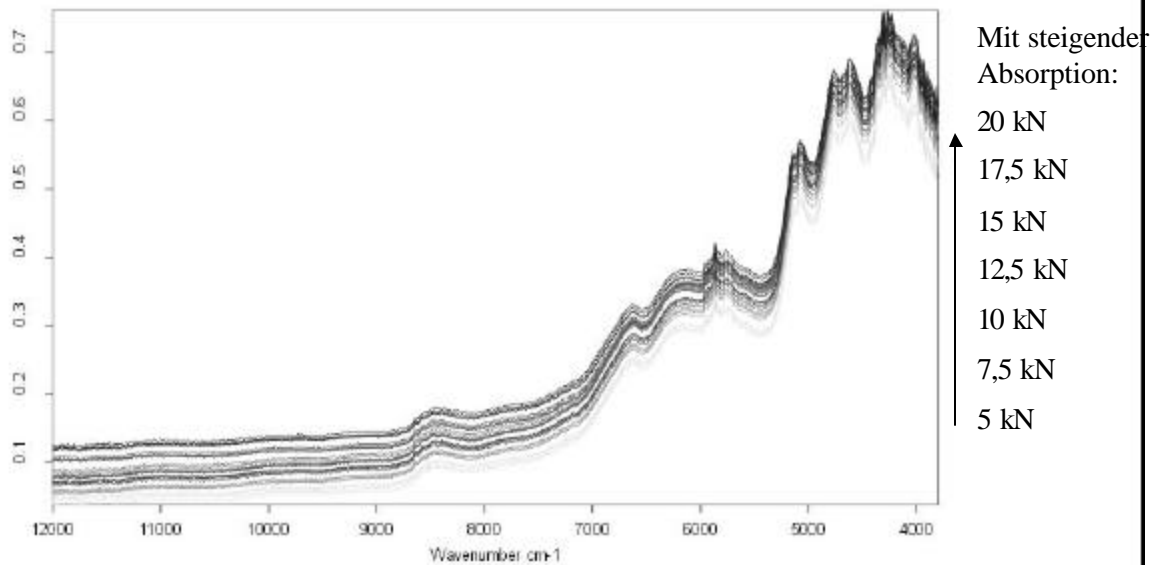


Abbildung 5.2.15 unbehandelte Reflexionsspektren der 12 mm Kerne bei 7 Presskräften

In Abbildung 5.2.15 sind trotz Streuungen 7 Spektren-Gruppen aufgrund der unterschiedlichen Oberflächeneigenschaften zu sehen. Die Intensität der Absorption stieg proportional zur Festigkeit des Kerns bzw. Glätte der Kernoberfläche über den gesamten NIR-Spektralbereich an, was an der durchgehend linearen Basislinienverschiebung zu erkennen ist.

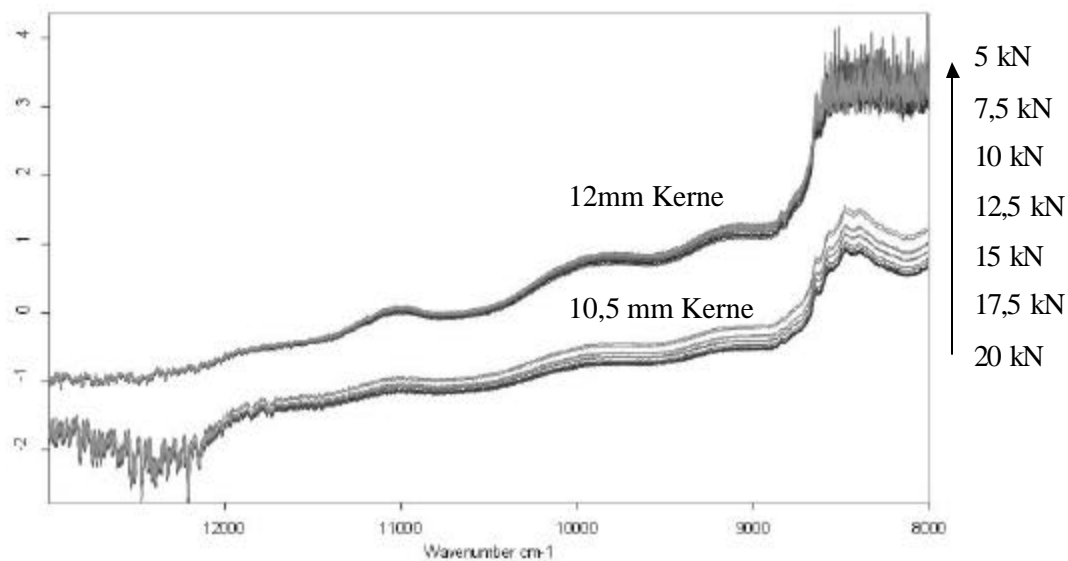


Abbildung 5.2.16 unbehandelte Transmissionsspektren der 10,5 / 12 mm Kerne bei 7 Presskräften

Der beschriebene Effekt war auch in den Transmissionsspektren der 10,5 mm Kerne in Abbildung 5.2.16 zu sehen, wobei hier eine Abnahme der Absorption mit zunehmender Presskraft detektiert werden konnte.

Bei den 12 mm Kernen trat bereits ab 8650 cm^{-1} Totalabsorption ein, da die NIR-Strahlung den Kern auf Grund seiner Höhe von über 7 mm nicht mehr durchdringen konnte. In diesem Bereich wurden die spektralen Effekte der Oberflächenbeschaffenheit durch das Grundrauschen des Detektors überdeckt.

Ab $12000\text{ Wellenzahlen cm}^{-1}$ ist eine starke Streuung der Basislinie zu erkennen, welche durch das Detektionslimit des InGaAs-Detektors hervorgerufen wird.

Dieser Detektor hat ein Absorptionsmaximum bei ca. 5000 cm^{-1} und kann etwa einen Spektralbereich zwischen 11000 und 4000 cm^{-1} detektieren.

Um die Beziehung zwischen Spektren und Bruchfestigkeitswerten darzustellen wurde nach zwei Wochen Lagerzeit von jeder Kerngröße eine PLS-Regression von 280 vektornormierten Reflexionsspektren und Bruchfestigkeitswerten in N durchgeführt, wobei die in Abbildung 5.2.17 gezeigten Presskraft-Bruchfestigkeitsprofile die Referenzwerte hierfür repräsentierten.

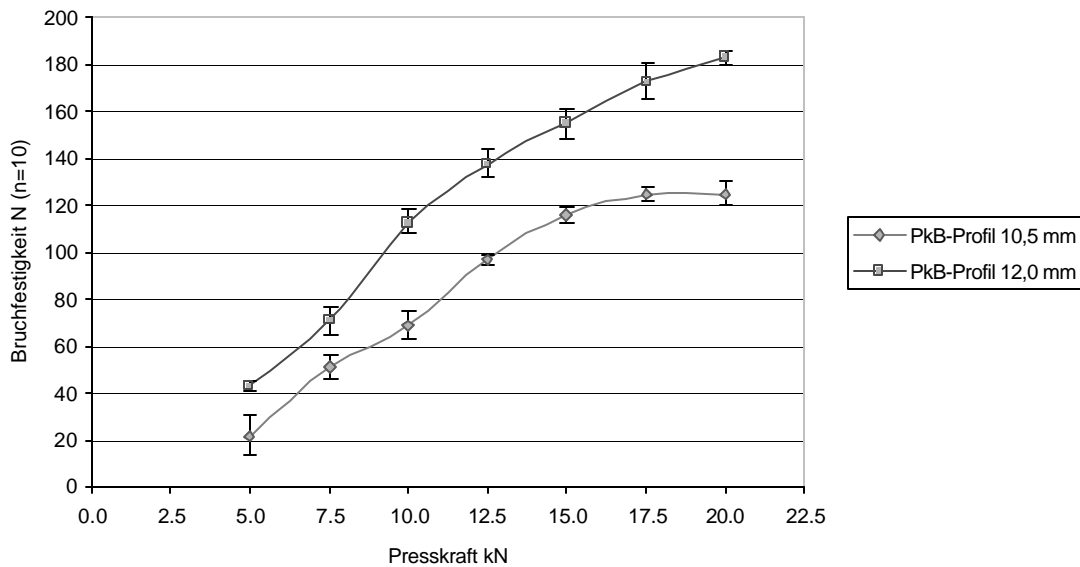
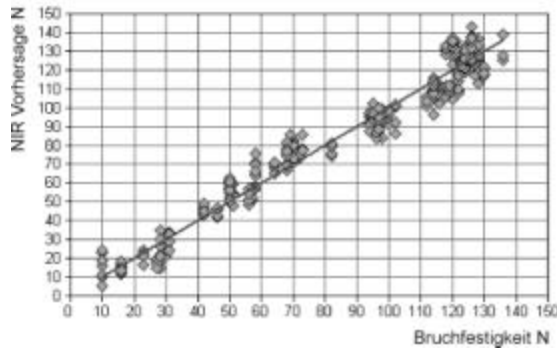
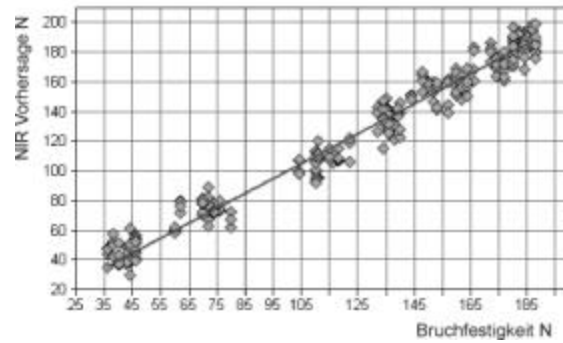


Abbildung 5.2.17 Presskraft-Bruchfestigkeitsprofile nach 2 Wochen Lagerzeit



a) 10,5 mm Kerne

Rang: 7; R^2 : 95,92; RMSECV: 7,58 N



b) 12,0 mm Kerne

Rang: 8; R^2 : 97,12; RMSECV: 8,35 N

Abbildung 5.2.18 PLS-Regression zur Vorhersage der Bruchfestigkeit mittels Reflexionsspektren

Für die PLS-Regressionen in Abbildung 5.2.18 wurde jeweils der gesamte nahinfrarote Spektralbereich der Reflexionsspektren verwendet, der eine gute Korrelation mit den Referenzwerten aufwies.

Die mittlere relative Standardabweichung der Referenzwerte betrug bei den 10,5 mm Kernen 9,75 %, bei den 12 mm Kernen 5,08 %.

Diese Untersuchungen zeigten, dass die NIR-Spektroskopie eine zerstörungsfreie Alternative zur Bruchfestigkeitsmessung darstellte, die vergleichbare Präzision zum herkömmlichen Bruchfestigkeitstester aufwies.

In dieser Arbeit wurde am Beispiel der Tromcardin Tablettenkerne gezeigt, dass die Presskraft und somit die Bruchfestigkeit von Tabletten einen starken Einfluss auf die NIR-Spektren hat. Diese Faktoren müssen bei der Entwicklung von NIRS-Gehaltsbestimmungen von festen Arzneiformen berücksichtigt werden, weshalb zu große Bruchfestigkeitsdifferenzen zwischen Kalibriermustern und Produktionschargen vermieden werden müssen.

In den NIR-Spektren der Tablettenkerne spiegeln sich hauptsächlich deren Oberflächeneigenschaften, vor allem die Farbe und die Rauigkeit wieder. Korrelierten diese Eigenschaften mit der Festigkeit des Kerns, korrelierten auch die spektralen Informationen mit den Bruchfestigkeitswerten.

Bei deckelnden Tabletten reichen die bei der Kompaktierung ausgebildeten Bindungskräfte nicht aus, um eine ausreichende Festigkeit der Tablette zu gewährleisten. Aufgrund der verminderten inneren Haftkräfte neigen diese Tabletten bei geringer Beanspruchung zum Laminieren und weisen daher niedrigere Bruchfestigkeitswerte auf. Da sich dieser Effekt meistens nicht an der Oberfläche abzeichnet, ist er im NIR-Spektrum alleine nicht detektierbar.

Korreliert man jedoch die Bruchfestigkeitsreferenzwerte deckelnder Tabletten (y -Variablen) mit deren Spektren (x -Variablen) in einer PLS-Regression, werden deckelnde Tabletten als Ausreißer erkannt, da die niedrigeren Referenzwerte nicht mit der spektralen Information korrelieren.

Um Bruchfestigkeitsbestimmungen mittels NIR durchführen zu können, müssten besonders im Transmissionsmodus noch weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um zeigen zu können, wie weit sich physikalische Eigenschaften des Tablettiergutes und deren Veränderung durch die Komprimierung und Kompaktierung sich auf die NIR -Spektren auswirken und auswertbar sind.

Desweiteren sollte für Bruchfestigkeitsuntersuchungen mittels NIRS eine Referenzanalytik verwendet werden, die präzisere und differenziertere Aussagen zu der Festigkeit von Tabletten macht, als der herkömmliche Bruchfestigkeitstester.

5.3 Gehaltsbestimmung mittels NIRS

Das Ziel im zweiten Teil der Arbeit war die Entwicklung einer zerstörungsfreie Gehaltsbestimmung von Kalium- und Magnesiumaspartat in zwei Dosierungen der Tromcardin Tablettenkerne mittels NIRS. Innerhalb dieser Fragestellung sollten Reflexions- und Transmissionsspektroskopie, sowie zwei verschiedene Spektromertypen im Reflexionsmodus miteinander verglichen werden.

Die Voruntersuchungen der vorangegangenen Kapitel sollten die technologische Qualität der synthetischen Kalibriermuster, sowie deren spektroskopische Vergleichbarkeit mit den Produktionschargen sicherstellen, um somit die theoretische, praktische und chemometrische Durchführbarkeit der Gehaltsbestimmung mit NIRS zu gewährleisten.

In Arbeiten von Corti et al. (1999) wurde bereits die Quantifizierung von Diphenhydramin in Tabletten mittels NIR-Transmissionsspektroskopie gezeigt. Eustaquio et al. (1998) beschrieben die Gehaltsbestimmung von Paracetamol Tabletten im Transmissionsmodus und Trafford et al. (1999) im Reflexionsmodus. Dempster et al. (1993) entwickelten eine NIR-Methode zur Klinikmusteridentifizierung mit NIR-Reflexionsspektroskopie. Drennen et al. (1990) beschrieben die Wirkstoffzersetzung bei der Lagerung von Acetylsalicylsäure Tabletten, Scheiwe et al. (1999) die Quantifizierung von Diclofenac in überzogenen Tabletten in Transmission. Ein Vergleich beider Methoden wurde von Merckle und Kovar (1998) am Beispiel von Acetylsalicylsäure Brausetabletten gezeigt. Jedvert et al. beschrieben 1998 einen Vergleich von NIRS und Raman Spektroskopie zur Quantifizierung von Isosorbit-Mononitrat in Tabletten.

In allen Arbeiten wurde die PLS-Regression zur chemometrischen Auswertung der Daten verwendet, die Vorbehandlung der Spektren und die Auswahl der Spektralbereiche richtete sich jedoch individuell nach den zu bestimmenden Parametern.

Bei der Gehaltsbestimmung in der vorliegenden Arbeit wurden von 5 Stichproben aus 30 Kalibrierchargen beider Kerngrößen jeweils 4 Spektren (2-mal Ober- und Unterseite) in Reflexion (Kapitel 3.4.6.1) und in Transmission (Kapitel 3.4.6.2, Bruker Spektrometer) aufgenommen.

Dieselben Muster wurden ebenfalls mit dem Polarisationsinterferometer in Reflexion vermessen (Kapitel 3.4.6.1, Büchi Spektrometer).

Anschließend wurde mit den aus AAS und HPLC berechneten Referenzwerten (Kapitel 5.1) PLS-Regressionen zur chemometrischen Vorhersage der Wirkstoffgehalte von Kalium- und Magnesiumaspartat durchgeführt.

Um zunächst die Homogenität der Kalibriermuster darzustellen, wurde von allen 600 Bruker Reflexionsspektren jeder Dosierung eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) durchgeführt. Für die Kreuzvalidierung wurde der mittels 1. Ableitung und Vektornormierung vorbehandelte Spektralbereich von 5500-6100 cm^{-1} verwendet.

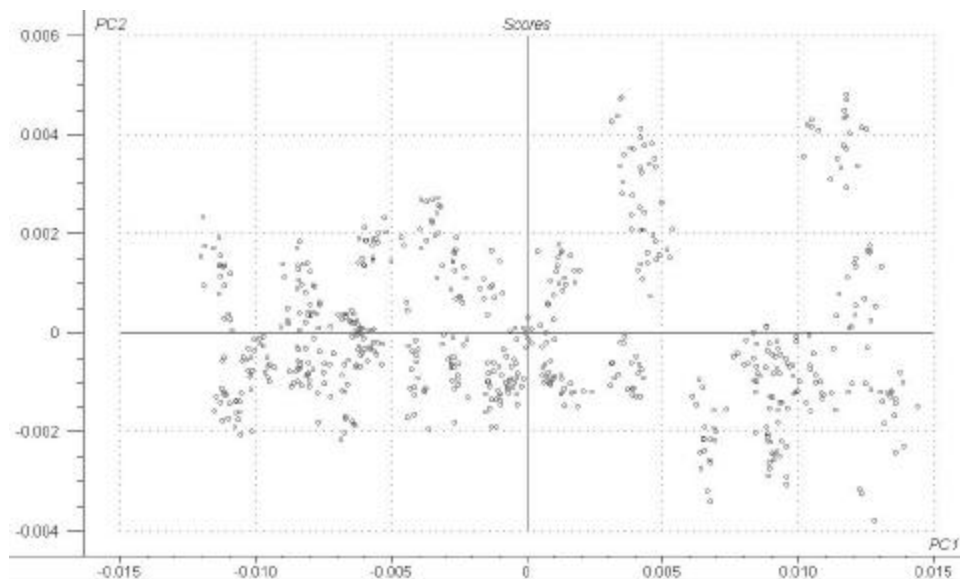


Abbildung 5.3.1 PCA der 10,5 mm Kalibriermuster

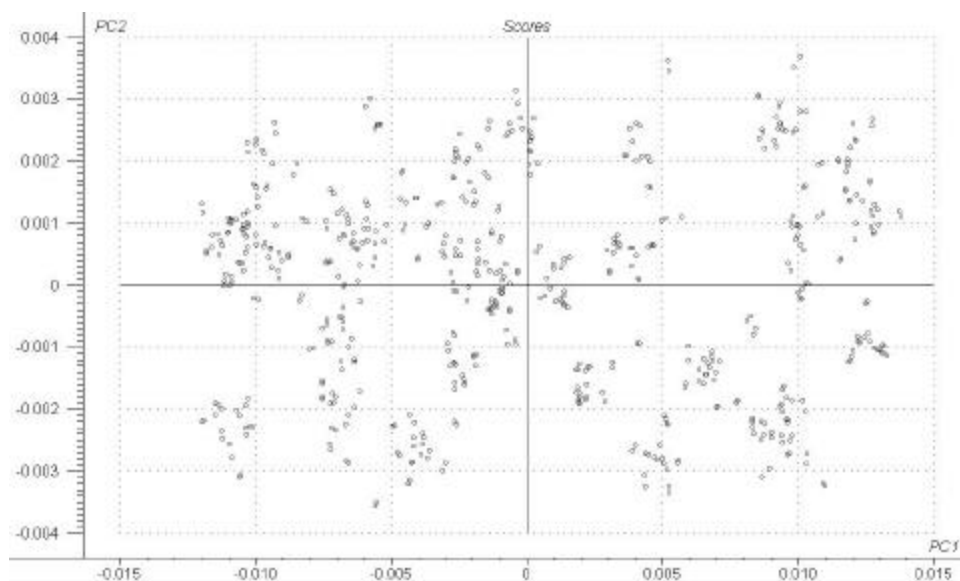


Abbildung 5.3.2 PCA der 12 mm Kalibriermuster

Trägt man die beiden ersten Hauptkomponenten in einem Koordinatenkreuz gegeneinander auf, ist sowohl in Abbildung 5.3.1, als auch in Abbildung 5.3.2 eine gleichmäßige Verteilung zu erkennen. Es bestanden keine großen spektralen Abweichungen zwischen den Kalibriermustern, daher wurden alle Stichproben für die PLS-Regressionen verwendet.

Es ist allerdings zu erkennen, dass einige Spektren am Rand des Clusters eine größere spektrale Distanz zu den übrigen aufweisen. Bei der Auswertung der Ergebnisse mit der Opus Software wurden aus diesem Grund nicht alle 600 Spektren für die Kalibrierung verwendet.

Die Spektren, deren Mahalanobis Distanz außerhalb des von der Software berechneten Schwellenwertes lagen wurden aus der Berechnung ausgeschlossen (Kapitel 2.4.3).

Eine Gehaltsbestimmung von Tabletten ist mittels NIRS nur dann möglich, wenn die Matrix der zu bestimmenden Proben, spektral mit der Matrix der Kalibriermuster übereinstimmt, da es sonst zu Verfälschungen der vorhergesagten Ergebnisse kommt.

In Abbildung 5.3.3 konnte mit Hilfe einer Hauptkomponentenanalyse die spektrale Auswirkung eines Filmüberzugs auf die sonst gleichen Tablettenkerne gezeigt werden.

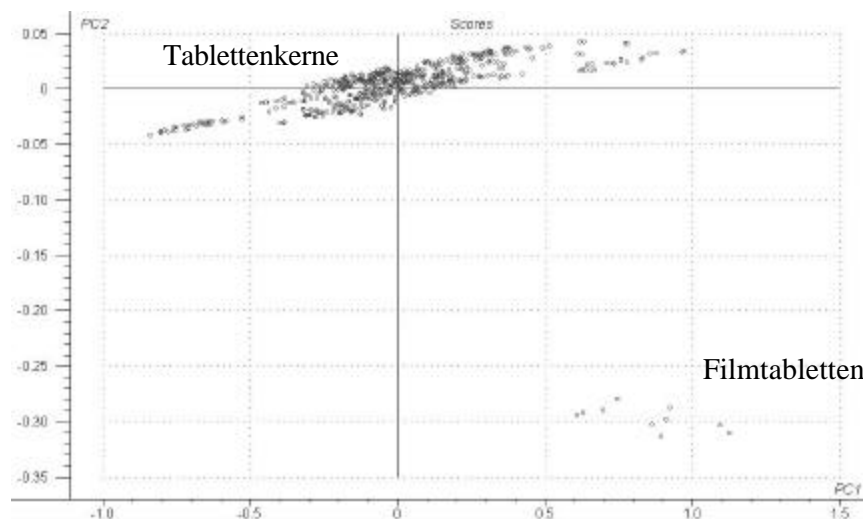


Abbildung 5.3.3 PCA von 10,5 mm Kernen und Filmtabletten

Diese Graphik zeigt, dass eine Gehaltsbestimmung von Filmtabletten mit einer Methode für nicht überzogene Kerne nicht möglich wäre. Große spektrale Differenzen würden die Ergebnisse stark verfälschen.

Nachvalidierungen oder sogar Neuentwicklungen von NIR-Methoden sind notwendig, sobald Veränderungen in der Rezeptur oder den Herstellungsparametern vorgenommen werden, die Auswirkungen auf die NIR-Spektren haben könnten.

5.3.1 Reflexionsmessungen mittels Michelson-Interferometer

5.3.1.1 Darstellung des Spektralbereichs

In Voruntersuchungen (Kapitel 5.1) wurde bereits der charakteristische Spektralbereich ausgewählt, in dem die überlagerten Wirkstoffbanden auftraten. Es zeigte sich, dass bei den Reflexionsspektren der Tablettenkerne vor allem die erste Oberschwingung der Aspartate zur quantitativen Auswertung verwendet werden konnte. Die unbehandelten Reflexionsspektren der 10,5 mm Kerne sind in Abbildung 5.3.4 dargestellt, die 12 mm Kerne unterschieden sich visuell nicht davon.

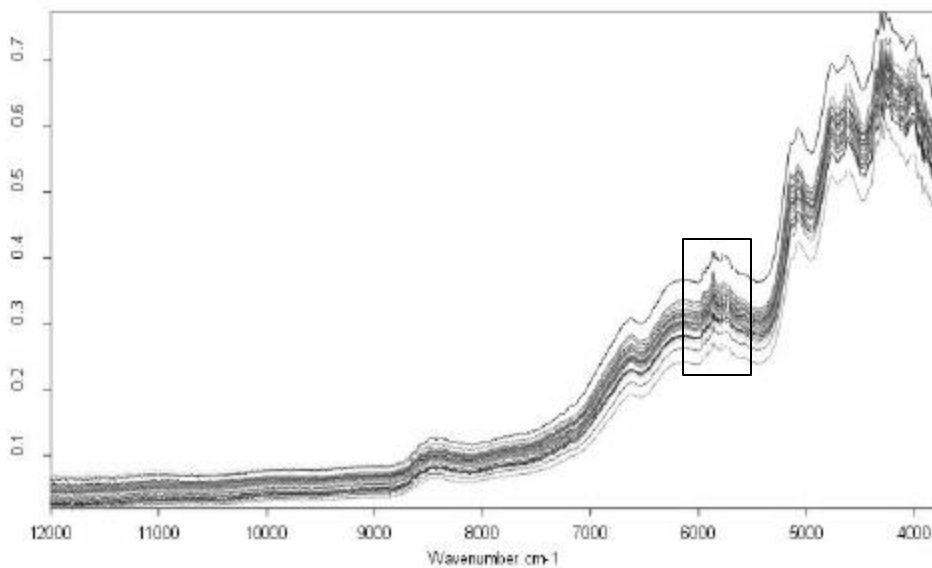


Abbildung 5.3.4 unbehandelte Reflexionsspektren der 10,5 mm Kalibriermuster

Die Streueffekte, die eine Basislinienverschiebung der Reflexionsspektren bewirkten, wurden durch physikalische Einflüsse der Probenmatrix hervorgerufen. Hierfür wurde besonders der Einfluss der Granulatzusammensetzung (Kapitel 5.2.1) und die daraus resultierende Tablettenfestigkeit, sowie der Unterschied zwischen beiden Kernoberflächen in Betracht gezogen (Kapitel 5.2.3).

Die Einflüsse der 30 unterschiedlichen Wirkstoffkonzentrationen ließen sich bei beiden Dosierungen besonders in vektornormierter erster Ableitung des Spektralbereichs von 5500-6000 cm^{-1} detektieren (Abbildung 5.3.5).

Durch diese Spektrenvorbehandlung konnten die Streueffekte deutlich minimiert werden, sodass die unterschiedlichen Absorptionsintensitäten in Abhängigkeit der Wirkstoffgehalte verdeutlicht werden konnten.

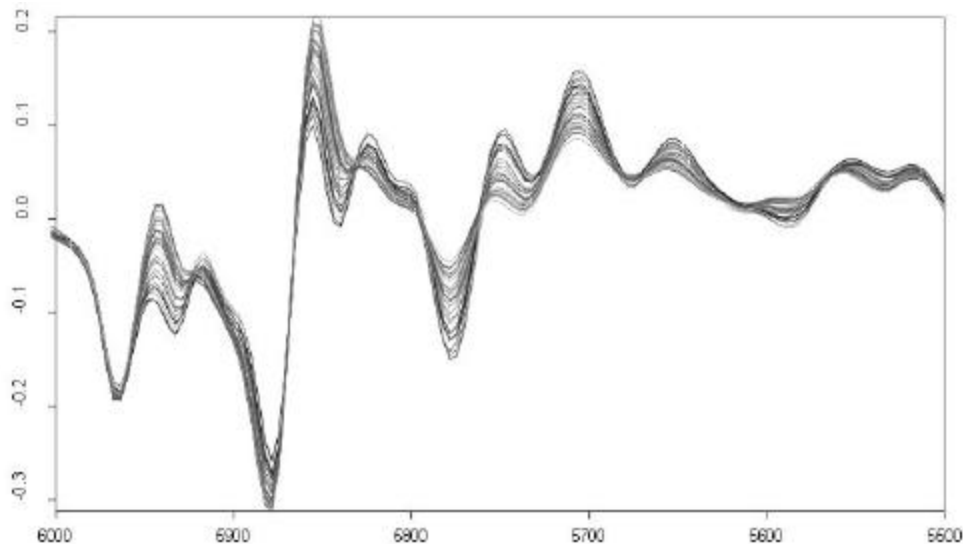
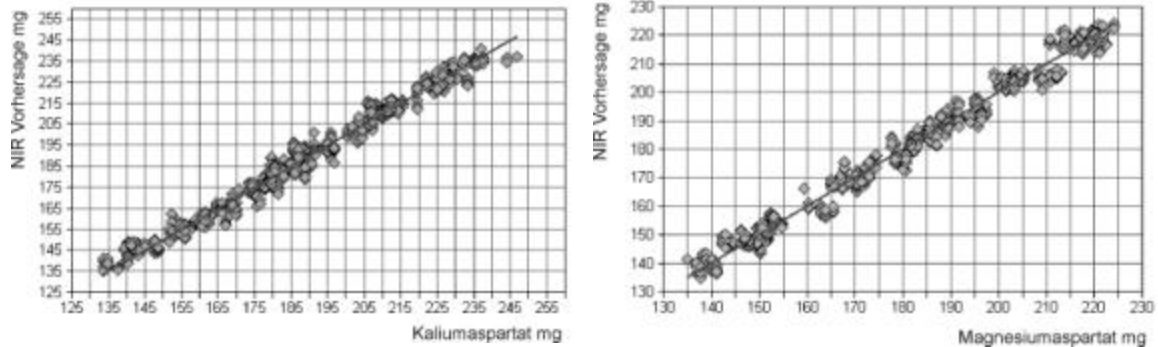


Abbildung 5.3.5 vektornormierte 1. Ableitung der Reflexionsspektren

Dieser Spektralbereich wurde im Folgenden bei beiden Dosierungen auch für die PLS-Regression von Reflexionsspektren und Referenzwerten verwendet.

5.3.1.2 Darstellung der PLS-Regressionen im Reflexionsmodus

Bei der PLS-Regression zur Gehaltsbestimmung von Kalium- und Magnesiumaspartat der 10,5 mm Kernen wurde mit 568 Reflexionsspektren im Spektralbereich von 6000-5500 cm^{-1} eine Kreuzvalidierung durchgeführt. Als Spektrenvorbehandlung wurde die 1. Ableitung und eine Vektornormierung gewählt.



a) Kaliumaspartat mg

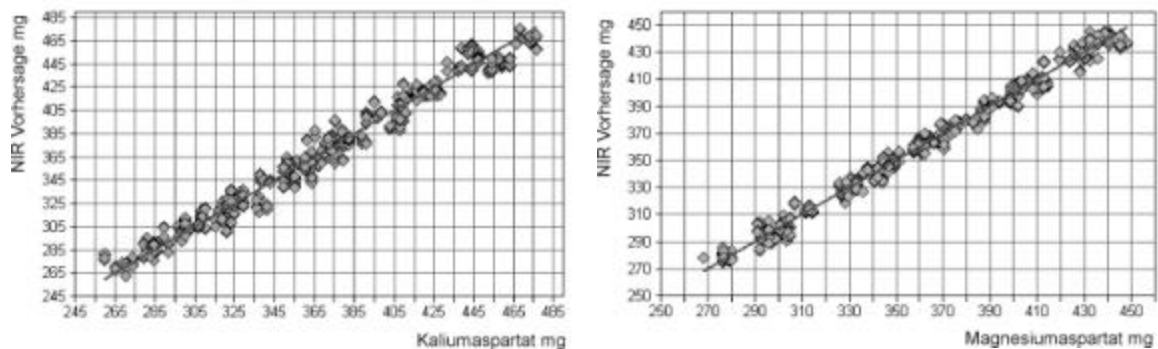
Rang: 3; R^2 : 97,92; RMSECV: 4,03 mg

b) Magnesiumaspartat mg

Rang: 4; R^2 : 98,47; RMSECV: 3,27 mg

Abbildung 5.3.6 PLS-Regression der 10,5 mm Kalibriermuster mittels Reflexionsmessung

Für die 12 mm Kerne wurden 563 Reflexionsspektren im Spektralbereich 6500-5500 cm^{-1} mit 1. Ableitung und Vektornormierung vorbehandelt und anschließend eine Kreuzvalidierung durchgeführt.



a) Kaliumaspartat mg

Rang: 4; R^2 : 97,48; RMSECV: 8,87 mg

b) Magnesiumaspartat mg

Rang: 4; R^2 : 98,89; RMSECV: 5,33 mg

Abbildung 5.3.7 PLS-Regression der 12 mm Kalibriermuster mittels Reflexionsmessung

5.3.2 Transmissionsmessungen mittels Michelson-Interferometer

5.3.2.1 Darstellung des Spektralbereichs

Im Gegensatz zur Reflexionsmessung konnte bei der Transmissionsmessung nur der Spektralbereich von $12000\text{-}8000\text{ cm}^{-1}$ detektiert werden, wodurch für die Gehaltsbestimmung der Aspartate nur der kaum visuell erkennbare zweite Oberton bei ca. 8500 cm^{-1} zur quantitativen Auswertung genutzt werden konnte.

In Abbildung 5.3.8 sind die unbehandelten Transmissionspektren der 10,5 mm Kalibriermuster dargestellt.

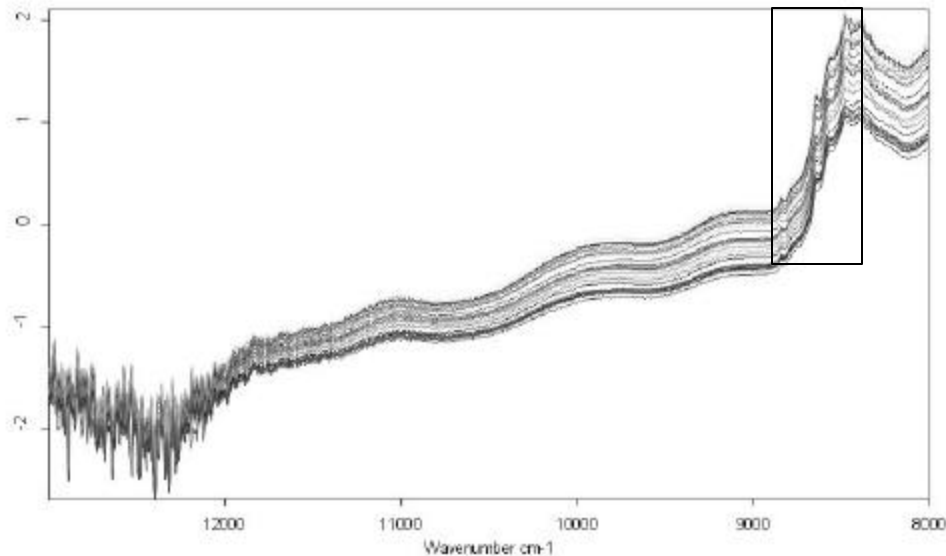


Abbildung 5.3.8 unbehandelte Transmissionspektren der 10,5 mm Kerne

Auch hier bewirkten die bereits genannten Streueffekte durch die Oberflächeneigenschaften der Kerne lineare Basislinienverschiebungen, konnten aber wiederum durch die Vorbehandlung von Vektornormierung und erster Ableitung vermindert werden. In diesen Spektren ist deutlich das Limit des InGaAs-Detektors im sichtbaren Bereich oberhalb von 12000 cm^{-1} zu sehen.

Abbildung 5.3.9 zeigt, dass der zweite Oberton der Aspartate in den Transmissionspektren im Spektralbereich von $8550\text{-}8900\text{ cm}^{-1}$ gut detektiert und quantitativ ausgewertet werden konnte.

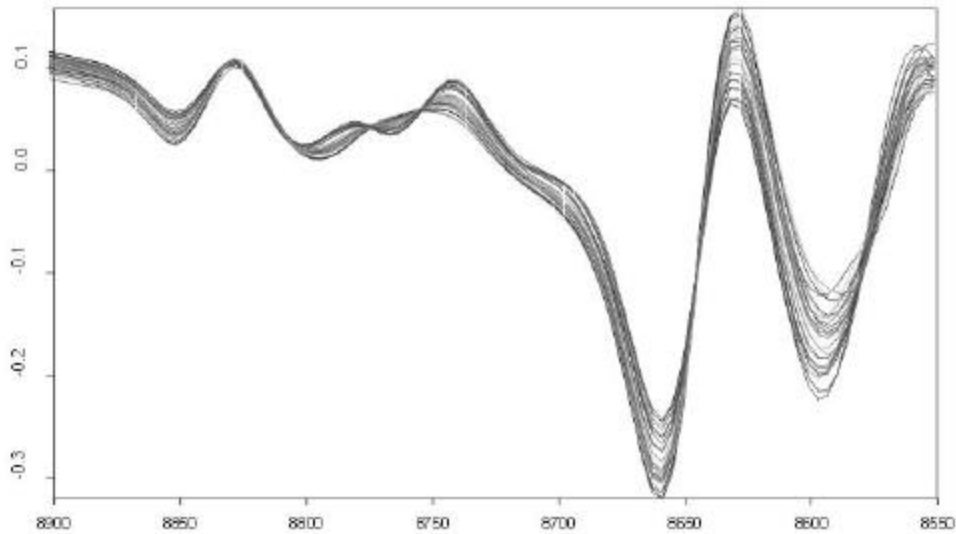


Abbildung 5.3.9 vektornormierte 1. Ableitung von Transmissionsspektren der 10,5 mm Kerne

Im Gegensatz zu den Reflexionsmessungen gab es bei den Transmissionsspektren deutliche Unterschiede zwischen den 10,5 mm und den 12 mm Kernen.

In Kapitel 5.2.2.1 wurden die Abmessungen der Kerne dargestellt, wobei für die 12 mm Kerne eine Höhe von 6,70-7,30 mm zulässig war.

Tabletten dieser Abmessungen stellen den Grenzbereich der Transmissionsspektroskopie dar, da es hierbei bereits zur Totalabsorption der elektromagnetischen Strahlung durch die Probe kommen kann.

In der Arbeit von Ramirez et al. (2001) wurde beschrieben, dass Tabletten mit einer Höhe von 7,6 mm durch weitere Komprimierung auf 3,6 mm reduziert wurden, um sie trotzdem mittels Transmission messen zu können. Diese Behandlung geht allerdings mit einer erheblichen Veränderung der Kernmatrix einher.

In den Untersuchungen zur Auswirkung der Bruchfestigkeit von Tabletten (Kapitel 5.2.3) konnte bereits gezeigt werden, dass vor allem physikalische Oberflächeneigenschaften durch unterschiedliche Presskräfte Einfluss auf die NIR-Spektren haben, wodurch eine Vergleichbarkeit mit Produktionschargen vermindert wird.

Um diese Fehlerquellen auszuschließen, wurde in dieser Arbeit ein Spektrometer mit einer Strahlungsquelle von 35 W eingesetzt, um Transmissionmessungen an den 12 mm Kernen durchführen zu können (Kapitel 3.4.6.2).

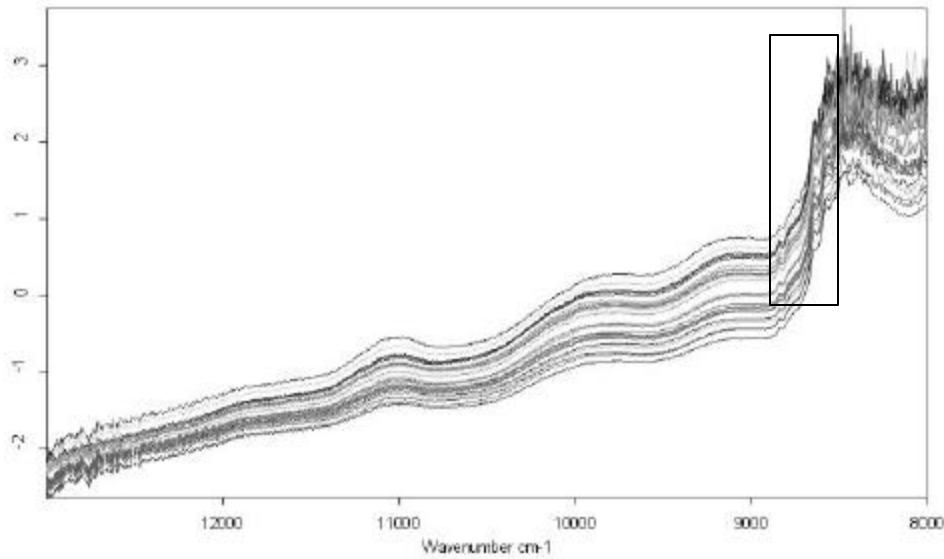


Abbildung 5.3.10 unbehandelte Transmissionsspektren der 12 mm Kerne

Anhand der Transmissionsspektren in Abbildung 5.3.10 wird jedoch deutlich, dass trotz eines stärkeren Lasers kein ausreichendes Signal detektiert werden konnte.

Im auswertbaren Bereich des zweiten Obertons der Wirkstoffschwingungen bei 8550-8900 cm^{-1} herrschte bereits Totalabsorption.

Tablettenkerne mit einer Höhe von über 7 mm erwiesen sich zur Bestimmung von Kalium- und Magnesiumaspartat als zu hoch, um sie in Transmission mit nahinfraroter elektromagnetischer Strahlung und InGaAs-Detektor quantifizieren zu können. Die zusätzlich entstandenen starken Streueffekte durch ein schlechteres Signal-Rausch-Verhältnis, ließen sich auch durch Bildung der vektornormierten ersten Ableitung nicht vollständig eliminieren, wie in Abbildung 5.3.11 zu erkennen ist.

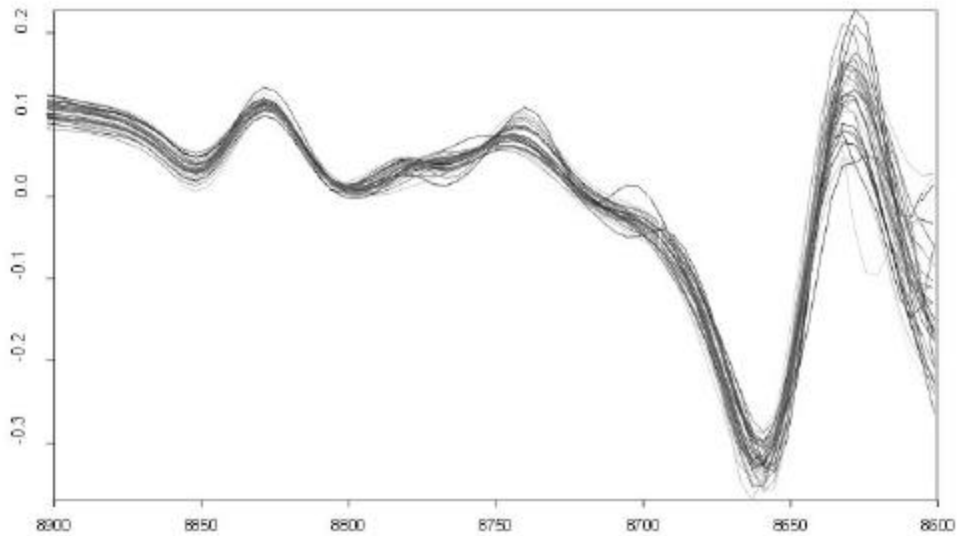
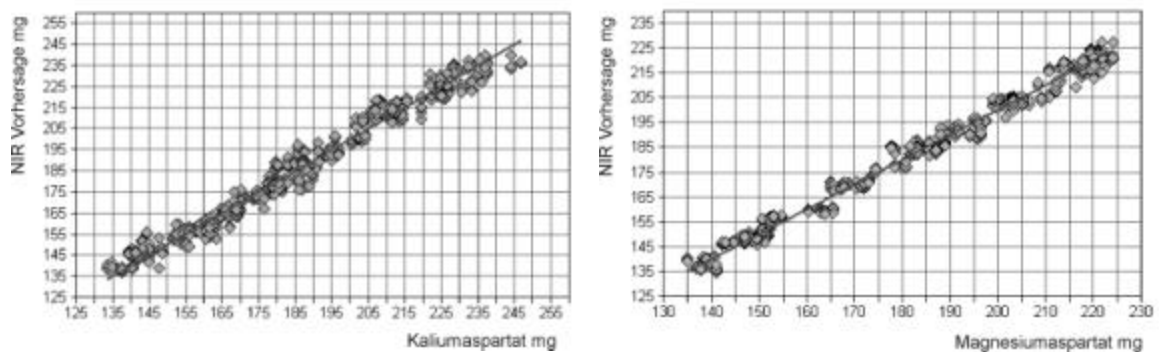


Abbildung 5.3.11 vektornormierte 1. Ableitung von Transmissionsspektren der 12 mm Kerne

5.3.2.2 Darstellung der PLS-Regression

Bei der PLS-Regression zur Gehaltsbestimmung von Kalium- und Magnesiumaspartat in den 10,5 mm Kernen wurde mit 576 Reflexionsspektren im Spektralbereich von 8630-8900 cm^{-1} eine Kreuzvalidierung durchgeführt. Als Spektrenvorbehandlung wurde die 1. Ableitung und eine Vektornormierung gewählt.



a) Kaliumaspartat mg

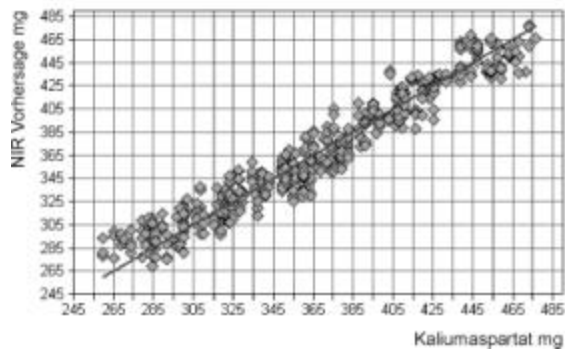
Rang: 3; R^2 : 97,55; RMSECV: 4,41 mg

b) Magnesiumaspartat mg

Rang: 3; R^2 : 98,75; RMSECV: 2,96 mg

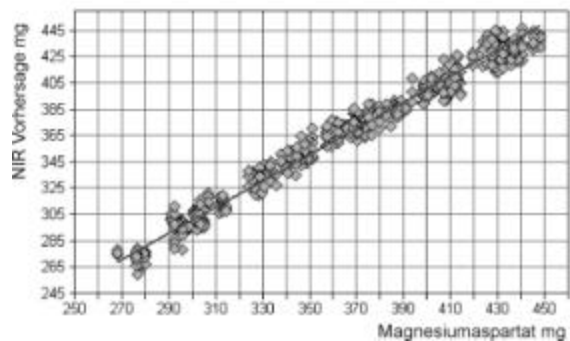
Abbildung 5.3.12 PLS-Regression der 10,5 mm Kalibriermuster mittels Transmissionsmessung

Für die 12 mm Kerne wurden 545 Reflexionsspektren im Spektralbereich $8630\text{-}8900\text{cm}^{-1}$ mit 1. Ableitung und Vektornormierung vorbehandelt und anschließend eine Kreuzvalidierung durchgeführt.



a) Kaliumaspartat mg

Rang: 4; R^2 : 93,77; RMSECV: 13,5 mg



b) Magnesiumaspartat mg

Rang: 5; R^2 : 97,77; RMSECV: 7,52 mg

Abbildung 5.3.13 PLS-Regression der 12 mm Kalibriermuster mittels Transmissionsmessung

5.3.3 Bewertung und Vergleich der Ergebnisse

Zur Bewertung der Ergebnisse der Kreuzvalidierungen in Kapitel 5.3.1.2 und 5.3.2.2. wurden die Validierungsdaten der primären Referenzanalytik herangezogen. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 5.1 zusammenfassend dargestellt.

In Kapitel 5.1 wurde bereits beschrieben, dass bei der NIR-Vorhersage von Kalium und Magnesiumaspartat beide Methodenfehler der Referenzanalytik berücksichtigt werden mussten.

Zur Ermittlung der Methodenpräzision der Referenzanalytik wurde jeweils eine 6fach Bestimmung einer Mischprobe aus 10 Tabletten durchgeführt.

Die HPLC-Bestimmung der Aspartate wies eine Methodenpräzision von 97,20 % bei einem Variationskoeffizienten von 1,15 % auf.

Die AAS-Bestimmung der Kationen wies bei Kalium eine Methodenpräzision von 96,55 % mit einem Variationskoeffizienten von 1,19 % auf. Bei Magnesium lag die Methodenpräzision bei 98,11 % mit 1,31 % Variationskoeffizient.

Die Wiederfindungsrate bei den Konzentrationen von 70 %, 100 %, 130 % (n=3) wurde bei allen Methoden mit 100 % angegeben.

Alle Angaben erfolgten mit einem Konfidenzintervall von 95 %.

Zum besseren Vergleich der Streuungsparameter der verschiedenen Methoden wurde der relative RMSECV in Bezug auf den Sollwirkstoffgehalt von 175 mg bzw. 360,5 mg pro Tablette berechnet (Jedvert et. al. 1998).

Da die Gehaltsbestimmung mittels NIRS eine sekundäre Methode darstellt, die nicht ohne eine Kalibrierung des Spektrometers durch eine primäre validierte Referenzanalytik möglich ist, kann das Ergebnis einer Vorhersage nie besser sein, als die Werte, die bei der PLS-Regression als y-Variablen zugrunde gelegt wurden.

Unter diesem Aspekt, und der Tatsache, dass sich der Methodenfehler durch die Verwendung von zwei Referenzmethoden verschlechterte, waren die Kalibrierungsmodelle zur simultanen Vorhersage beider Wirkstoffe in Tablettenkernen sehr gut und konnten mit wenigen Faktoren beschrieben werden. Der Wirkstoffgehalt wurde bereits durch die wichtigsten Faktoren der PLS-Regression repräsentiert, was auf eine robuste Kalibrierung hindeutete.

Eine Gehaltsbestimmung von Kalium- und Magnesiumaspartat war bei beiden Dosierungen der Tablettenkerne mittels NIR-Reflexionsspektroskopie sehr gut möglich.

Da bei der Reflexionsmessung und der Transmissionsmessung jeweils ein anderer Spektralbereich ausgewertet wurde, konnte kein direkter Vergleich dieser Ergebnisse erfolgen.

Die PLS-Regression der 10,5 mm Kerne ergab bei der Transmissionsmessung die besten Ergebnisse, wohingegen die 12 mm Kerne aufgrund ihrer Höhe im Transmissionsmodus nicht befriedigend vorhergesagt werden konnten.

Reflexion	Transmission	Referenzmethode
10,5 mm Kaliumaspartat R^2 : 97,92 Rel. RMSECV: 2,30 % Rang: 3	10,5 mm Kaliumaspartat R^2 : 97,55 Rel. RMSECV: 2,52 % Rang: 3	AAS Kalium Methodenpräzision: 96,55 % Variationskoeffizienten: 1,19 %
10,5 mm Magnesium aspartat R^2 : 98,47; Rel. RMSECV: 1,87 % Rang: 4	10,5 mm Magnesiumaspartat R^2 : 98,75; Rel. RMSECV: 1,69 % Rang: 3	AAS Magnesium Methodenpräzision: 98,11 % Variationskoeffizient: 1,31 %
12 mm Kaliumaspartat R^2 : 97,48 Rel. RMSECV: 2,46 % Rang: 4	12 mm Kaliumaspartat R^2 : 93,77 Rel. RMSECV: 3,75 % Rang: 4	HPLC Aspartat Methodenpräzision: 97,20 % Variationskoeffizienten: 1,15 %
12 mm Magnesiumaspartat R^2 : 98,89 Rel. RMSECV: 1,48 % Rang: 4	12 mm Magnesiumaspartat R^2 : 97,77 Rel. RMSECV: 2,09 % Rang: 5	

Tabelle 5.1 Vergleich der Ergebnisse im Überblick

5.3.3.1 Überprüfung der Reflexionsergebnisse

Um zu zeigen ob sich die Testchargen spektral von den Kalibrierchargen unterscheiden, wurde zunächst eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Es wurde derselbe Spektralbereich der vorbehandelten Spektren gewählt wie für die PLS-Regression. Das Ergebnis wurde in Abbildung 5.3.14 und Abbildung 5.3.15 als dreidimensionaler Dreifaktoren-Plott der ersten drei PLS-Hauptkomponenten dargestellt.

Scores

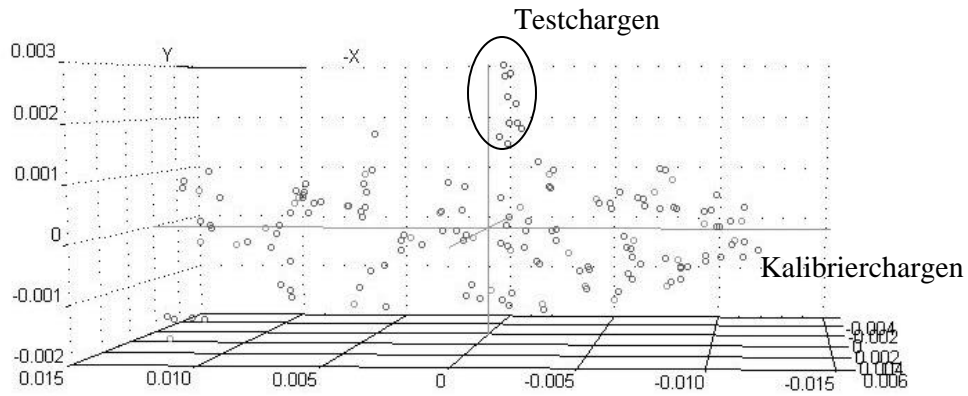


Abbildung 5.3.14 Dreifaktoren-Plott der 10,5 mm Kalibrierchargen und Testchargen

Scores

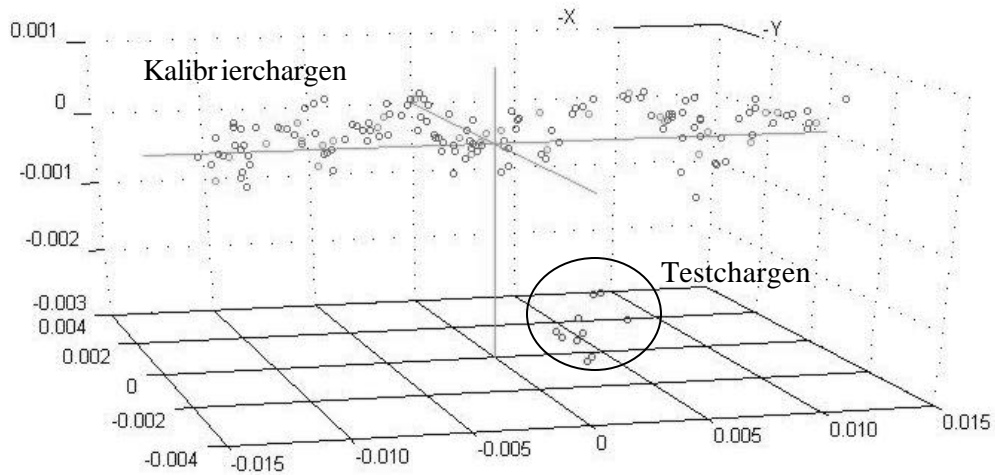


Abbildung 5.3.15 Dreifaktor-Plott der 12 mm Kalibrierchargen und Testchargen

In beiden dreidimensionalen Grafiken ist zu erkennen, dass sich die Testchargen spektral von den Kalibrierchargen unterscheiden.

Trotz eingehender Voruntersuchungen und Angleichung der Produktionsbedingungen durch den Scale down des Laboransatzes ist mittels NIR-Spektroskopie und anschließender chemometrischer Datenauswertung ein Unterschied der Chargen zu sehen.

Die Trennung der Chargen in einer Hauptkomponentenanalyse deutete daraufhin, dass die NIR-Spektren der Kerne besonders stark durch die Probenmatrix beeinflusst wurden, da bei diesem multivariaten Verfahren der Wert der Referenzanalytik nicht als y-Variable mit in Betracht gezogen wird. Bei der PCA wird nur nach Größe und nicht nach Relevanz der Varianzen modelliert. Das veränderte Herstellungsverfahren stellte in dieser Arbeit möglicherweise den Hauptgrund für die spektrale Varianz zwischen Kalibrier- und Produktionsmustern dar.

Vor einem routinemäßigen Einsatz dieser quantitativen Methode ist es daher unbedingt erforderlich, Spektren von Produktionsmustern und deren unabhängig ermittelter Referenzgehalt in dieses synthetische Kalibriermodell mit einzubeziehen. Vorhersagefehler durch spektrale Unterschiede der Kernmatrix können auf diese Weise minimiert werden. Trotz dieser spektralen Differenzen wurde eine Gehaltsbestimmung der Testchargen mittels NIRS durchgeführt und mit der Referenzanalytik verglichen.

Zur Überprüfung der Reflexionsmethode wurden Tablettenkerne aus der Produktion in diffuser Reflexion mit derselben Versuchsanordnung vermessen, wie die Kalibriermuster und anschließend mittels HPLC und AAS analysiert.

Es standen 3 Chargen der 10,5 mm Tomcardin (TC) Kerne mit einem Sollgehalt von 37,9 mg Kalium, 11,8 mg Magnesium und 256,52 mg wasserfreiem Aspartat zur Verfügung und 10 Chargen der 12 mm Tromcardin forte (TCF) Kerne mit einem Sollgehalt von 78,2 mg Kalium, 24,3 mg Magnesium und 528,43 mg wasserfreiem Aspartat je Kern.

Bei der NIRS wurden 10 Stichproben je Charge jeweils zweimal von beiden Seiten vermessen und ein Mittelwert der Vorhersage aus 40 Spektren angegeben.

Bei der Referenzanalytik wurde eine Mischprobe aus denselben 10 Stichproben 3fach vermessen und als Mittelwert angegeben.

Die NIR-Vorhersage erfolgte als Kaliumaspartat*0,5 H₂O und Magnesiumaspartat*4 H₂O in mg pro Kern und wurde nachträglich zum Vergleich mit den Referenzergebnissen stöchiometrisch in Kalium, Magnesium und wasserfreies Aspartat in mg pro Kern umgerechnet. Die Ergebnisse sind im Anhang in Kapitel 7.14 graphisch dargestellt.

Kalium	Minimum mg	Maximum mg	Sollwert mg	AAS mg	rSD %	NIRS mg	SD mg	rSD %
1	36.07	39.87	37.90	38,97	1.19	40.22	0.53	1.32
2	36.07	39.87	37.90	37,96	1.19	40.00	0.67	1.67
3	36.07	39.87	37.90	38,15	1.19	39.74	0.72	1.80

Magnesium	Minimum mg	Maximum mg	Sollwert mg	AAS mg	rSD %	NIRS mg	SD mg	rSD %
1	11.21	12.39	11.80	11,83	1.31	11.85	0.10	0.83
2	11.21	12.39	11.80	11,57	1.31	11.80	0.13	1.06
2	11.21	12.39	11.80	11,41	1.31	11.86	0.16	1.36

Aspartat	Minimum mg	Maximum mg	Sollwert mg	HPLC mg	rSD %	NIRS mg	SD mg	rSD %
1	243.87	269.54	256.52	256,40	1.15	264.96	2.14	0.81
2	243.87	269.54	256.52	251,12	1.15	263.61	2.96	1.12
3	243.87	269.54	256.52	253,59	1.15	263.37	2.66	1.01

Tabelle 5.2 Gehaltsbestimmung der 10,5 mm Tromcardin (TC) Testchargen

Die Daten der Tabelle 5.2 und Tabelle 5.3 zeigten, dass die NIR-Reflexionsmethode, trotz geringer spektraler Abweichungen der Probenmatrix in der Lage ist, eine simultane zerstörungsfreie Vorhersage des Gehaltes von Kalium, Magnesium und Aspartat in Tablettenkernen mit vergleichbarer Präzision zur Referenzanalytik zu treffen.

Kalium	Minimum mg	Maximum mg	Sollwert mg	AAS mg	rSD %	NIRS mg	SD mg	rSD %
1	74.29	82.11	78.20	76.91	1.19	83.37	1.60	1.92
2	74.29	82.11	78.20	76.98	1.19	81.96	1.77	2.16
3	74.29	82.11	78.20	77.14	1.19	80.85	1.58	1.96
4	74.29	82.11	78.20	75.75	1.19	80.83	1.57	1.95
5	74.29	82.11	78.20	76.96	1.19	81.76	2.77	3.39
6	74.29	82.11	78.20	76.78	1.19	80.87	2.04	2.53
7	74.29	82.11	78.20	76.99	1.19	79.53	1.85	2.32
8	74.29	82.11	78.20	77.31	1.19	80.58	2.14	2.65
9	74.29	82.11	78.20	75.94	1.19	81.57	2.70	3.31
10	74.29	82.11	78.20	77.09	1.19	81.50	2.00	2.46

Magnesium	Minimum mg	Maximum mg	Sollwert mg	AAS mg	rSD %	NIRS mg	SD mg	rSD %
1	23.09	25.53	24.30	24.05	1.31	22.48	0.35	1.55
2	23.09	25.53	24.30	24.18	1.31	23.07	0.38	1.63
3	23.09	25.53	24.30	24.26	1.31	23.66	0.34	1.45
4	23.09	25.53	24.30	24.10	1.31	23.73	0.38	1.58
5	23.09	25.53	24.30	24.33	1.31	23.61	0.64	2.72
6	23.09	25.53	24.30	24.07	1.31	23.75	0.41	1.72
7	23.09	25.53	24.30	24.07	1.31	23.54	0.37	1.58
8	23.09	25.53	24.30	24.41	1.31	23.23	0.38	1.62
9	23.09	25.53	24.30	24.06	1.31	23.04	0.58	2.52
10	23.09	25.53	24.30	24.05	1.31	22.80	0.42	1.86

Aspartat	Minimum mg	Maximum mg	Sollwert mg	HPLC mg	rSD %	NIRS mg	SD mg	rSD %
1	501.98	554.82	528.43	536.03	1.15	525.94	2.75	0.52
2	501.98	554.82	528.43	529.82	1.15	527.68	3.32	0.63
3	501.98	554.82	528.43	525.69	1.15	530.29	3.45	0.65
4	501.98	554.82	528.43	510.26	1.15	531.03	3.14	0.59
5	501.98	554.82	528.43	524.53	1.15	532.89	3.56	0.67
6	501.98	554.82	528.43	567.63	1.15	531.33	4.06	0.76
7	501.98	554.82	528.43	550.84	1.15	524.55	3.38	0.64
8	501.98	554.82	528.43	554.76	1.15	524.70	3.92	0.75
9	501.98	554.82	528.43	542.39	1.15	526.00	3.74	0.71
10	501.98	554.82	528.43	546.82	1.15	523.20	3.91	0.75

Tabelle 5.3 Gehaltsbestimmung der 12 mm Tomcardin forte (TCF) Testchargen

In diesem Beispiel der quantitativen NIRS mussten Fehlerfaktoren beachtet werden, die durch die ungünstige Wahl der Referenzmethoden entstanden.

Mit NIRS war nur die Detektion von kristallwasserhaltigem Kalium- und Magnesiumaspartat möglich, während bei der Referenzanalytik eine Bestimmung der wasserfreien Ionen erfolgte. Weiter Fehlerquellen lieferten die physikalischen Unterschiede des Granulatansatzes durch einen Scale down von 270 auf 1 kg.

5.3.4 Reflexionsmessung mittels Polarisations-Interferometer

Die identischen 150 Kalibriermuster beider Tablettenkerngrößen wurden zum Vergleich von zwei Spektrometersystemen zusätzlich mit einem Polarisations-Interferometer der Firma Büchi vermessen. Im theoretischen Teil in Kapitel 2.3.1 und 2.3.2 wurden bereits die Unterschiede der beiden Fourier-Transformations-Techniken beschrieben.

Beim Michelson-Interferometer wird das Interferogramm mit Hilfe von beweglichen Spiegeln erzeugt, beim Polarisations-Interferometer durch bewegliche Quarzkeile.

In Kapitel 3.4.6.1 wurden die Messparameter beider Spektrometer dargestellt, die zur Tablettenmessung verwendet wurden. Die Hauptunterschiede bestanden hierbei in Detektor; Messzeit, sowie in der optischen Auflösung:

- Michelson-Interferometer:
9,5 Sekunden (16 scans), optische Auflösung 8 cm^{-1} , digitale Auflösung 4 cm^{-1} (2100 Datenpunkte je Spektrum); InGaAs Detektor

- Polarisations-Interferometer:
30 Sekunden (5 scans), maximale optischen Auflösung 24 cm^{-1} , maximale digitale Auflösung 12 cm^{-1} (500 Datenpunkte je Spektrum); PbS Detektor

Aus diesen Parametern ergab sich für das Polarisations-Interferometer ein schlechteres Signal/Rausch-Verhältnis und eine schlechtere Auflösung, was in dieser Arbeit besonders durch die Darstellung der überlagerten Wirkstoffbande der Aspartate im Spektralbereich zwischen 5500 und 6100 cm^{-1} in Abbildung 5.3.16 als Vergleich von zwei Spektren des selben Musters verdeutlicht werden konnte. In Arbeiten von Horn et al. wurde bereits über den Vergleich verschiedener Spektrometer (1998) und die Problematik des Kalibrationstransfer zwischen verschiedenen Spektrometern (1999) berichtet.

In dieser Arbeit wurden alle Originalspektren zur vergleichenden Darstellung beider Methoden ins JCAMP Format transferiert (Kapitel 2.4.4.4) und mittels Unscrambler Software ausgewertet.

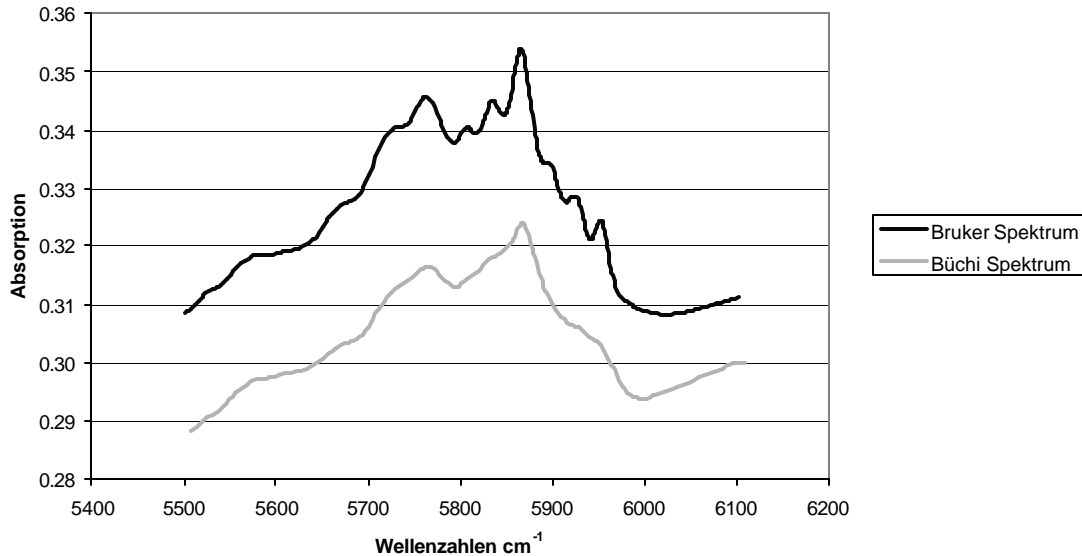


Abbildung 5.3.16 Vergleich des charakteristischen Spektralbereichs von Kalium-/Magnesiumaspartat

Im Originalspektrum desselben Tablettenkerns sind eine geringere Intensität der Absorption und eine deutlich schlechtere optische Auflösung der überlagerten Banden von Kalium- und Magnesiumaspartat zu erkennen. Der in Abbildung 5.3.16 dargestellte Spektralbereich im Bruker-Spektrum wird durch 157 Datenpunkte repräsentiert, der im Büchi-Spektrum durch 51 Datenpunkte.

Zum Vergleich der quantitativen Methoden beider Spektrometer musste die unterschiedliche spektrale Auflösung der Spektrometer beachtet werden (Bruker 8 cm^{-1} , Büchi 24 cm^{-1}). Bei einer Spektrenvorbehandlung durch Ableitung mit gleichzeitiger Polynomglättung ist es bei den Büchi-Spektren erforderlich eine kleinere Segmentbreite zu wählen, um die Ergebnisse miteinander vergleichen zu können (Kapitel 2.4.4.2).

In dieser Arbeit wurde für den direkten Vergleich beider Spektrometer die multiplikative Streukorrektur (MSC) als Spektrenvorbehandlung verwendet, da sie additive und multiplikative Streueffekte unabhängig von der spektralen Auflösung der Spektren vermindert (Kapitel 2.4.4.3).

Es wurde von jeweils allen 600 Reflexionsspektren im Spektralbereich von $4656\text{-}6456 \text{ cm}^{-1}$ eine MSC und anschließend eine PLS-Regression mittels Kreuzvalidierung durchgeführt. In Tabelle 5.4 sind diese vergleichenden Ergebnisse im Überblick dargestellt.

Michelson-Interferometer	Kaliumaspartat mg	Magnesiumaspartat mg
600 Reflexionsspektren MSC, 4656-6456 cm ⁻¹		
10,5 mm Kerne	R ² : 97,83 RMSECV: 5,87 mg Faktoren: 3	R ² : 98,47 RMSECV: 4,62 mg Faktoren: 4
12 mm Kerne	R ² : 97,13 RMSECV: 13,16 mg Faktoren: 3	R ² : 98,75 RMSECV: 8,03 mg Faktoren: 3

Polarisations-Interferometer	Kaliumaspartat mg	Magnesiumaspartat mg
600 Reflexionsspektren MSC, 4656-6456 cm ⁻¹		
10,5 mm Kerne	R ² : 97,92 RMSECV: 5,75 mg Faktoren: 3	R ² : 98,39 RMSECV: 4,74 mg Faktoren: 3
12 mm Kerne	R ² : 96,36 RMSECV: 14,78 mg Faktoren: 3	R ² : 98,12 RMSECV: 9,85 mg Faktoren: 3

Tabelle 5.4 Ergebnisse der PLS-Regression beider Spektrometer-Typen im Vergleich

Aus den Korrelationskoeffizienten und Vorhersagefehlern ist zu erkennen, dass beide Spektrometer hinsichtlich der hier bearbeiteten Fragestellung gleichwertig sind. Die folgenden Diagramme (Abbildung 5.3.17 bis Abbildung 5.3.20) zeigen die linearen Regressionen der Referenzwerte und mittels NIR vorhergesagten Werte beider Spektrometer im Vergleich, Ausreißer wurden hierbei nicht entfernt.

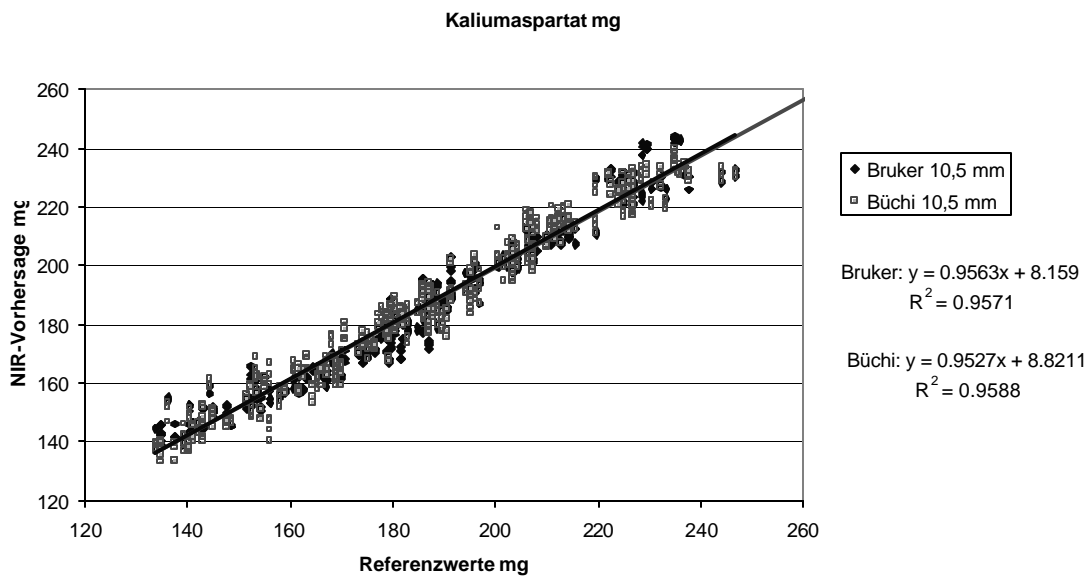


Abbildung 5.3.17 Vergleich der Kaliumaspartat Bestimmungen von 10,5 mm Kernen

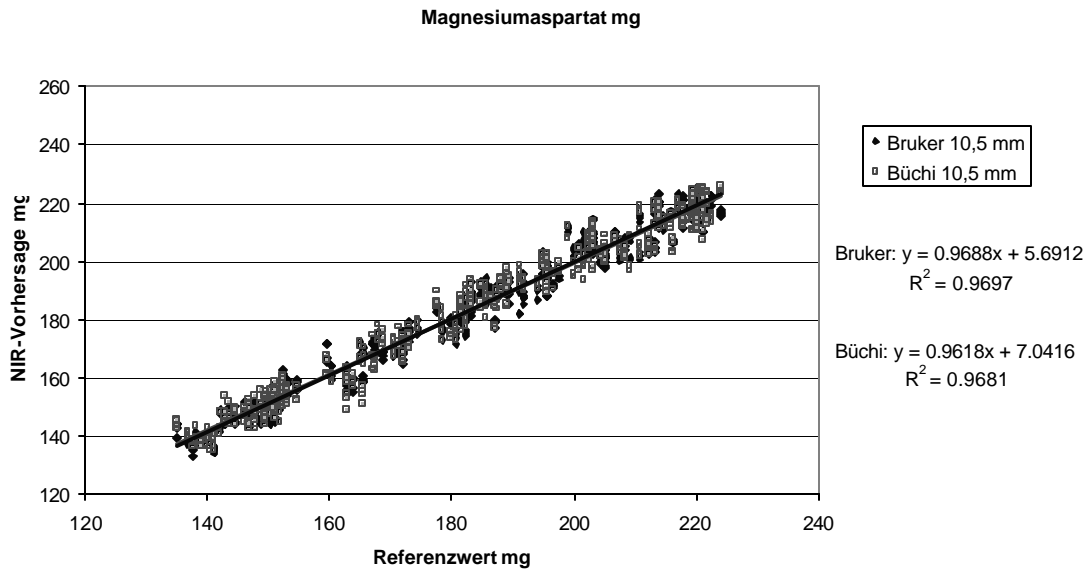


Abbildung 5.3.18 Vergleich der Magnesiumaspartat Bestimmungen von 10,5 mm Kernen

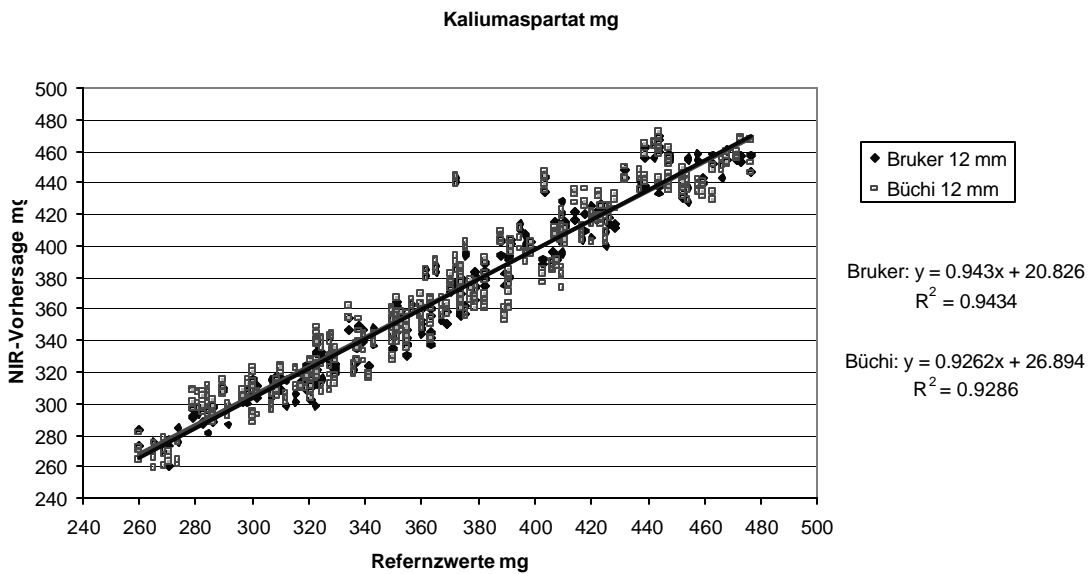


Abbildung 5.3.19 Vergleich der Kaliumaspartat Bestimmungen von 12 mm Kernen

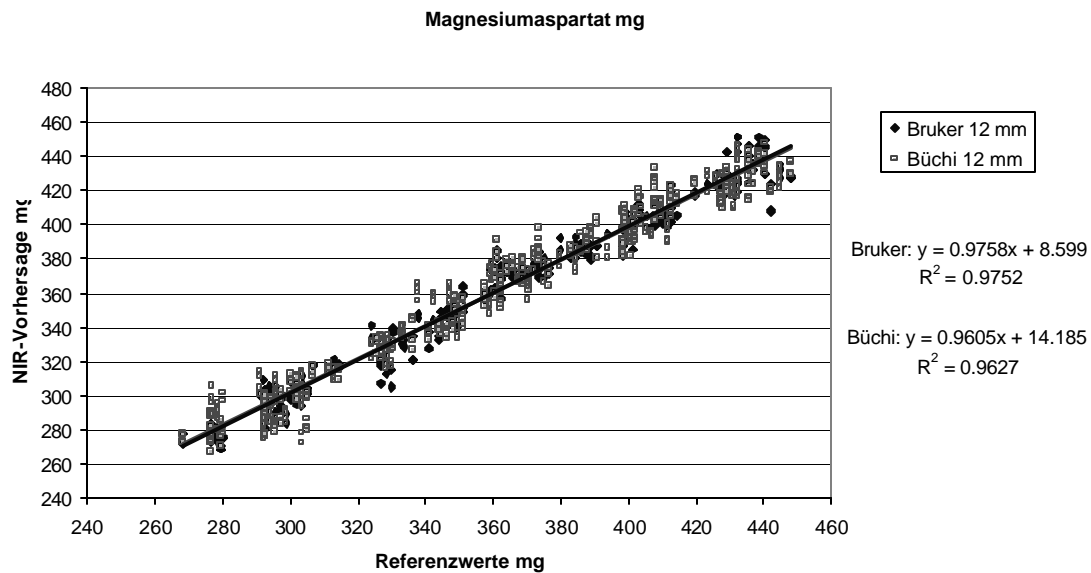


Abbildung 5.3.20 Vergleich der Magnesiumaspartat Bestimmungen von 12 mm Kernen

Mit Hilfe eines zwei Stichproben T-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen konnte bei einem Signifikanzniveau von 0,05 gezeigt werden, dass sich die Spektrometer in der Vorhersage vom Kalium- und Magnesiumaspartat Gehalt der Kalibriermuster nicht signifikant voneinander unterscheiden.

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden die Einsatzmöglichkeiten der Nahinfrarot Spektroskopie zur Untersuchung von pharmazeutischen Hilfsstoffen und festen Arzneiformen untersucht.

Der erste Teil der Arbeit beinhaltet die Charakterisierung von Lactosen, Magnesiumstearaten, Mikrokristallinen Cellulosen und Stärken anhand von NIR-Spektren.

Der Schwerpunkt dieser Untersuchungen bestand in der Quantifizierung der Feuchtigkeitsgehalte dieser Hilfsstoffe, indem Kalibrierungsmodelle zur Wassergehaltsbestimmung mittels NIRS entwickelt wurden.

Es konnte gezeigt werden, dass eine gemeinsame zerstörungsfreie Wassergehaltbestimmung von Produkten mit unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften möglich war.

Bei den Lactosen mussten in diesem Zusammenhang herstellerbedingte spektrale Differenzen der Produkte berücksichtigt werden.

Durch die Interpretation der OH-Schwingungen in den Lactose-Spektren konnte zwischen oberflächlich adsorbiertem Wassers und Kristallwasser differenziert werden.

Mittels NIRS und primärer Referenzanalytik war es möglich, Magnesiumstearate anhand der OH-Schwingungen im Spektrum zu verschiedenen pseudopolymorphen Modifikationen zuzuordnen.

Mikrokristalline Cellulosen konnten trotz Partikelgrößen- und Herstellerunterschiede sehr gut mit einem Kalibrierungsmodell analysiert werden.

Die Herkunft verschiedener Stärkenarten aus Mais, Kartoffeln und Weizen wurde ebenfalls anhand der OH-Schwingungen mittels Nahinfrarot Spektroskopie identifiziert.

Die NIR-Spektroskopie ermöglichte eine differenzierte Charakterisierung der Hilfsstoffe, da sich die physikalischen Eigenschaften, die erheblich zur technologischen Funktionalität der Substanzen beitragen, in den Spektren widerspiegeln.

Die NIR-Spektroskopie kann somit insbesondere zur technologischen Bewertung von pharmazeutischen Hilfsstoffen beitragen.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde eine zerstörungsfreie Gehaltsbestimmung eines Fertigarzneimittels mit Kalium- und Magnesiumaspartat als Wirkstoff entwickelt.

Die Arbeit beschreibt die einzelnen Schritte der Methodenentwicklung und zeigt deutlich die Problematik bei der Kalibrierung des Spektrometers auf.

Die Herstellung von 30 Chargen synthetischer Kalibriermuster mit unterschiedlicher Wirkstoffzusammensetzung erforderte einen Scale down des Produktionsansatzes. Dieses ging mit einer Veränderung der physikalischen Eigenschaften von Granulaten und Tablettenkernen im Vergleich zu Produktionschargen einher.

Um den Einfluss dieser Parameter auf die NIR-Spektren der Kalibriermuster zu charakterisieren, wurden Untersuchungen der Granulatmorphologie und deren Partikelgrößenverteilung vorgenommen, sowie Verdichtungsverhalten und Restfeuchte der Granulatchargen bestimmt.

Nach der Tablettierung wurde insbesondere der Einfluss der Presskraft und der Nachhärtung auf die Tablettenkerne untersucht, da diese Parameter ebenfalls Einfluss auf die NIR-Spektren haben. Hier konnte eine gute Korrelation von Bruchfestigkeitswerten und deren Vorhersage mittels NIRS gezeigt werden.

Am Beispiel der Gehaltsbestimmung von Tromcardin/ -forte Tabletten wurde ein Vergleich von Reflexions- und Transmissionsspektroskopie gezeigt, wobei der Grenzbereich der Transmissionsmessung erreicht und bewertet wurde.

Bei einer Tablettenhöhe von mehr als 7 mm konnte der relevante Spektralbereich zur quantitativen Auswertung mittels Transmissionsspektroskopie nicht ausreichend detektiert werden.

Die Reflexionsspektren ermöglichten eine sehr gute Vorhersage des Wirkstoffgehaltes, was anhand von unabhängigen Produktionschargen überprüft wurde.

Der Vergleich von einem Michelson- und einem Polarisations-Interferometer wurde anhand von charakteristischen Spektralbereichen dargestellt, wobei die Gleichwertigkeit der Geräte innerhalb dieser Fragestellung gezeigt werden konnte.

Da es sich bei der NIR-Spektroskopie um eine zerstörungsfreie, schnelle und umweltfreundliche Methode handelt, bietet sie bei vorausgehender Kalibrierung des Spektrometers ein großes Potential zur Charakterisierung von Hilfsstoffen und Arzneiformen.

7 Anhang

7.1 Geräte

FT-NIR-Michelson-Interferometer Vector 22/N	Bruker Optik GmbH, D-Ettlingen
FT-NIR-Michelson-Interferometer Vector 22/N -T	Bruker Optik GmbH, D-Ettlingen
Mettler DL 35 Karl-Fischer Titrator	Mettler-Toledo, D-Gießen
Feuchtebestimmer MA 40	Sartorius, D-Göttingen
Pyris 1 TGA Thermogravimetric Analyzer	Perkin Elmer, D-Überlingen
DSC 204 Phoenix	Netzsch, D-Selb
Trockenschrank	Memmert, D-Schwabach
Trockenschrank	Weiss, D-Reiskirchen-Lindenstruth
PW 1830/40 Röntgendiffraktometer	Philips, D-Kassel
Helos 12 KA/LA Laserbeugungsspektrometer	Sympathec, D-Clausthal
Rasterelektronenmikroskop S-2460N	Hitachi, Kyoto, Japan
Sputter Coater S150B	Edwards, Crawley, England
Collette MP 20	Collette, B-Wommelgem
Siebgranulator (1,6 mm)	Erweka, D-Heusenstamm
Sieb (1.25 mm)	Wepa, D-Arnsberg
Turbula-Mischer	Bachofen AG, CH-Basel
Stampfvolumeter	J. Engelmann AG, D-Ludwigshafen
Tablettenpresse EK0	Korsch, D-Berlin
Messbrücke	Philips, D-Kassel
Oszilloskop HM 421	Hameg, D-Frankfurt a. M.
Zerfallstester ZA6	Erweka, D-Heusenstamm
Friabilator	Erweka, D-Heusenstamm
Bruchfestigkeitstester 2E	Schleuniger, Le Locle
Wagge	Sartorius, D-Göttingen
Schieblehre	PAV Electronic
Atomabsorptionsspektrometer	Perkin Elmer, D-Überlingen
HPLC	Waters, Milford USA
Xterra RP8 Chromatographiesäule	Waters, Milford USA

7.2 Software

OPUS NT 3.1	Bruker Optik GmbH, D-Ettlingen
Unscrambler 7.6	CAMO ASA, Oslo, Norwegen
Microsoft Office 2000	Microsoft Corporation USA
Corel Draw / Photo Paint 8.0	Corel Corporation USA

7.3 Rezepturen der Kalibrierchargen

Granulatmischung Nr.	1	2	3	4	5	6
Kaliumaspartat g	446	548	366	333	491	426
Magnesiumaspartat g	381	358	463	479	414	408
gereinigtes Wasser g	57	31	57	63	32	56
Isopropanol g	28	15	28	30	15	27
Plasdone K-25 g	33	18	33	36	19	32
Methocel E5 g	25	14	25	28	14	24
Karion instant g	23	13	23	25	13	22
Magnesiumstearat g	6	3	6	6	3	6
Granulat g	999	1000	1001	1000	1001	1001

Granulatmischung Nr.	7	8	9	10	11	12
Kaliumaspartat g	506	412	474	384	350	406
Magnesiumaspartat g	327	462	353	445	494	494
gereinigtes Wasser g	56	42	58	57	52	33
Isopropanol g	27	20	28	28	25	16
Plasdone K-25 g	32	24	34	33	30	19
Methocel E5 g	24	18	26	25	23	15
Karion instant g	22	17	23	23	21	13
Magnesiumstearat g	6	4	6	6	5	3
Granulat g	1000	999	1001	1001	1000	1000

Granulatmischung Nr.	13	14	15	16	17	18
Kaliumaspartat g	363	514	423	355	540	530
Magnesiumaspartat g	532	355	450	537	332	373
gereinigtes Wasser g	35	44	42	36	43	32
Isopropanol g	17	21	20	17	20	16
Plasdone K-25 g	20	25	25	21	25	19
Methocel E5 g	15	19	19	16	19	14
Karion instant g	14	17	17	14	17	13
Magnesiumstearat g	4	4	4	4	4	3
Granulat g	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Granulatmischung Nr.	19	20	21	22	23	24
Kaliumaspartat g	336	328	490	377	432	407
Magnesiumaspartat g	546	528	347	497	470	441
gereinigtes Wasser g	39	48	54	42	33	50
Isopropanol g	19	23	26	20	16	24
Plasdone K-25 g	23	28	32	24	19	29
Methocel E5 g	17	21	24	18	15	22
Karion instant g	16	19	22	17	13	20
Magnesiumstearat g	4	5	5	4	3	5
Granulat g	1000	1000	1000	1000	1001	999

Granulatmischung Nr.	25	26	27	28	29	30
Kaliumaspartat g	451	308	443	391	466	474
Magnesiumaspartat g	450	534	428	511	405	374
ger. Wasser g	33	53	43	33	43	51
Isopropanol g	16	25	21	16	21	24
Plasdone K-25 g	19	31	25	19	25	29
Methocel E5 g	15	23	19	14	19	22
Karion instant g	13	21	17	13	17	20
Magnesiumstearat g	3	5	4	3	4	5
Granulat g	1000	1001	1000	1000	1000	1000

7.4 Thermogramme von Lactosen (DSC/TG)

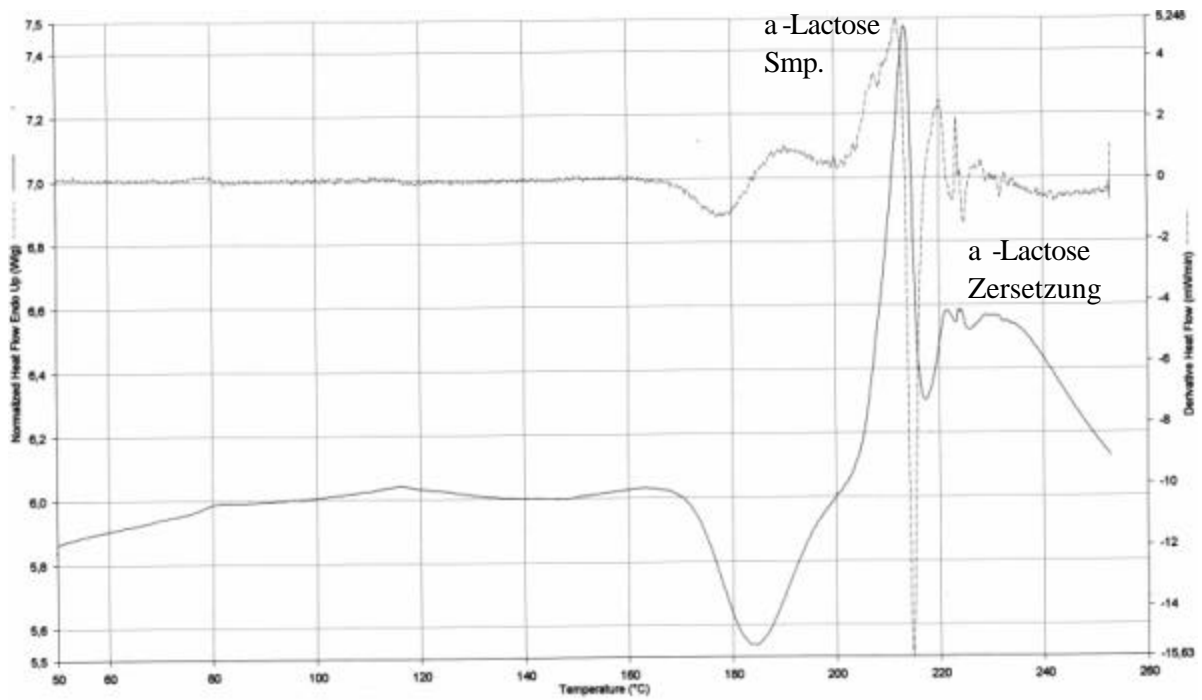


Abbildung 7.4.1 DSC Thermogramm von amorpher Lactose

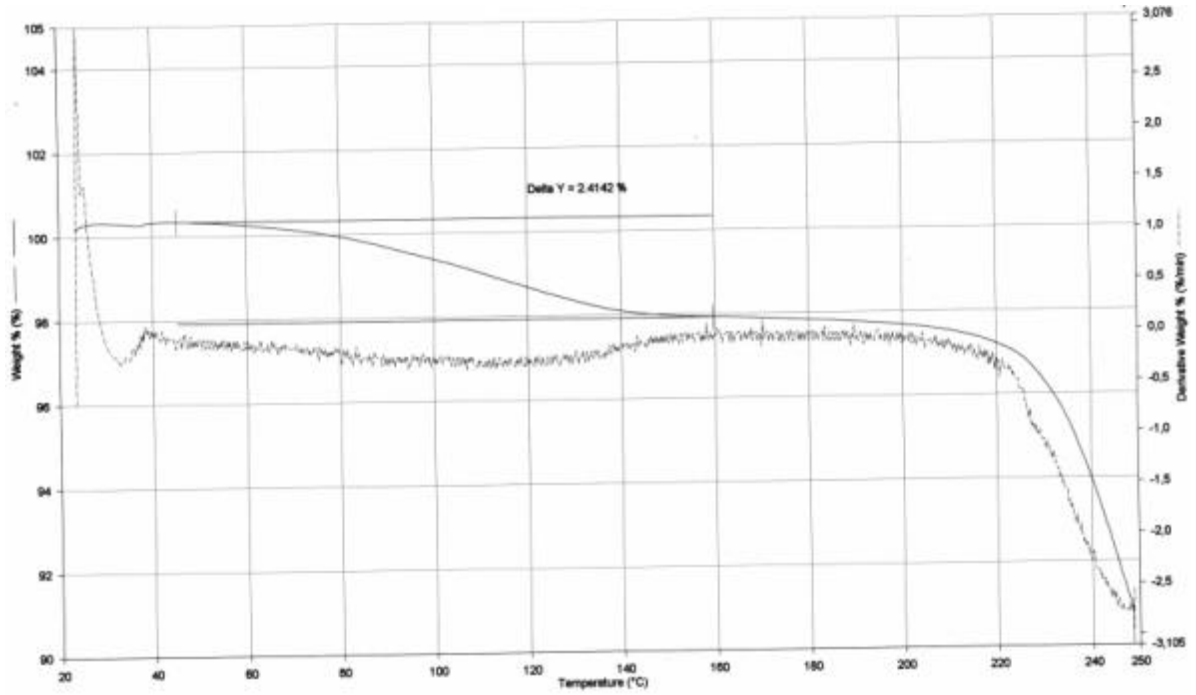


Abbildung 7.4.2 TG-Thermogramm von amorpher Lactose (2,41 % H₂O)

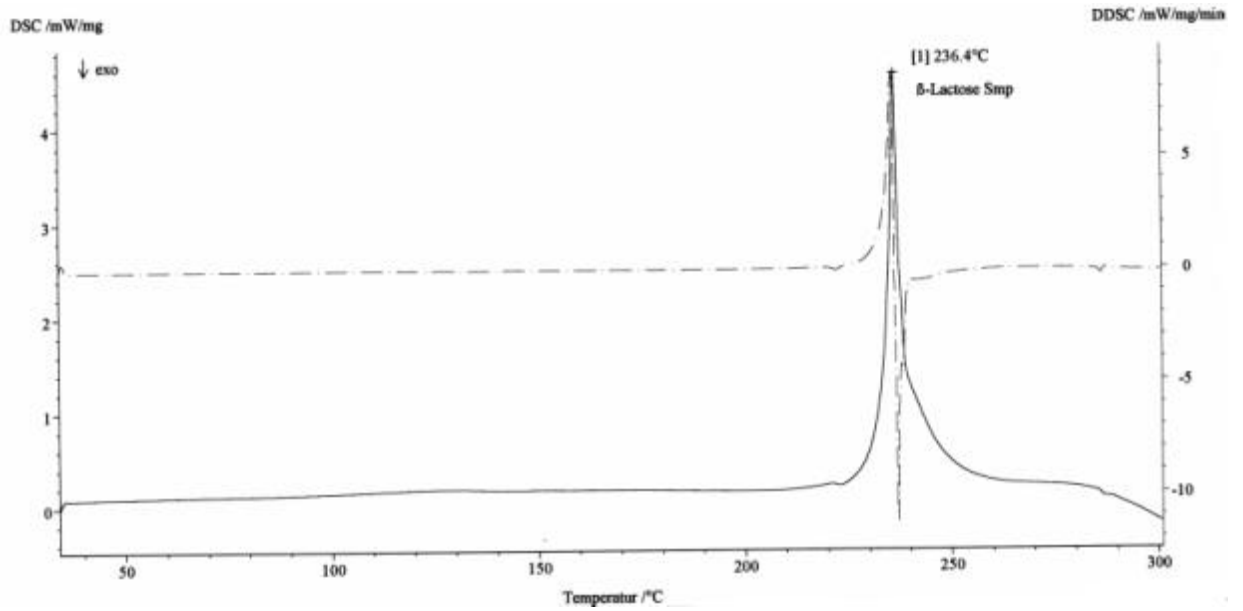


Abbildung 7.4.3 DSC-Thermogramm wasserfreier β -Lactose

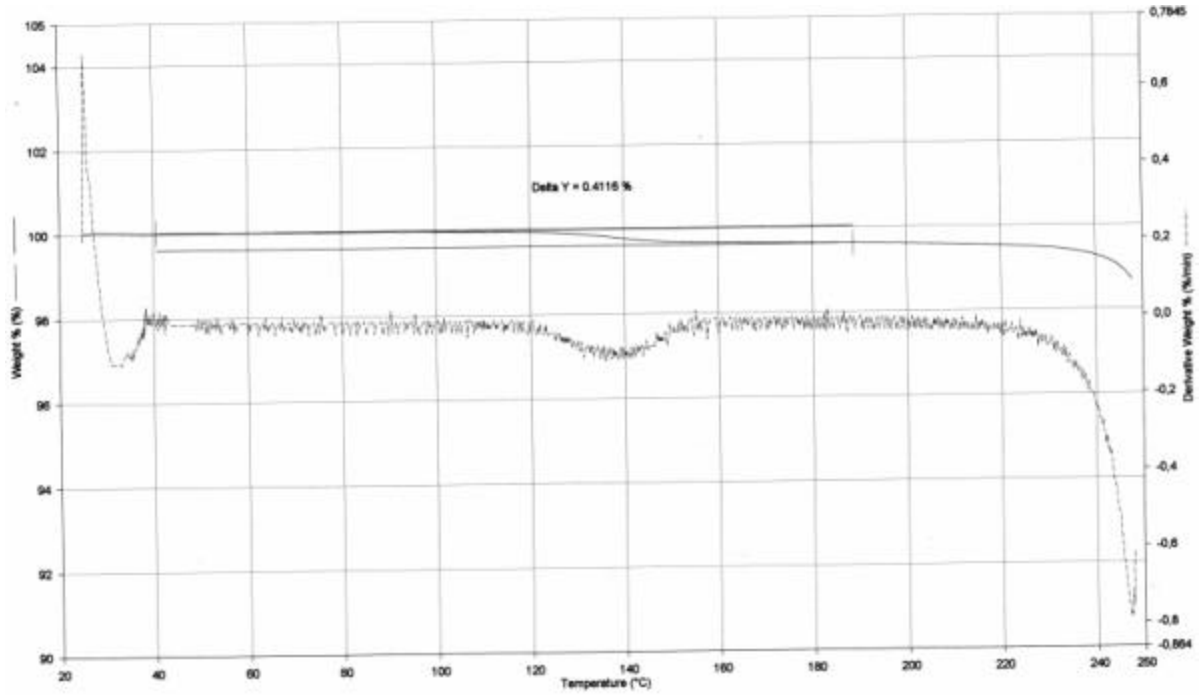


Abbildung 7.4.4 TG-Thermogramm wasserfreier β-Lactose (0,41 % H₂O)

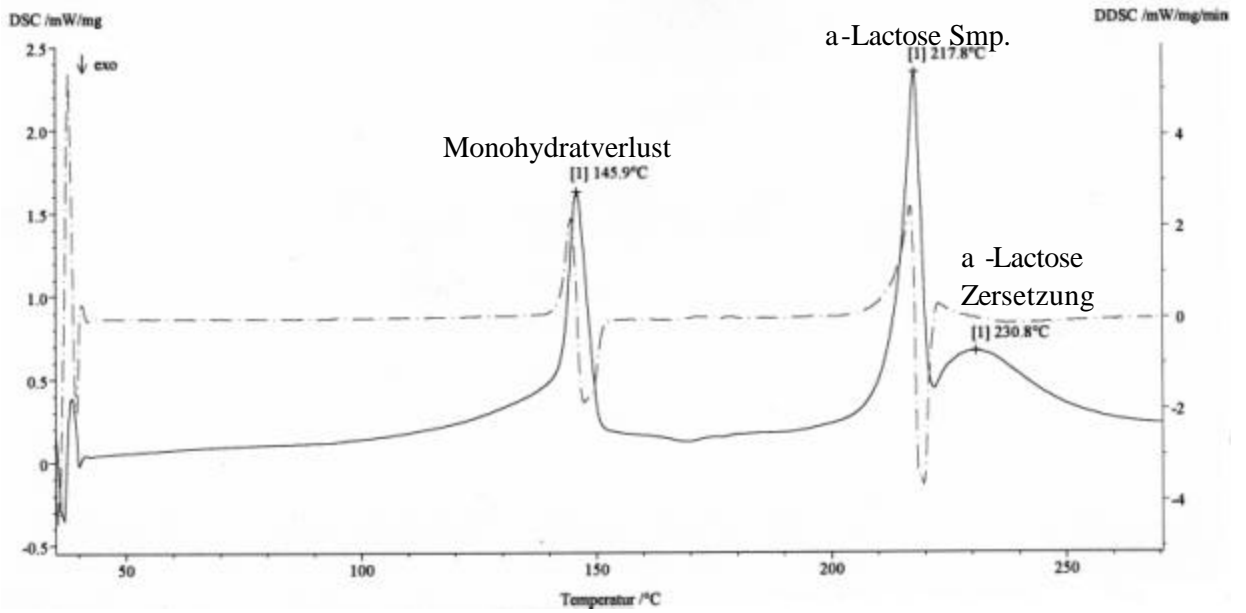


Abbildung 7.4.5 DSC-Thermogramm α-Lactose Monohydrat

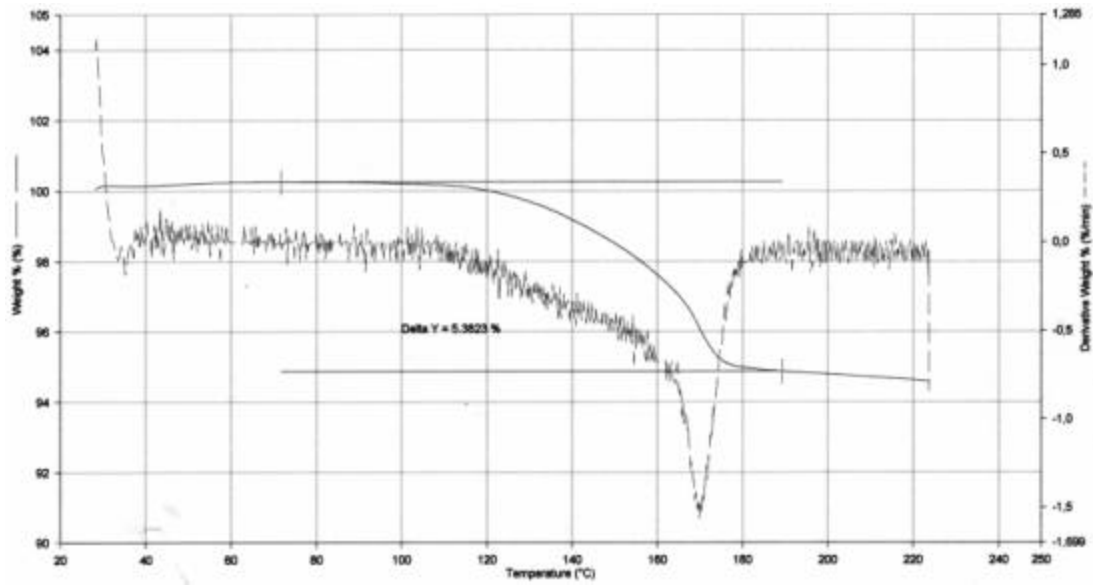


Abbildung 7.4.6 TG-Thermogramm a-Lactose Monohydrat (5,36 % H₂O)

7.5 Gesamtwasserbestimmung unbehandelter Lactosen (Karl-Fischer)

Lactose	Einwaage g	Messwert %	Wassergehalt %	Mittelwert %	SD g	rSD %
Capsulac 60	0.51	0.209	4.84	4.94	0.0643	13
	0.51	0.214	4.96			
	0.51	0.212	4.91			
	0.51	0.215	4.98			
	0.51	0.216	5.00			
Granulac 140	0.49	0.189	4.75	4.78	0.0395	08
	0.49	0.188	4.72			
	0.49	0.191	4.80			
	0.49	0.191	4.80			
	0.49	0.192	4.82			
Prismalac 40	0.5	0.193	4.76	4.81	0.0350	07
	0.5	0.196	4.83			
	0.5	0.195	4.81			
	0.5	0.197	4.86			
	0.5	0.195	4.81			
Granulac 230	0.5	0.195	4.83	4.84	0.0454	09
	0.5	0.198	4.90			
	0.5	0.193	4.79			
	0.5	0.194	4.81			
	0.5	0.196	4.86			
Granulac 200	0.49	0.184	4.62	4.77	0.1063	22
	0.49	0.187	4.70			
	0.49	0.194	4.87			
	0.49	0.191	4.80			
	0.49	0.194	4.87			
Tablettose 80	0.49	0.192	4.82	4.86	0.0650	13
	0.49	0.192	4.82			
	0.49	0.197	4.95			
	0.49	0.191	4.80			
	0.49	0.196	4.92			
Granulac 70	0.5	0.193	4.76	4.88	0.0727	15
	0.5	0.201	4.96			
	0.5	0.198	4.88			
	0.5	0.198	4.88			
	0.5	0.2	4.93			
Sachelac 80	0.51	0.195	4.72	4.79	0.1056	22
	0.51	0.195	4.72			
	0.51	0.193	4.67			
	0.51	0.203	4.92			
	0.51	0.202	4.89			
Spherolac 100	0.5	0.206	5.08	4.93	0.1390	28
	0.5	0.197	4.86			
	0.5	0.197	4.86			
	0.5	0.206	5.08			
	0.5	0.193	4.76			

7 Anhang

Lactose	Einwaage g	Messwert %	Wassergehalt %	Mittelwert %	SD g	rSD %
Flowlac 100	0.51	0.199	4.82	4.96	0.0941	19
	0.51	0.207	5.01			
	0.51	0.21	5.08			
	0.51	0.205	4.96			
	0.51	0.204	4.94			
Tablettose 70	0.5	0.196	4.83	4.89	0.1187	24
	0.5	0.194	4.78			
	0.5	0.197	4.86			
	0.5	0.198	4.88			
	0.5	0.207	5.10			
Sorbolac 400	0.5	0.199	4.91	4.83	0.0553	1.1
	0.5	0.194	4.78			
	0.5	0.194	4.78			
	0.5	0.195	4.81			
	0.5	0.198	4.88			
Pharmatose DLC 11	0.51	0.197	4.77	4.78	0.0687	14
	0.51	0.193	4.67			
	0.51	0.201	4.87			
	0.51	0.197	4.77			
	0.51	0.199	4.82			
Pharmatose 90	0.49	0.185	4.65	4.75	0.1035	22
	0.49	0.194	4.87			
	0.49	0.193	4.85			
	0.49	0.188	4.72			
	0.49	0.185	4.65			
Pharmatose 50	0.5	0.213	5.25	5.23	0.0746	14
	0.5	0.211	5.20			
	0.5	0.214	5.28			
	0.5	0.207	5.10			
	0.5	0.215	5.30			
Pharmatose 450	0.51	0.196	4.75	4.84	0.1048	22
	0.51	0.202	4.89			
	0.51	0.197	4.77			
	0.51	0.198	4.79			
	0.51	0.207	5.01			
Pharmatose 110	0.5	0.192	4.74	4.81	0.0611	13
	0.5	0.193	4.76			
	0.5	0.196	4.83			
	0.5	0.198	4.88			
	0.5	0.197	4.86			
Pharmatose 200	0.5	0.204	5.03	5.27	0.2128	40
	0.5	0.204	5.03			
	0.5	0.217	5.35			
	0.5	0.223	5.50			
	0.5	0.22	5.42			
Pharmatose 150	0.5	0.212	5.23	5.22	0.1382	26
	0.5	0.203	5.01			
	0.5	0.214	5.28			
	0.5	0.21	5.18			
	0.5	0.219	5.40			

7 Anhang

Lactose	Einwaage g	Messwert %	Wassergehalt %	Mittelwert %	SD g	rSD %
Pharmatose 125	0.5	0.188	4.64	4.66	0.0929	20
	0.5	0.189	4.66			
	0.5	0.189	4.66			
	0.5	0.195	4.81			
	0.5	0.184	4.54			
Pharmatose 100	0.49	0.202	5.07	5.01	0.0650	13
	0.49	0.2	5.02			
	0.49	0.201	5.05			
	0.49	0.195	4.90			
	0.49	0.199	5.00			
Pharmatose 325	0.49	0.193	4.85	4.85	0.0201	04
	0.49	0.192	4.82			
	0.49	0.193	4.85			
	0.49	0.194	4.87			
	0.49	0.194	4.87			
Pharmatose 80	0.5	0.196	4.83	5.02	0.2167	43
	0.5	0.2	4.93			
	0.5	0.196	4.83			
	0.5	0.217	5.35			
	0.5	0.209	5.15			
Pharmatose DLC 15	0.51	0.191	4.63	4.84	0.1823	38
	0.51	0.201	4.87			
	0.51	0.194	4.70			
	0.51	0.211	5.11			
	0.51	0.203	4.92			
Pharmatose 350	0.5	0.198	4.88	5.11	0.1410	28
	0.5	0.213	5.25			
	0.5	0.212	5.23			
	0.5	0.207	5.10			
	0.5	0.206	5.08			
Mittelwert						1,95

7.6 Gesamtwasserbestimmung konditionierter Lactosen (Karl-Fischer)

Probe	Einwaage g	Messwert %	Wassergehalt %	Mittelwert %	SD g	rSD %
Granulac 70_105 °C	0.5298	0.151	3.37	3.38	0.0966	29
	0.5298	0.152	3.39			
	0.5298	0.158	3.53			
	0.5298	0.147	3.28			
	0.5298	0.148	3.30			
Granulac 140_105 °C	0.5028	0.115	2.70	2.69	0.0257	10
	0.5028	0.115	2.70			
	0.5028	0.115	2.70			
	0.5028	0.113	2.65			
	0.5028	0.116	2.72			
Granulac 200_105 °C	0.5259	0.099	2.23	2.23	0.0624	28
	0.5259	0.097	2.18			
	0.5259	0.098	2.20			
	0.5259	0.098	2.20			
	0.5259	0.104	2.34			
Granulac 230_105 °C	0.5062	0.068	1.59	1.62	0.0818	50
	0.5062	0.065	1.52			
	0.5062	0.072	1.68			
	0.5062	0.069	1.61			
	0.5062	0.074	1.73			
Sorbolac 400_105 °C	0.4998	0.038	0.90	0.92	0.0400	43
	0.4998	0.04	0.90			
	0.4998	0.039	0.92			
	0.4998	0.038	0.90			
	0.4998	0.042	0.99			
Primalac 40_105 °C	0.5057	0.175	4.09	4.01	0.0562	14
	0.5057	0.169	3.95			
	0.5057	0.173	4.04			
	0.5057	0.17	3.97			
	0.5057	0.171	3.99			
Spherolac 100_105 °C	0.5025	0.168	3.95	3.98	0.0697	18
	0.5025	0.166	3.90			
	0.5025	0.17	3.99			
	0.5025	0.169	3.97			
	0.5025	0.174	4.09			
Sachelac 80_105 °C	0.5069	0.169	3.94	3.99	0.0556	14
	0.5069	0.172	4.01			
	0.5069	0.17	3.96			
	0.5069	0.17	3.96			
	0.5069	0.175	4.08			
Flowlac 100_105 °C	0.5093	0.114	2.64	2.61	0.0311	12
	0.5093	0.112	2.60			
	0.5093	0.114	2.64			
	0.5093	0.111	2.57			
	0.5093	0.112	2.60			

7 Anhang

Probe	Einwaage g	Messwert %	Wassergehalt %	Mittelwert %	SDg	rSD %
Tabletose 70_105 °C	0.5058	0.116	2.71	2.75	0.0727	26
	0.5058	0.117	2.73			
	0.5058	0.115	2.68			
	0.5058	0.123	2.87			
	0.5058	0.118	2.75			
Tabletose 80_105 °C	0.5074	0.107	2.49	2.57	0.0560	22
	0.5074	0.112	2.61			
	0.5074	0.113	2.63			
	0.5074	0.109	2.54			
	0.5074	0.111	2.58			
Capsulac 60_105 °C	0.5088	0.169	3.92	3.95	0.0554	14
	0.5088	0.167	3.88			
	0.5088	0.172	3.99			
	0.5088	0.173	4.02			
	0.5088	0.17	3.95			
Granulac 70_44 % RH	0.5136	0.193	4.44	4.60	0.0995	22
	0.5136	0.203	4.67			
	0.5136	0.201	4.62			
	0.5136	0.2	4.60			
	0.5136	0.204	4.69			
Granulac 140_44 % RH	0.5198	0.207	4.71	4.68	0.0804	17
	0.5198	0.201	4.57			
	0.5198	0.204	4.64			
	0.5198	0.208	4.73			
	0.5198	0.21	4.78			
Granulac 200_44 % RH	0.5123	0.193	4.45	4.58	0.0986	22
	0.5123	0.204	4.70			
	0.5123	0.196	4.52			
	0.5123	0.199	4.59			
	0.5123	0.201	4.63			
Granulac 230_44 % RH	0.4971	0.196	4.65	4.60	0.0605	13
	0.4971	0.191	4.53			
	0.4971	0.192	4.56			
	0.4971	0.194	4.60			
	0.4971	0.197	4.68			
Sorbolac 400_44 % RH	0.5299	0.199	4.44	4.58	0.0978	21
	0.5299	0.207	4.62			
	0.5299	0.204	4.55			
	0.5299	0.205	4.58			
	0.5299	0.211	4.71			
Capsulac 60_44 % RH	0.4924	0.183	4.38	4.54	0.1079	24
	0.4924	0.192	4.60			
	0.4924	0.187	4.48			
	0.4924	0.194	4.65			
	0.4924	0.192	4.60			

7 Anhang

Probe	Einwaage g	Messwert %	Wassergehalt %	Mittelwert %	SD g	rSD %
Sachelac 80_44 % RH	0.5059	0.193	4.50	4.57	0.0449	10
	0.5059	0.196	4.57			
	0.5059	0.198	4.62			
	0.5059	0.195	4.55			
Prismalac40_75 % RH	0.5059	0.197	4.60	4.55	0.0804	18
	0.5086	0.191	4.43			
	0.5086	0.197	4.57			
	0.5086	0.194	4.50			
	0.5086	0.199	4.62			
Capsulac 60_75 % RH	0.4949	0.195	4.65	4.63	0.0727	16
	0.4949	0.19	4.53			
	0.4949	0.193	4.60			
	0.4949	0.196	4.67			
	0.4949	0.198	4.72			
Sachelac 80_75 % RH	0.52	0.203	4.61	4.66	0.0996	21
	0.52	0.209	4.75			
	0.52	0.198	4.50			
	0.52	0.207	4.71			
	0.52	0.207	4.71			
Spherolac 100_75 % RH	0.5004	0.19	4.48	4.50	0.1000	22
	0.5004	0.185	4.36			
	0.5004	0.194	4.57			
	0.5004	0.19	4.48			
	0.5004	0.196	4.62			
Tabletose 80_75 % RH	0.527	0.199	4.47	4.56	0.0965	21
	0.527	0.207	4.65			
	0.527	0.208	4.67			
	0.527	0.199	4.47			
	0.527	0.202	4.53			
Flowlac 100_75 % RH	0.5208	0.2296	5.21	5.33	0.1691	32
	0.5208	0.247	5.61			
	0.5208	0.232	5.27			
	0.5208	0.229	5.20			
	0.5208	0.237	5.38			
Granulac 70_85 % RH	0.5053	0.222	5.19	5.09	0.0756	15
	0.51	0.22	5.09			
	0.51	0.221	5.12			
	0.51	0.215	4.98			
	0.51	0.219	5.07			
Granulac 140_85 % RH	0.5034	0.209	4.90	4.97	0.0508	10
	0.5034	0.212	4.97			
	0.5034	0.211	4.95			
	0.5034	0.215	5.04			
	0.5034	0.212	4.97			

7 Anhang

Probe	Einwaage g	Messwert %	Wassergehalt %	Mittelwert %	SDg	rSD %
Granulac 200_85 % RH	0.5023	0.206	4.84	4.86	0.0732	15
	0.5023	0.21	4.93			
	0.5023	0.21	4.93			
	0.5023	0.205	4.82			
Granulac 230_85 % RH	0.5023	0.203	4.77	4.86	0.0758	16
	0.5048	0.21	4.91			
	0.5048	0.205	4.79			
	0.5048	0.211	4.93			
	0.5048	0.204	4.77			
	0.5048	0.21	4.91			
Sorbolac 400_85 % RH	0.5054	0.209	4.88	4.92	0.0354	0.7
	0.5054	0.211	4.93			
	0.5054	0.212	4.95			
	0.5054	0.212	4.95			
	0.5054	0.209	4.88			
Granulac 70_97 % RH	0.5046	0.254	5.94	6.02	0.0973	16
	0.5046	0.253	5.92			
	0.5046	0.26	6.08			
	0.5046	0.257	6.01			
	0.5046	0.263	6.15			
Granulac 140_97 % RH	0.498	0.242	5.73	5.90	0.1744	30
	0.498	0.241	5.71			
	0.498	0.257	6.09			
	0.498	0.251	5.95			
	0.498	0.255	6.04			
Granulac 200_97 % RH	0.5005	0.231	5.45	5.49	0.1111	20
	0.5005	0.233	5.49			
	0.5005	0.227	5.35			
	0.5005	0.233	5.49			
	0.5005	0.24	5.66			
Granulac 230_97 % RH	0.4953	0.226	5.38	5.39	0.0130	0.2
	0.4953	0.227	5.41			
	0.4953	0.226	5.38			
	0.4953	0.226	5.38			
	0.4953	0.227	5.41			
Sorbolac 400_97 % RH	0.4998	0.251	5.93	5.84	0.1185	20
	0.4998	0.246	5.81			
	0.4998	0.251	5.93			
	0.4998	0.249	5.88			
	0.4998	0.239	5.64			
Capsulac 60_97 % RH	0.5097	0.249	5.77	5.60	0.1365	24
	0.5097	0.235	5.44			
	0.5097	0.242	5.61			
	0.5097	0.246	5.70			
	0.5097	0.237	5.49			

7 Anhang

Probe	Einwaage g	Messwert %	Wassergehalt %	Mittelwert %	SDg	rSD %
Primalac 40_97 % RH	0.5065	0.229	5.34	5.40	0.1123	21
	0.5065	0.227	5.29			
	0.5065	0.237	5.52			
	0.5065	0.237	5.52			
Spherolac 100_97 % RH	0.5065	0.229	5.34	5.37	0.1403	26
	0.4991	0.221	5.22			
	0.4991	0.222	5.25			
	0.4991	0.231	5.46			
	0.4991	0.235	5.56			
Sachelac 80_97 % RH	0.5034	0.222	5.21	5.33	0.1440	27
	0.5034	0.22	5.16			
	0.5034	0.235	5.51			
	0.5034	0.229	5.37			
	0.5034	0.23	5.39			
Flowlac 100_97 % RH	0.5052	0.226	5.28	5.46	0.1103	20
	0.5052	0.237	5.54			
	0.5052	0.234	5.47			
	0.5052	0.233	5.44			
	0.5052	0.238	5.56			
Tabletose 70_97 % RH	0.507	0.234	5.45	5.44	0.0765	14
	0.507	0.229	5.33			
	0.507	0.234	5.45			
	0.507	0.232	5.40			
	0.507	0.238	5.54			
Tabletose 80_97 % RH	0.5046	0.233	5.45	5.47	0.0539	10
	0.5046	0.235	5.50			
	0.5046	0.2314	5.41			
	0.5046	0.237	5.54			
	0.5046	0.232	5.43			
Granulac 70_100 % RH	0.5131	0.331	7.62	7.69	0.1068	14
	0.5131	0.331	7.62			
	0.5131	0.332	7.64			
	0.5131	0.342	7.87			
	0.5131	0.334	7.69			
Granulac 140_100 % RH	0.5018	0.305	7.16	7.09	0.1114	16
	0.5018	0.296	6.95			
	0.5018	0.304	7.14			
	0.5018	0.298	7.00			
	0.5018	0.307	7.21			
Granulac 200_100 % RH	0.5184	0.324	7.40	7.25	0.1873	26
	0.5184	0.313	7.15			
	0.5184	0.306	6.99			
	0.5184	0.319	7.28			
	0.5184	0.326	7.44			

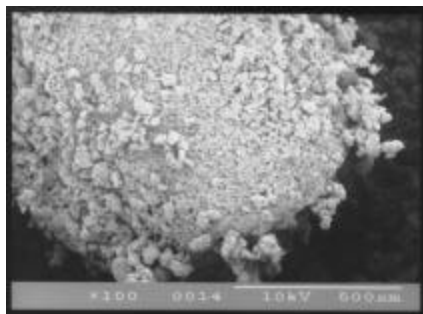
7 Anhang

Probe	Einwaage g	Messwert %	Wassergehalt %	Mittelwert %	SD g	rSD %
Granulac 230_100 % RH	0.5176	0.384	8.78	8.67	0.1882	22
	0.5176	0.369	8.44			
	0.5176	0.39	8.92			
	0.5176	0.374	8.55			
Sorbolac 400_100 % RH	0.5176	0.379	8.67	8.81	0.1592	18
	0.5036	0.369	8.63			
	0.5036	0.37	8.66			
	0.5036	0.378	8.84			
	0.5036	0.383	8.96			
Capsulac 60_100 % RH	0.5082	0.319	7.41	7.55	0.2032	27
	0.5082	0.319	7.41			
	0.5082	0.336	7.81			
	0.5082	0.333	7.74			
	0.5082	0.318	7.39			
Prismalac 40_100 % RH	0.5055	0.354	8.28	8.28	0.1338	16
	0.5055	0.355	8.30			
	0.5055	0.354	8.28			
	0.5055	0.361	8.45			
	0.5055	0.345	8.07			
Spherolac 100_100 % RH	0.5029	0.321	7.56	7.74	0.1539	20
	0.5029	0.332	7.82			
	0.5029	0.325	7.65			
	0.5029	0.338	7.96			
	0.5029	0.328	7.72			
Sachelac 80_100 % RH	0.5137	0.367	8.48	8.28	0.1401	17
	0.5137	0.358	8.27			
	0.5137	0.351	8.11			
	0.5137	0.361	8.34			
	0.5137	0.355	8.20			
Flowlac 100_100 % RH	0.5116	0.354	8.17	8.11	0.1195	15
	0.5116	0.35	8.08			
	0.5116	0.351	8.10			
	0.5116	0.344	7.94			
	0.5116	0.358	8.27			
Tabletose 70_100 % RH	0.5156	0.342	7.83	7.74	0.1448	19
	0.5156	0.336	7.69			
	0.5156	0.344	7.88			
	0.5156	0.328	7.51			
	0.5156	0.34	7.78			
Tabletose 80_100 % RH	0.5076	0.361	8.38	8.12	0.2074	26
	0.5076	0.34	7.90			
	0.5076	0.345	8.01			
	0.5076	0.357	8.29			
	0.5076	0.345	8.01			
Mittelwert					0.0994	20

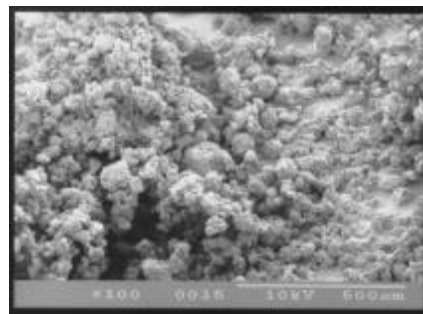
7.7 Trocknungsverlust Testchargen Mikrokristalliner Cellulosen Kapitel 4.3.3

Testchargennr.	Probe	IR-Waage %	NIR %
1	Avicel 101 FMC_KL1	5.46	5.52
2	Avicel 101 FMC_MR1	4.97	4.82
3	Avicel 101 FMC_MR2	4.58	4.77
4	Avicel 101 FMC_MR3	4.52	5.03
5	Avicel 101 FMC_MR4	4.58	4.81
6	Avicel 101 FMC_MR5	4.36	4.44
7	Avicel 101 FMC_ST1	4.58	4.68
8	Avicel 102 FMC_HE1	5.18	4.29
9	Avicel 102 FMC_KL1	4.98	4.77
10	Avicel 102 FMC_MR1	4.63	5.03
11	Avicel 102 FMC_MR2	4.76	5.00
12	Avicel 102 FMC_MR3	4.70	4.98
13	Avicel 102 FMC_MR4	4.83	5.12
14	Avicel 102 FMC_MR5	4.85	4.80
15	Avicel 102 FMC_ST1	4.63	4.43
16	Avicel 200 FMC_KL1	4.78	4.57
17	Avicel 200 FMC_ST1	4.42	4.50
18	Emcocel 50 M Penwest 2	4.60	4.26
19	Emcocel 50 M Penwest 3	4.96	4.69
20	Emcocel 90 M Penwest 2	4.61	4.45
21	Emcocel 90 M Penwest 3	4.80	4.70
22	Emcocel LP200 Penwest 2	4.61	4.73
23	Emcocel LP200 Penwest 3	4.32	3.70
24	MCC Sanaq 101_HE1	4.79	3.89
25	MCC Sanaq 102_AP2	4.64	4.72
26	MCC Typ 102_PZ1	4.78	4.19
27	Vivapur 101 JR2	4.98	5.15
28	Vivapur 101 JR_LO1	5.30	5.25
29	Vivapur 102 JR2	4.98	4.91
30	Vivapur 102 JR_LO1	4.95	4.87

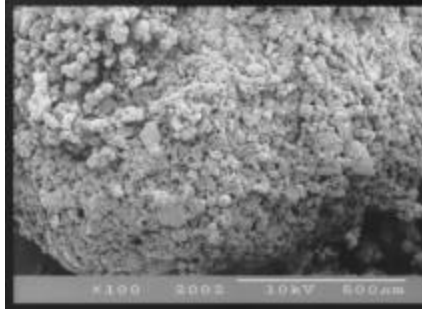
7.8 REM-Bilder ausgewählter Granulatchargen



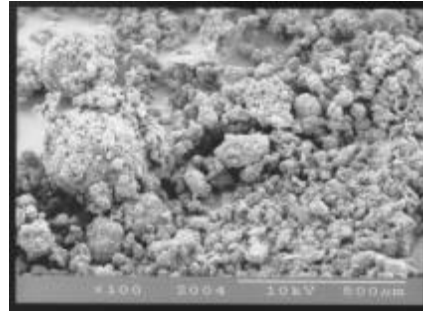
Granulat M2 9 % Hilfsstoffanteil



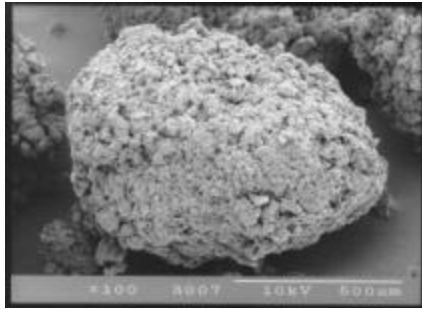
Granulat M2 9 % Hilfsstoffanteil



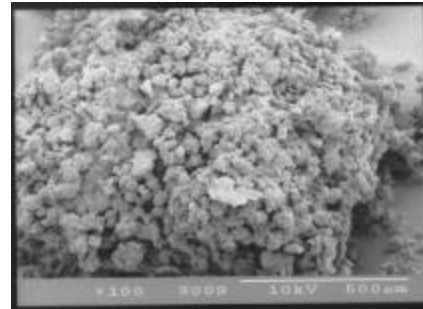
Granulat M5 10 % Hilfsstoffanteil



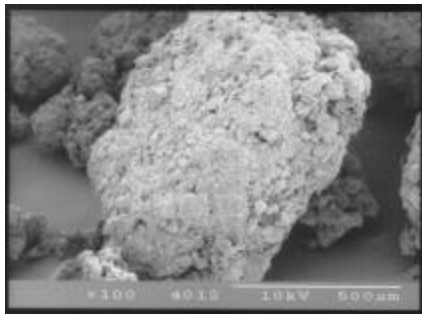
Granulat M5 10 % Hilfsstoffanteil



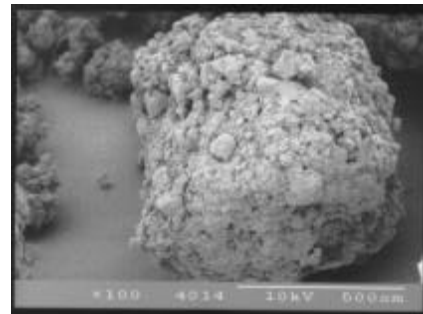
Granulat M8 13 % Hilfsstoffanteil



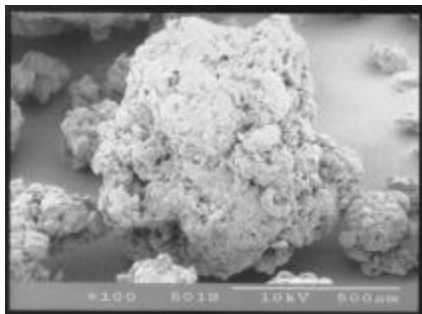
Granulat M8 13 % Hilfsstoffanteil



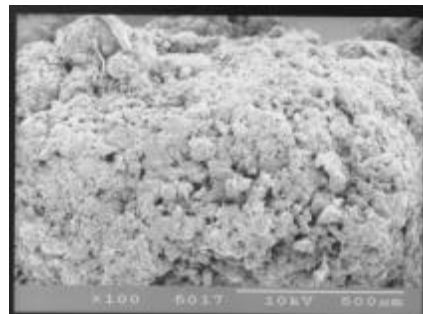
Granulat M11 16 % Hilfsstoffanteil



Granulat M11 16 % Hilfsstoffanteil



Granulat M10 17 % Hilfsstoffanteil



Granulat M10 17 % Hilfsstoffanteil

7.9 Partikelgrößenverteilung ausgewählter Granulatchargen

Chargenbezeichnung	Partikelgröße μm		
	X10	X50	X90
M2_03	50.21	103.97	593.73
M2_04	51.2	112.32	669.05
M2_05	50.28	106.63	642.35
Mittelwert M2	50.56	107.64	635.04
M5_01	55.57	125.79	714.31
M5_03	53.63	120.13	762.55
M5_04	53.68	113.96	683.78
Mittelwert M5	54.29	119.96	720.21
M8_01	68.78	142.76	691.1
M8_02	69.89	148.59	715.02
M8_03	68.68	139.47	572.72
Mittelwert M8	69.12	143.61	659.61
M11_01	95.23	204.11	743.16
M11_06	96.83	204.49	785.25
M11_11	101.73	224.24	857.54
Mittelwert M11	97.93	210.95	795.32
M10_03	135.28	313.22	995.27
M10_04	133.16	308.75	1075.76
M10_05	137.44	312.39	1006.81
Mittelwert M10	135.29	311.45	1025.95
OrgT_02	67.7	231.26	747.02
OrgT_03	65.96	229.93	734.32
OrgT_05	67.6	236.1	757.24
Mittelwert Org T	67.09	232.43	746.19
Org1_02	84.37	203.23	853.78
Org1_04	84.54	207.03	840.21
Org1_06	87.06	221.38	843.9
Mittelwert Org 1	85.32	210.55	845.96
Org2_01	93.41	199.68	764.36
Org2_02	92.79	202.12	792.57
Org2_04	94.42	218.54	849.46
Mittelwert Org 2	93.54	206.78	802.13

7.10 Restfeuchte der Granulate

Granulatcharge	Restfeuchte %
Granulat M1_0min	7.94
Granulat M1_fertig	3.63
Granulat M2_0min	6.34
Granulat M2_fertig	3.20
Granulat M3_0min	8.64
Granulat M3_fertig	2.86
Granulat M4_0min	9.44
Granulat M4_fertig	4.18
Granulat M5_0min	5.37
Granulat M5_fertig	3.01
Granulat M6_0min	7.90
Granulat M6_fertig	2.85
Granulat M7_0min	8.54
Granulat M7_fertig	3.05
Granulat M8_0min	7.88
Granulat M8_fertig	3.36
Granulat M9_0min	8.44
Granulat M9_fertig	3.60
Granulat M10_0min	8.07
Granulat M10_fertig	3.84
Granulat M11_0min	7.91
Granulat M11_fertig	3.26
Granulat M12_0min	6.64
Granulat M12_fertig	2.17
Granulat M13_0min	3.15
Granulat M13_fertig	3.02
Granulat M14_0min	7.24
Granulat M14_fertig	2.57
Granulat M15_0min	7.08
Granulat M15_fertig	3.61
Granulat M16_0min	6.73
Granulat M16_fertig	2.93

Granulatcharge	Restfeuchte %
Granulat M17_0min	6.86
Granulat M17_fertig	3.11
Granulat M18_0min	6.95
Granulat M18_fertig	2.41
Granulat M19_0min	5.98
Granulat M19_fertig	2.84
Granulat M20_0min	7.45
Granulat M20_fertig	3.63
Granulat M21_0min	7.52
Granulat M21_fertig	4.48
Granulat M22_0min	7.02
Granulat M22_fertig	3.69
Granulat M23_0min	7.78
Granulat M23_fertig	2.51
Granulat M24_0min	7.84
Granulat M24_fertig	3.52
Granulat M25_0min	7.68
Granulat M25_fertig	2.92
Granulat M26_0min	8.29
Granulat M26_fertig	3.83
Granulat M27_0min	7.45
Granulat M27_fertig	2.54
Granulat M28_0min	6.36
Granulat M28_fertig	2.03
Granulat M29_0min	7.84
Granulat M29_fertig	2.47
Granulat M30_0min	8.68
Granulat M30_fertig	2.31
Granorg1_0min	7.40
Granorg1_fertig	2.38
Granorg2_0min	7.48
Granorg2_fertig	3.93

7.11 Gleichförmigkeit der Masse und Höhe der Kalibrierchargen

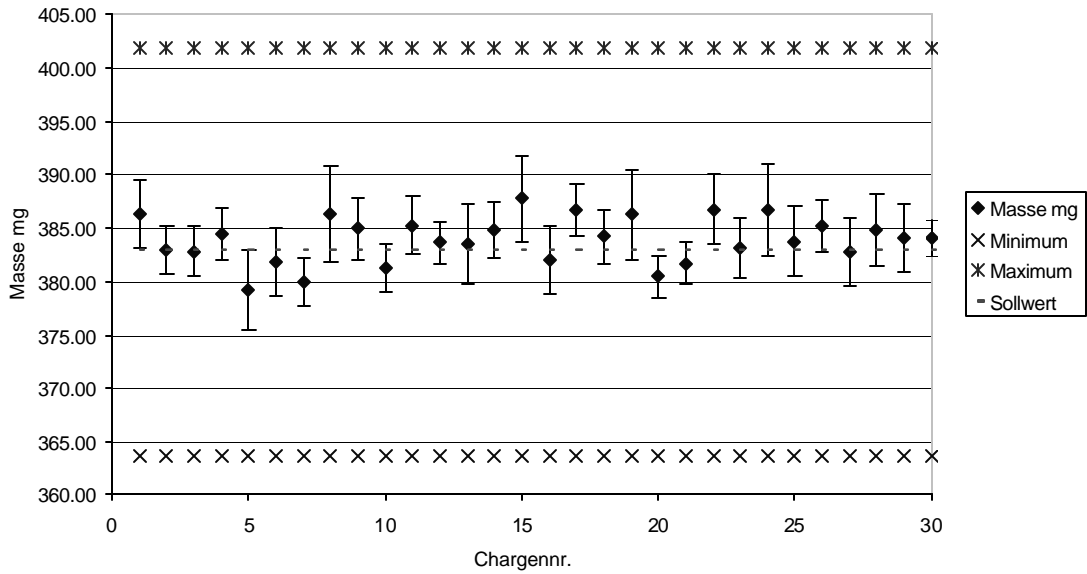


Abbildung 7.11.1 Masse der Tromcardin Kerne

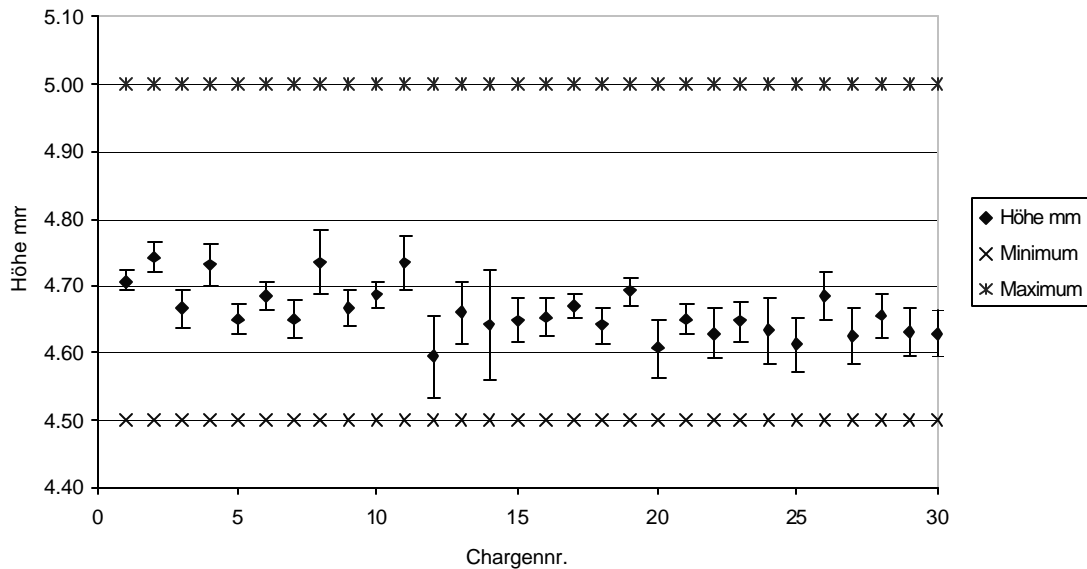


Abbildung 7.11.2 Höhe der Tromcardin Kerne

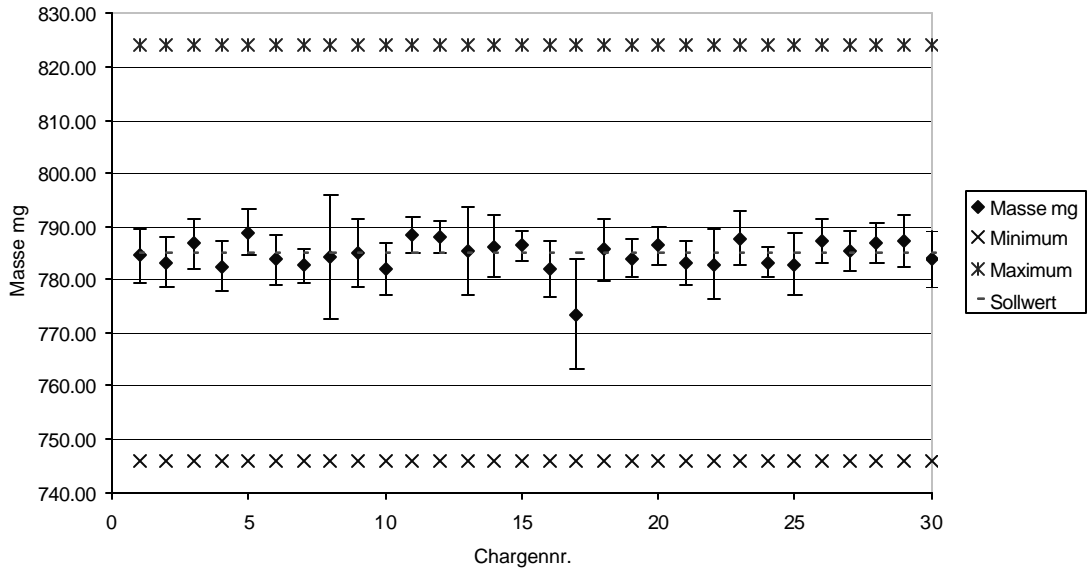


Abbildung 7.11.3 Masse der Tromcardin forte Kerne

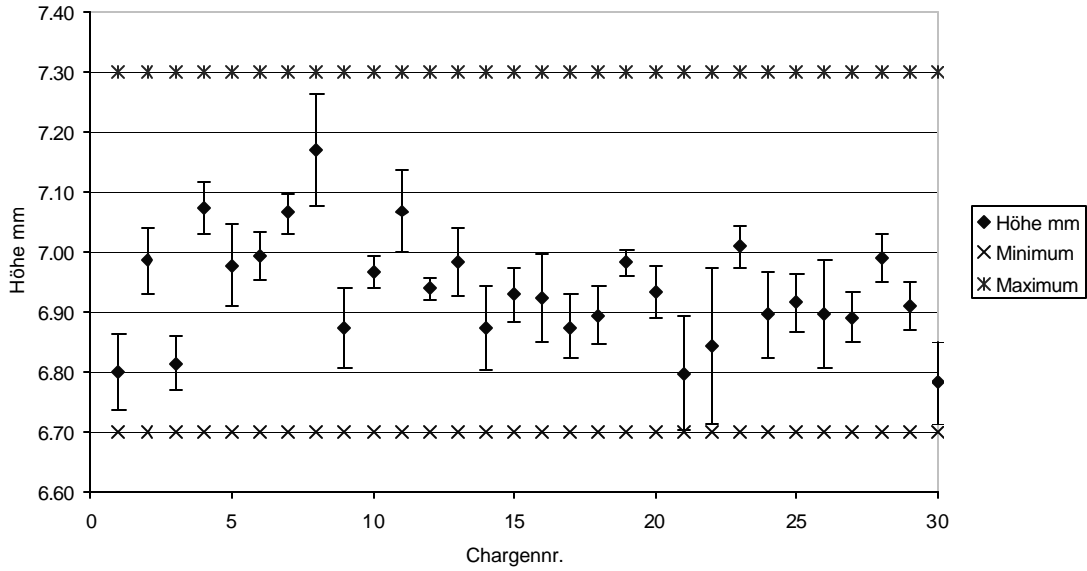


Abbildung 7.11.4 Höhe der Tromcardin forte Kerne

7.12 Nachhärtung der Tablettenkerne

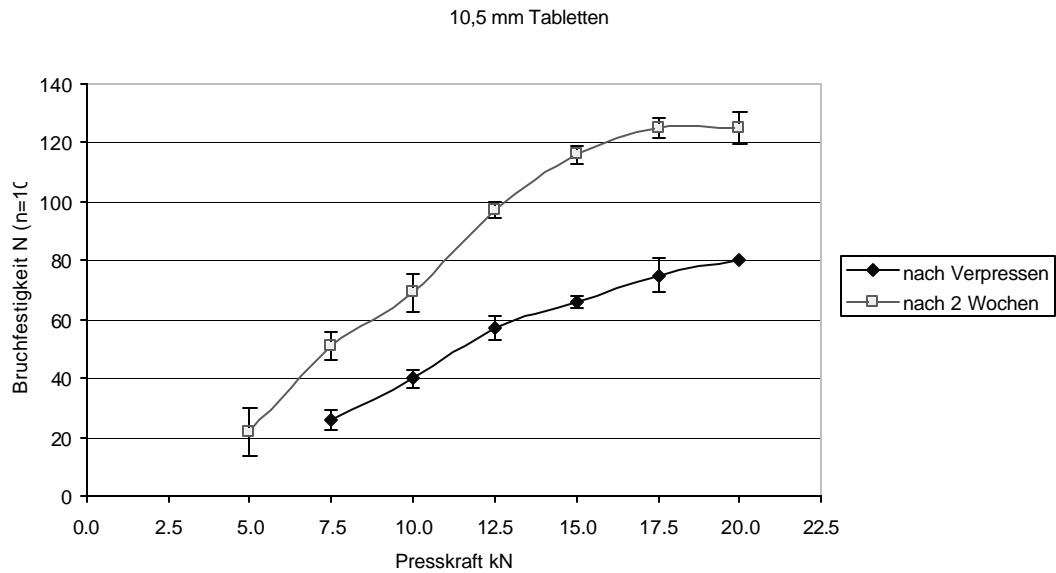
Probe 10,5 mm 10 kN	Bruchfestigkeit N								
	0 min	3h	6 h	24 h	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage
1	34	46	45	58	65	74	82	82	82
2	40	49	52	52	65	72	74	78	84
3	40	40	54	55	69	71	83	82	78
4	40	48	45	52	66	71	77	72	80
5	44	47	45	60	67	74	79	74	75
6	40	50	46	60	69	70	70	83	84
7	44	42	48	55	68	72	84	76	76
8	36	44	52	56	57	71	81	78	86
9	41	50	50	51	66	68	81	82	82
10	43	42	47	59	68	70	83	84	78
Mittelwert N	40.2	45.8	48.4	55.8	66	71.3	79.4	79.1	80.5
SD N	3.22	3.61	3.37	3.39	3.50	1.83	4.50	4.12	3.69
rSD %	8.02	7.89	6.97	6.08	5.30	2.56	5.67	5.21	4.58

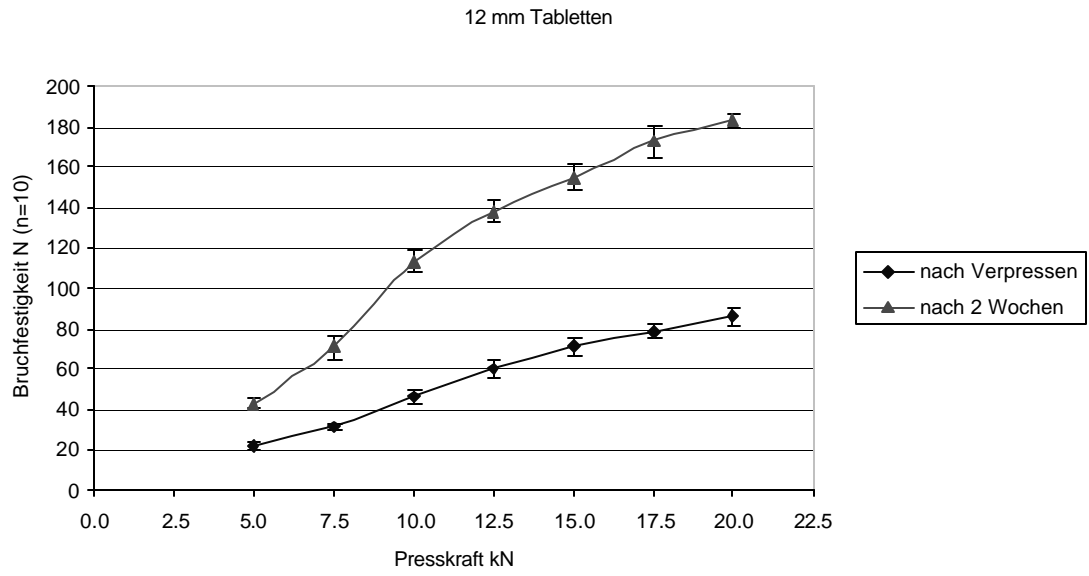
Probe 10,5 mm 10 kN	Bruchfestigkeit N						
	7 Tage	1 Woche	2 Wochen	3 Wochen	4 Wochen	5 Wochen	8 Wochen
1	75	79	73	86	80	82	87
2	77	86	80	82	74	76	71
3	86	78	82	76	85	83	80
4	82	70	78	80	72	80	86
5	90	84	84	86	90	74	82
6	70	88	82	90	78	85	81
7	76	86	76	78	85	90	83
8	86	90	86	82	76	81	85
9	84	72	80	80	82	76	79
10	88	82	78	88	78	78	75
Mittelwert N	81.4	81.5	79.9	82.8	80	80.5	80.9
SD N	6.55	6.69	3.84	4.54	5.56	4.81	4.98
rSD %	8.05	8.21	4.81	5.48	6.95	5.98	6.15

Probe 12 mm 15 kN	Bruchfestigkeit N								
	0 min	3 h	6 h	24 h	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen	6 Tage
1	71	80	94	94	105	104	114	130	132
2	71	80	86	95	108	108	119	136	132
3	80	78	88	93	108	113	126	131	138
4	76	80	84	92	112	110	122	134	136
5	84	90	90	98	97	114	130	130	138
6	74	84	88	96	101	105	120	119	130
7	82	95	87	100	109	111	124	130	131
8	76	80	88	100	102	109	126	129	134
9	75	78	93	95	104	111	126	130	126
10	79	81	86	96	103	114	117	132	136
Mittelwert N	76.80	82.60	88.40	95.90	104.90	109.90	122.40	130.10	133.30
SD N	4.17	5.31	2.97	2.59	4.21	3.30	4.65	4.23	3.63
rSD %	5.43	6.43	3.36	2.70	4.01	3.00	3.80	3.25	2.73

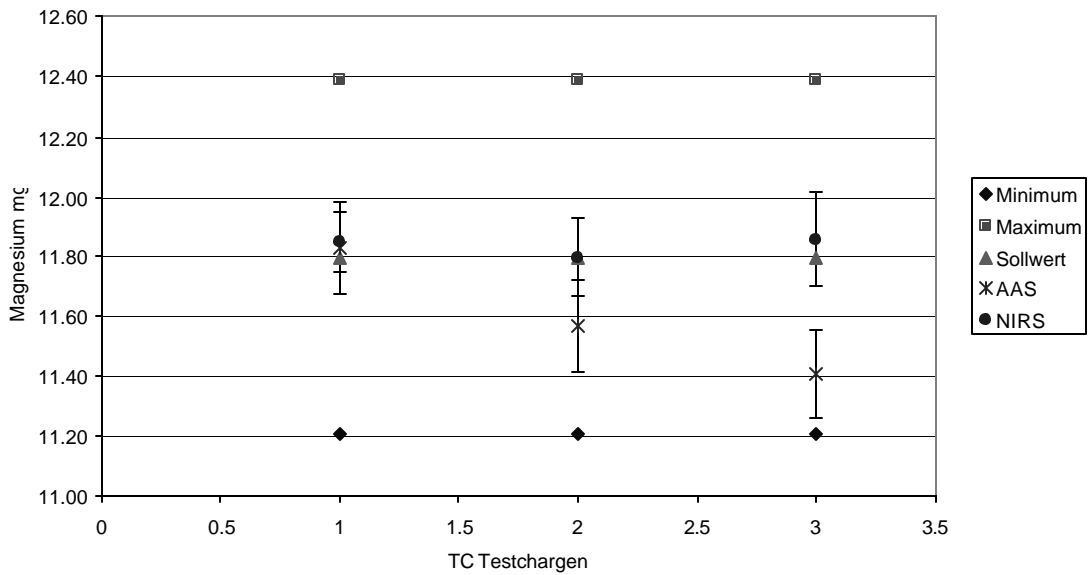
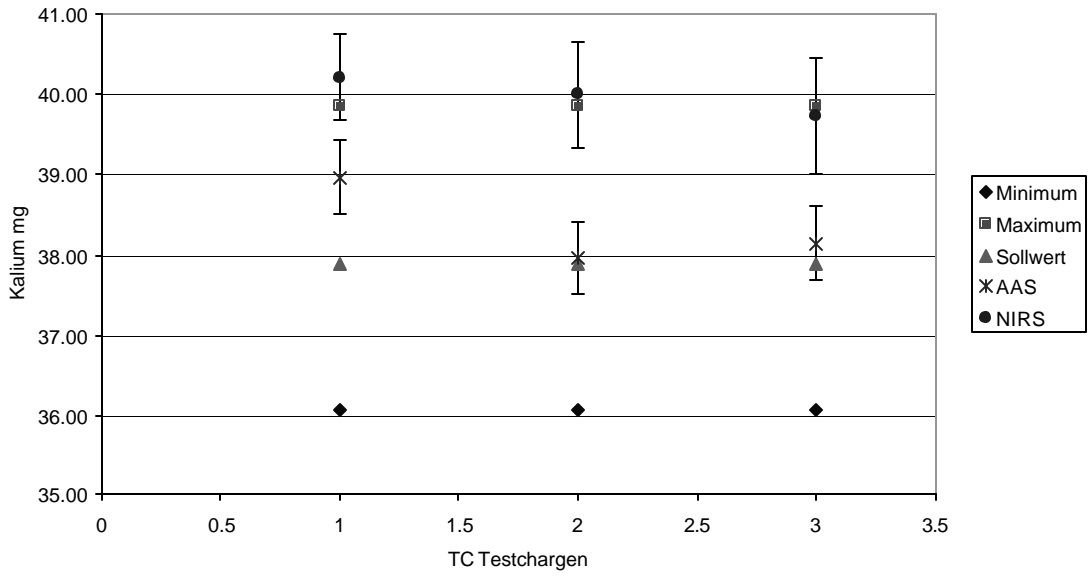
Probe 12 mm 15 kN	Bruchfestigkeit N						
	7 Tage	1 Woche	2 Wochen	3 Wochen	4 Wochen	5 Wochen	8 Wochen
1	128	143	140	138	144	146	133
2	138	139	138	132	146	150	156
3	140	139	142	141	140	132	142
4	134	140	133	146	138	142	144
5	127	146	136	137	135	140	146
6	132	144	148	142	141	135	130
7	139	147	135	136	148	138	137
8	142	137	141	140	135	144	144
9	140	133	144	134	139	146	145
10	127	140	140	144	132	134	140
Mittelwert N	134.70	140.80	139.70	139.00	139.80	140.70	141.70
SD N	5.57	4.04	4.22	4.20	4.85	5.62	6.94
rSD %	4.13	2.87	3.02	3.02	3.47	4.00	4.90

7.13 Presskraft-Bruchfestigkeitsprofile

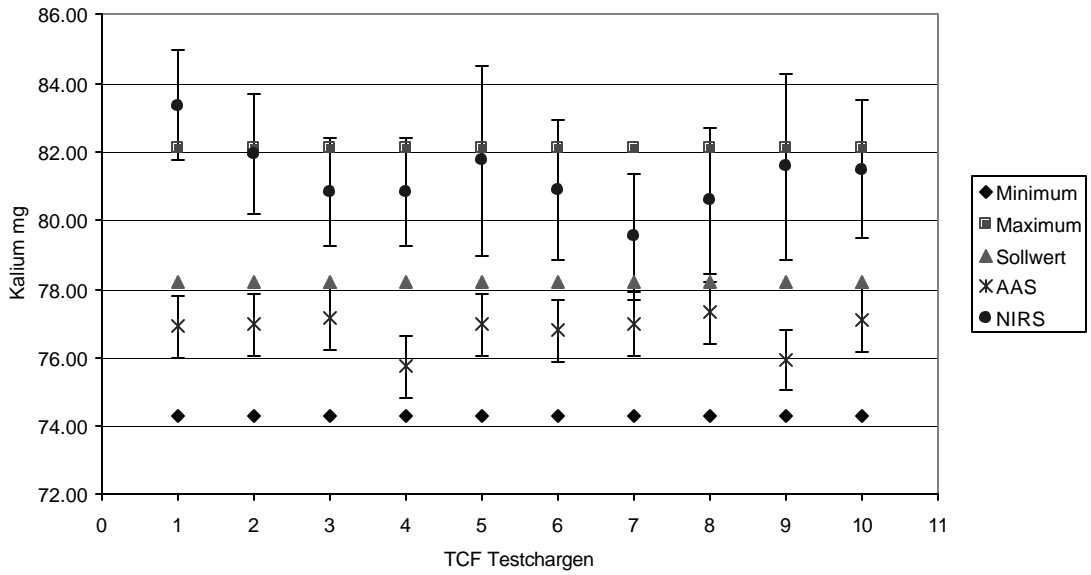
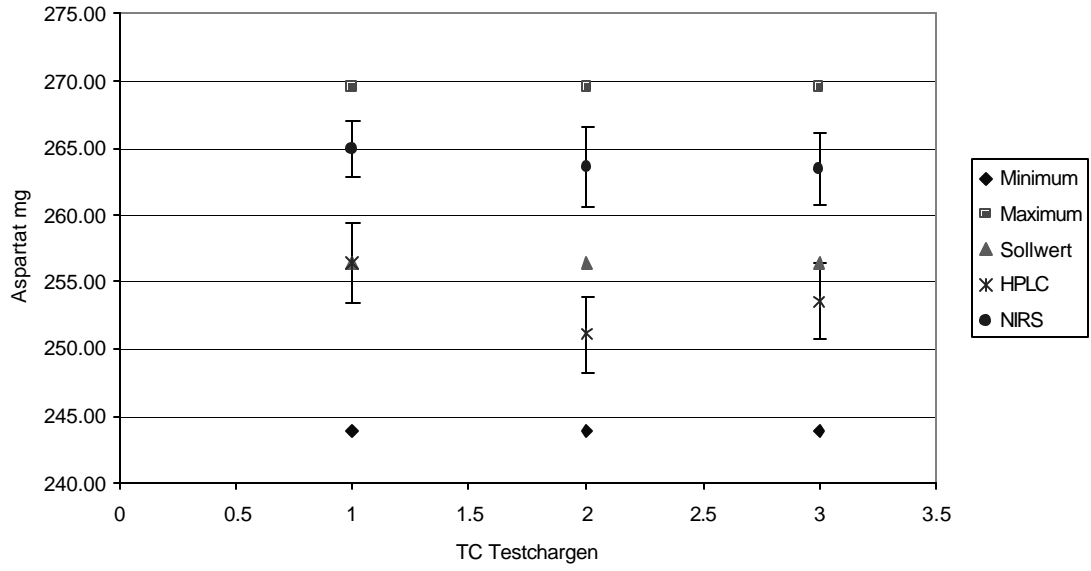




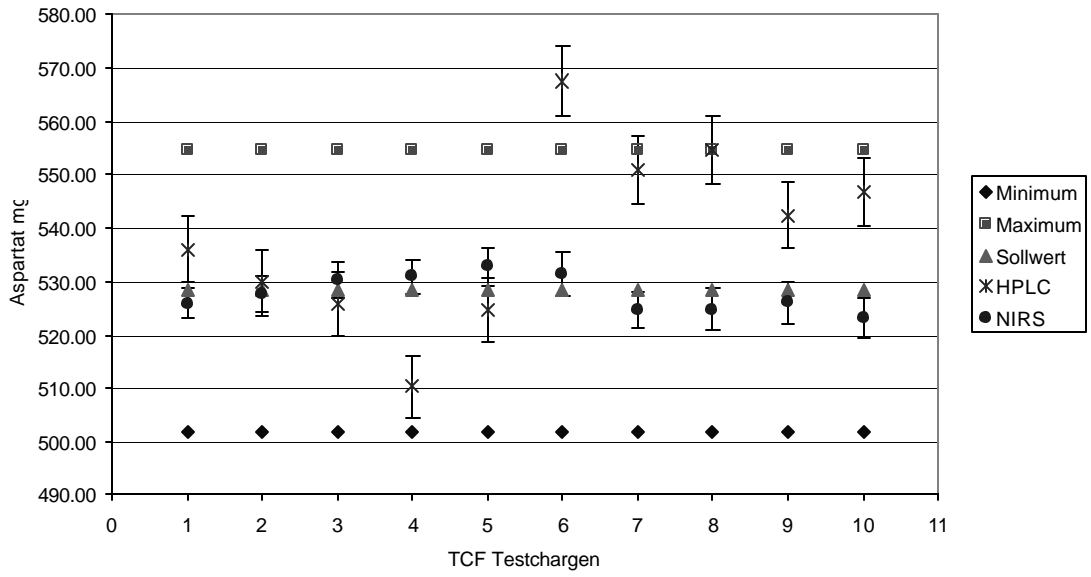
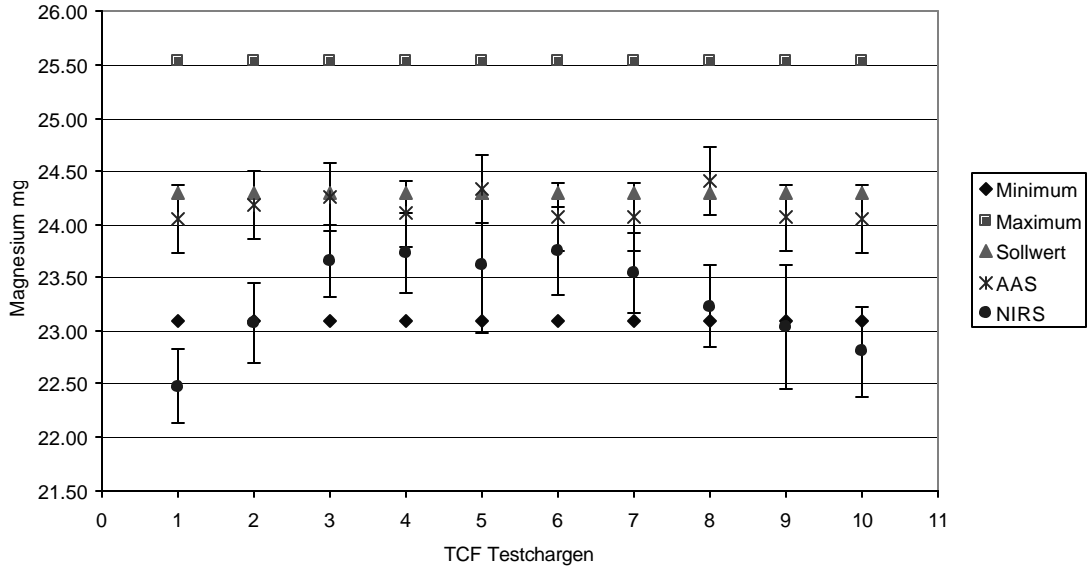
7.14 Gehaltsbestimmung der Testchargen



7 Anhang



7 Anhang



8 Literaturverzeichnis

Afnan A.: Improved product security using on-line near-infrared spectroscopy. *European Pharmaceutical Review* 34-39 1998

Barra J., Somma R.: Influence of the physicochemical variability of magnesium stearat on its lubricant properties: Possible solutions. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 22 (11), 1105-1120 (1996)

Bauer K. H., Frömming K.-H., Führer C.: Pharmazeutische Technologie 7. Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 2002

Bauer H., Herkert T., Bartels M., Kovar K.-A., Schwarze E., Schmidt P.C.: Investigation on polymorphism of mannitol/ sobitol mixtures after spray-drying using differential scanning calorimetric, x-ray diffraction and near-infrared spectroscopy. *Pharm. Ind.* 62, 231-235 (2000)

Blanco M., Villar A.: Polymorphic analysis of a pharmaceutical preparation by NIR spectroscopy. *Analyst* 2000, 125 (12) 2311-2314

Blanco M., Coello J., Eustaquio A., Iturriaga H., Maspoch S.: Development and validation of a method for the analysis of a pharmaceutical preparation by NIR reflectance spectroscopy. *J. of pharmaceutical sciences* Vol. 88; No. 5, 551-556, May 1999

Blanco M., Coello J., Iturriaga H., Maspoch S., de la Pezuela C.: Near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical industry. Critical review. *Analyst*, August 1998, Vol. 123 (135-150)

Blanco M., Coello J., Iturriaga H., Maspoch S., de la Pezuela C.: Strategies for constructing the calibration set in the determination of active principles in pharmaceuticals by near-infrared diffuse reflectance spectrometry. *Analyst*, August 1997, Vol. 122 (761-765)

Buckton G., Yonemochi E., Yoon W. L., Moffat A. C.: Water sorption and near IR spectroscopy to study the differences between microcrystalline cellulose and silicified microcrystalline cellulose before and after wet granulation. *Int. J. of Pharmaceutics* 181 (1999) 41-47

Buckton G., Yonemochi E., Hammond J., Moffat A. C.: The use of near-infrared spectroscopy to detect changes in the form of amorphous and crystalline lactose. *Int. J. of Pharmaceutics* 168 (1998) 231-241

Büchi Labortechnik AG: Benutzerhandbuch NIRVIS 1993 (ehem. Bühler AG)

Burger A., Wachter H.: Hunnius Pharmazeutisches Wörterbuch, 7. Auflage. Walter de Gruyter; Berlin, New York 1993

Burger T., Fricke J., Kuhn J.: NIR radiative transfer investigations to characterise pharmaceutical powders and their mixtures. *NIR Publications* 1998, ISSN 0967-0335

Burns D. A., Ciurczak E. W. (Eds.): Handbook of near-infrared analysis. Marcel Decker Inc., New York USA (1992)

Bruker Analytik GmbH: Benutzerhandbuch Vector 22/N. Ettlingen, Deutschland (1998)

Camo ASA: The unscrambler user manual. Oslo, Norway (1998)

Candolfi A, De Maesschalk R., Massart D. L., Hailey P. A., Harrington A.C.E.: Identification of pharmaceutical excipients using NIR spectroscopy and SIMCA. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 19 (1999) 923-935

Candolfi A, De Maesschalk R., Jouan-Rimbaud D., Hailey P. A., Massart D. L.: The influence of data pre-processing in the pattern of excipients near-infrared spectra. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 21 (1999) 115-132

Corti P., Savini L., Dreassi E., Ceramelli G., Montecchi L., Lonardi S.: Application of NIRS to the control of pharmaceutical identification and assay of several primary materials. *Pharm. Acta Helv.* 67 Nr. 2 (1992)

Corti P., Ceramelli G., Dreassi E., Mattii S.: Near-infrared transmittance analysis for the assay of solid pharmaceutical dosage forms. *Analyst*, 1999, Vol. 124 (755-758)

Dempster M. A., Jones J. A., Last I. R., Mac Donald M. F., Prebble K. A.: Near-infrared methods for the identification of tablets in clinical trial supplies. *J. Pharm. Biomed. Anal.* Vol. 11 No. 11/ 12, pp. 1087-10092 (1993)

Derksen M. W. J., van de Oetelaar P. J. M., Maris F. A.: The use of near-infrared spectroscopy in the efficient prediction of a specification for the residual moisture content of a freeze-dried product. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 17 (1998) 473-480

Drennen J., Lodder R. A.: Nondestructive near-infrared analysis of intact tablets for determination of degradation products. *J. of Pharmaceutical sciences* Vol. 79, No. 7, 622-627, July 1990

Ebube N. K., Thosar S. S., Roberts R. A., Kemoer M. S., Rubinovitz R., Martin S. D. L., Reier G. E., Wheatley T. A., Shukla A. J.: Application of near-infrared spectroscopy for non destructive analysis of Avicel powders and tablets. *Pharmaceutical Development and Technology*; 4, 1; 19-26; 1999

Europäisches Arzneibuch, 3. Ausgabe Ph Eur 1997. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart 1997

Eustaquio A., Graham P., Jee R. D., Moffat A. C., Trafford A. D.: Quantification of paracetamol in tablets using near-infrared transmittance spectroscopy. *Analyst*, 1998, Vol. 123 (2303-2306)

Frake P., Greenhalgh D., Grierson S. M., Hempenstell J. M., Rudd D. R.: Process control and end-point determination of a fluid bed granulation by application of near-infrared spectroscopy. *Int. J. of Pharmaceutics* 151 (1997) 75-80

Friedrich J. G.: Einfluss der Kristallstruktur verschiedener Magnesiumstearate auf ihre Schmiereffekte und die Benetzbarkeit von Tabletten. Dissertation Bonn 2002

Friedrich J. G., Steffens K.-J.: Magnesiumstearate of plantry versus animal origin: physical parameters. Proc. 3rd World Meeting APV/APGI Berlin 3/6 April 2000

Gemperline P. J., Webber L. D. : Raw materials testing using soft indepentent modeling of class analogy analysis of near infrared reflectance spectra. Analytical chemistry, Vol. 61, No. 2, January 15, 1989

Gimet R., Luong A. T.: Quantitative determination of polymorphic forms in a formulation matrix using the near infrared reflectance analysis technique. J. Pharm. Biomed. Anal. Vol. 5, No. 3, pp. 205-211, 1987

Goebel S. G., Steffens K.-J.: Online Messungen der Produktfeuchte und Korngröße in der Wirbelschicht mit der Nah-Infrarot Spektroskopie. Pharm. Ind. 60 889-895 (1998)

Gottfries J., Depui H., Fransson M., Jongneelen M., Josefson M., Langkilde F. W., Witte D.T : Vibrational spectrometry for the assessment of active substances in metoprolol tablets: a comparison between transmission and diffuse reflectance near-infrared spectrometry. J. Pharm. Biomed. Anal. 14 (1996) 1495-1503

Griffiths P. R.: Chemical Infrared Fourier Transform spectroscopy. Wiley & Sons, New York 1975

Grummisch U.: Qualtiative and quantitative near-infrared spectroscopy applications in the pharmaceutical industry. Pharm. Ind. 60, 1002-1006 (1998)

Günzler H., Böck H.: IR-Spektroskopie. Eine Einführung. Verlag Chemie GmbH, Weinheim 1975

Guidelines for the development and validation of near-infrared (NIR) spectroscopic methods. Pharmaceutical analytical science group (PASG). An association of analytical chemists within the research based pharmaceutical industry. January 2001

Guo J.-H., Skinner G. W., Harcum W. W., Malone J. P., Weyer L. G.: Application of near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical solid dosage form. Drug Development and Industrial Pharmacy, 25 (12), 1267-1270 (1999)

Harmonized Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures Methodology, International Conference on Harmonisation (ICH). The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, London 1996

Hammond J., Moffat A. C., Jee R. D.: Determination of water in lactose by near-infrared spectroscopy. J. Pharm. Pharmacol. 1998, 50 (Supplement) 44

Horn M., Winzen R.: Grund und Aufbau seminar NIR-Spektroskopie/ Chemometrie. NIR-Support GbR Essen 2000

Horn M., Winzen R., Siesler H. W. : Calibration transfer between extremely different near-infrared spectrometers. 9th Intern. Conference on Near-Infrared Spectroscopy, Verona, Italy, 1999

Horn M.: Identifizierung pharmazeutischer Hilfsstoffe mit der Nahinfrarot-Spektroskopie: Leistungsvergleich verschiedener Spektrometer und chemometrischer Auswerte-Programme. Diplomarbeit Essen 1998

Jedvert I., Josefson M., Langkilde F.: Quantification of an active substance in a tablet by NIR and Raman spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 6, 279-289 (1998)

Kamat M. S., Lodder R. A., DeLuca P. P.: Near-infrared spectroscopic determination of lyophilized sucrose through intact glass vials. *Pharmaceutical Research*, Vol. 6, No. 11, 961-965, 1989

Klein M.: Untersuchungen zu Mikrokrystalliner Cellulose als Tablettierhilfsstoff. Bonn 1998

Kibbe A. H. (Ed.): Handbook of pharmaceutical excipients. 3rd Edition. AphA Washington DC, PhP London UK (2000)

Kirsch J. D., Drennen J. K.: Determination of film-coated tablet parameters by near-infrared spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 13 (1995) 1273-1281

Kirsch J. D., Drennen J. K.: Near-infrared spectroscopy: Applications in the analysis of tablets and solid pharmaceutical dosage forms. *Applied Spectroscopy Reviews*, 30 (3), 139-174 (1995)

Koglin J.: Untersuchungen zur pharmazeutisch-technologischen Qualität von Magnesiumstearaten. Dissertation Marburg 1992

Langkilde F. W., Svantesson A.: Identification of celluloses with Fourier-Transform (FT) mid-infrared, FT-Raman and near-infrared spectrometrie. *J. Pharm. Biomed. Anal.* Vol. 13, No. 4/5, pp. 409-414, 1995

Leiper K., Vessman J., van der Vlies C.: Issues relating to the establishment of validation guidelines for material identification using NIR. *Pharmeuropa* Vol. 10, No. 3, Sept. 1998

List K., Steffens K.-J.: Überwachung und Steuerung von Granulationsprozessen mit Hilfe der Nah-Infrarot Spektroskopie. *Pharm. Ind.* 58, 347-353 (1996)

Lonardi S., Viviani R., Griguol E., Tenore C.: Facilitating process re-engineering in the pharmaceutical industry using NIR. *European Pharmaceutical Review* Vol. 3 (1) March 1998, 41-47

Mac Donald B. F., Prebble K. A.: Some applications of near-infrared reflectance analysis in the pharmaceutical industry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 11, No. 11/ 12, pp. 1077-1085 (1995)

Martens H., Næs T.: Multivariate calibration. John Wiley & Sons, Chichester 1989

Mc Clure W. F.: The giant is running strong. *Analytical Chemistry*, Vol. 66, No. 1, January 1 (1994)

Merckle P., Kovar K.-A.: Assay of effervescent tablets by near-infrared spectroscopy in transmittance and reflectance mode: acetylsalicylic acid in mono and combination formulations. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 17 (1998) 365-374

- Moffat A. C.:* The case for the use of near-infrared spectroscopy as a primary method of analysis. *J. Pharm. Pharmacol.* 1998, 50 (Supplement) 46
- Molt K.:* Grundlagen und Anwendung der modernen NIR-Spektroskopie. Teil 1: Spektroskopische und chemische Grundlagen. *GIT Fachzeitschrift Labor* 2/ 92
- Molt K.:* Grundlagen und Anwendung der modernen NIR-Spektroskopie. Teil 2: Anwendungen. *GIT Fachzeitschrift Labor* 4/ 92
- Molt K.:* NIR-Spektroskopie für die Identitätsprüfung. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 43 (1995) 3
- Molt K., Egelkraut M.:* Quantitative Mehrkomponentenanalyse von Pulvergemische mitte ls NIRS. *GIT Fachzeitschrift Labor* 12/ 1311 (1988)
- Morisseau K. M., Rhodes Chr. T.:* Near-infrared spectroscopy as a non destructive alternative to conventional tablet hardness testing. *Pharmaceutical Research*, Vol. 14, No. 1, 108-111, 1997
- Morisseau K. M., Rhodes Chr. T.:* Pharmaceutical uses of near-infrared spectroscopy. *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 21 (9), 1071-1090 (1995)
- Müller B. W.:* Pseudopolymorphie von Magnesiumsalzen höherer Fettsäuren. *Arch. Pharm.* 310, 693-704 (1977)
- Norris T., Aldrige P. K., Sekulic S. S.:* Determination of end-points for polymorph conversions of crystalline organic compounds using on-line near-infrared spectroscopy. *Analyst*, June 1997, Vol. 122 (549-552)
- O'Neil A. J., Jee R. D., Moffat A. C.:* Measurement of cumulative particle size distribution of microcrystalline cellulose using near-infrared reflectance spectroscopy. *Analyst* 1999, Vol. 124, 33-36
- Otsuka M., Kato F., Matsuda Y.:* Determination of indomethacin polymorphic contents by chemometric near-infrared spectroscopy and conventional powder X-ray diffractometry. *Analyst* 2001, 126 (9), 1578-1582
- Otto M.:* Chemometrie: Statistik und Computereinsatz in der Analytik. VCH, Weinheim 1997
- Plugge W., Van der Vlies C.:* The use of near-infrared spectroscopy in the quality control laboratory in the pharmaceutical industry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 10, Nos. 10-12, pp. 797-803, 1992
- Plugge W., Van der Vlies C.:* Near-infrared spectroscopy as an alternative to assess compliance of ampicillin trihydrate with compendial specifications. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 11, No. 6, pp. 435-442, 1993
- Radtke G., Knop K., Lippold B. C.:* Nahinfrarot (NIR)-Spektroskopie: Grundlagen und Anwendung aus pharmazeutischer Sicht. *Pharm. Ind.* 61, 848-857 (1999)
- Ramirez J. I., Bellamy M. K., Romañach R. J.:* A novel method of analyzing thick tablets by near-infrared spectroscopy. *PharmSciTech* 2001; 2 (3) acticle 11

Rantanen J., Räsänen E., Tenhunen J., Känsäkoski M., Mannermaa J.-P., Yliruusi J.: In-line moisture measurement during granulation with a four-wavelength near-infrared sensor: an evaluation of particle size and binder effects. *European J. of Pharm. and Biopharm.* 50 (2000) 271-276

Reich G.: Use of near-infrared spectroscopy for nondestructive determination of tablet hardness. Proc. 3rd World Meeting APV/APGI, Berlin 3/6 April 2000

Rosenberger D.: Optische Informationsübertragung mit Lichtwellenleitern. VDE-Verlag, Berlin 1982

Rote Liste 2002: Arzneimittelverzeichnis für Deutschland. Rote Liste Service GmbH, Frankfurt/ Main. Editio Cantor Verlag, Aulendorff

Rücker G., Neugebauer M., Willems G. G.: Instrumentelle pharmazeutische Analytik. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH; Stuttgart 1992

Sadler I.: The Atlas of Near-Infrared Spectra. Division of Biorad Laboratories Inc.; Philadelphia 1981

Scheiwe M.-W., Schilling D., Aebi P.: Near-infrared spectroscopy analysis of intact pharmaceutical diclofenac coated tablets in transmission. *Pharm. Ind.* 61, 179-183 (1999)

Schütte A.: Untersuchungen zur Feuchtgranulierung hydrophober Arzneistoffe am Beispiel der Mefenaminsäure. Dissertation Bonn 2001

Shlieout G., Arnold K., Müller G.: Powder and mechanical properties of microcrystalline cellulose with different degrees of polymerisation. *AAPS PharmSciTech* 2002; 3 (2) article 11

Siesler H. W., Paul Chr.: NIR-Spektroskopie *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 37 (1989) Sonderheft

Skoog D. A., Holler F. J., Niemann T. A.: Principles of instrumental analysis. Fifth Edition. Saunders College Publishing. Harcourt Brace & Company, Orlando 1998

Stahl P. H.: Feuchtigkeit und Trocknen in der pharmazeutischen Technologie. Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt 1980

Steffens K.-J.: Die physikalischen Eigenschaften von Magnesiumstearat und ihr Einfluss auf das tribologische Verhalten bei der Tablettierung. Dissertation Marburg 1978

Steffens K.-J., Koglin J.: The magnesium stearate problem. Session 2: Recent developments and future trends in solid dosage forms. *Manufact. Chem.* Morgan Grampian London, 118-125 (1993)

Steffens K.-J.: The process: Scale-up, Scale-down in wet granulation. Theory and practice of granulation. APV Nürnberg 1999

Steffens K.-J.: Rohstoffe für das neue Jahrtausend. Pharmazeutische Rohstoffe im internationalen Wirtschaftsraum. APV Stuttgart 2001

Trafford A. D., Jee R. D., Moffat A. C., Graham P.: A rapid quantitative assay of intact paracetamol tablets by reflectance near-infrared spectroscopy. *Analyst*, 1999, Vol. 124 (163-167)

Ulmenschneider M., Barth G., Trenka E.: Building transferable cluster calibrations for the identification of different solid excipients with near-infrared spectroscopy. *Pharm. Ind.* 62, 374-376 (2000)

Ulrich P.: Rotsüchtig und farbenblind. NIR-Spektrometer im Sehtest. *Labo März* 2001, 8-26

USP 25-NF 20 Supplement 2002. Official Monographs (2002). The United states Pharmacopeial Convention, Inc.; Rockville USA

Wargo J. D., Drennen J. K.: Near-infrared spectroscopic characterisation of pharmaceutical powder blends. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 14 (1996) 1415-1423

Yoon W. L., Jee R. D., Moffat A. C.: Optimisation of sample presentation for the near-infrared spectra of pharmaceutical excipients. *Analyst*, May 1998, Vol.123 (1029-1034)

Wieland G.: Wasserbestimmung durch Karl-Fischer-Titration. GIT Verlag GmbH; Darmstadt 1985

Zhou X., Hines P., Borer M. W.: Moisture determination in hygroscopic drug substances by near-infrared spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 17 (1998) 219-225

9 Abkürzungsverzeichnis

A	Absorption
AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
BP	British Pharmacopeia
BSE	Bovine Spongiforme Enzephalopathie
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
cm	Centimeter
cm ⁻¹	Wellenzahlen
DSC	Differential scanning calorimetric
et al.	et alii
FT	Fourier-Transformation
h	Stunde
HPLC	High pressure liquid chromatography
I	Intensität des Messstrahls
I ₀	Intensität des Referenzstrahls
ICH	International committee on harmonisation
InGaAs	Indium-Gallium-Arsenid
IR	Infrarot
JP	Japanese Pharmacopeia
K	Kelvin
KF	Karl-Fischer
kg	Kilogramm
kN	Kilonewton
log	dekadischer Logarithmus
M	Mischung
Max	Maximum
MCC	Mikrokristalline Cellulose
mg	Milligramm
Min	Minimum
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter

mPa	Millipascal
MSC	Multiplicative scatter correction
N	Newton
n	Anzahl der Stichproben
NIR	Nahinfrarot
NIRS	Nahinfrarot-Spektroskopie
nm	Nanometer
Nr.	Probennummer
Org	original
PC	Principal component
PbS	Bleisulfid
PCA	Principal component analysis
PCR	Principal component regression
Ph. Eur.	Pharmakopoeia Europea bzw. Europäisches Arzneibuch
PLS	Partial least squares
PVP	Polyvinylpyrrolidon
R	Reflexion
R ²	Bestimmtheitsmaß bzw. multipler Korrelationskoeffizient
RH	relative humidity
RP	Reversed phase
q ³ lg	Volumenbezogene Dichteverteilung
rel.	relativ
REM	Rasterelektronenmikroskop
RMSECV	Root mean square error of crossvalidation
SD	standard deviation (Standardabweichung)
sec.	Sekunde
T	Transmission
T-Test	zweiseitiger T-Test nach Student
TG	Thermogravimetrie
USP/NF	Unites States Pharmacopeia and National Formulary
x10, x50, x90	Korngröße unterhalb der 10/ 50/ 90 % des Probenvolumens
μm	liegen Mikrometer