

**Anwendungen der
quantitativen Röntgendiffraktometrie (QXRD)
in der pharmazeutischen Analytik**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von
Ingeborg Fix
aus Siegburg

Bonn 2004

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

Erster Referent: Herr Prof. Dr. K.-J. Steffens

Zweiter Referent: Herr Prof. Dr. R. Süverkrüp

Tag der Promotion: 26.08.04

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	1
2	THEORIE	3
2.1	Grundlagen der Röntgenbeugung	3
2.1.1	Erzeugung und Charakterisierung von Röntgenstrahlen	3
2.1.2	Wechselwirkung von Röntgenstrahlen mit Materie	4
2.1.2.1	<i>Absorption</i>	4
2.1.2.2	<i>Brechung</i>	5
2.1.2.3	<i>Streuung</i>	5
2.1.2.4	<i>Beugung</i>	6
2.1.3	Braggsche Reflexionsbedingung	6
2.1.4	Intensität gebeugter Röntgenstrahlung	7
2.1.5	Monochromatisierung von Röntgenstrahlen	8
2.1.6	Nachweis von Röntgenstrahlung	9
2.2	Aufbau eines Röntgendiffraktometers	10
2.3	Quantitative Auswertung von Röntgendiffraktogrammen	13
2.3.1	Bestimmung der Kristallinität	13
2.3.1.1	<i>Methode nach Hermans und Weidinger</i>	13
2.3.1.2	<i>Methode nach Ruland</i>	14
2.3.1.3	<i>Modifizierte Methode nach Hendus und Schnell</i>	15
2.3.2	Quantitative Bestimmung eines Bestandteils im Multikomponentensystem	16
2.3.2.1	<i>Diffractions-Absorptionsmethode</i>	17
2.3.2.2	<i>Methode des internen Standards</i>	18
2.3.2.3	<i>Additionsmethode</i>	19
2.3.2.4	<i>Verdünnungsmethode</i>	19
2.3.2.5	<i>Methode des externen Standards: Quantitative Analyse über RIR-Werte</i>	20
2.3.2.6	<i>Matrix flushing</i>	20

2.3.2.7	<i>Auswertung des komplexer Spektren („whole pattern fitting“)</i>	21
2.4	Probleme der quantitativen Röntgendiffraktometrie	24
2.4.1	Effekt der Partikelgrösse	24
2.4.2	Vorzugsorientierung (Textur)	24
2.4.3	Primäre Extinktion	25
2.4.4	Mikroabsorption	25
2.4.5	Statistische Genauigkeit der Zählrate	25
2.4.6	Probentransparenz	26
2.4.7	Probenpräparation	26
2.4.8	Instrumentbedingte Fehler	26
2.5	Einsatzgebiete der Röntgendiffraktometrie in der Pharmazie	27
3	MATERIALIEN UND METHODEN	29
3.1	Materialien	29
3.1.1	Lactose	29
3.1.2	Theophyllin	31
3.1.3	Calciumhydrogenphosphatanhydrat, Calciumhydrogenphosphatdihydrat	33
3.1.4	Indomethacin	35
3.2	Methoden und Geräte	38
3.2.1	Röntgendiffraktometer	38
3.2.1.1	<i>Geräteeinstellung am Röntgendiffraktometer: Versuchsreihe 1-3</i>	41
3.2.1.2	<i>Messbedingungen am Röntgendiffraktometer: Versuchsreihe 1-3</i>	42
3.2.1.3	<i>Verwendete Programme</i>	42
3.2.1.4	<i>Probenvorbereitung</i>	42
3.2.1.5	<i>Auswertung von Röntgendiffraktogrammen</i>	43
3.2.1.5.1	Bestimmung des Untergrundes	43
3.2.1.5.2	Reflexsuche	43
3.2.1.5.3	Profilanpassung	44
3.2.1.5.4	Chemometrie	44

3.2.2	Nahinfrarotspektroskopie (NIRS)	45
3.2.2.1	<i>Probenvorbereitung</i>	46
3.2.2.2	<i>Auswertung von NIR-Spektren</i>	46
3.2.3	Chemometrie	47
3.2.3.1	<i>Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis, PCA)</i>	47
3.2.3.2	<i>Principal Component Regression (PCR)</i>	48
3.2.3.3	<i>Partial Least Squares Regression (PLSR)</i>	49
3.2.3.4	<i>Datenvorbehandlung</i>	50
3.2.3.4.1	Ableitung nach Savitzky-Golay	50
3.2.3.4.2	Multiplikative Streukorrektur	51
3.2.3.5	<i>Validierung</i>	51
3.2.3.6	<i>Leistungsparameter des Modells</i>	52
3.2.3.6.1	SEC, SEP, SEP _{CV}	52
3.2.3.6.2	RMSEC, RMSEP, RMSEP _{CV}	52
3.2.3.6.3	Bias	53
3.2.3.6.4	Bestimmtheitsmaß und Korrelationskoeffizient	53
3.2.4	UV/Vis Spektroskopie	54
3.2.5	Laserdiffraktometrie	56
3.2.6	Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)	57
3.2.7	Thermogravimetrische Analyse (TGA)	57
3.2.8	Rasterelektronenmikroskop (REM)	57
4	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	59
4.1	Quantitative Bestimmung der Kristallinität	59
4.1.1	Bedeutung der Kristallinität	59
4.1.2	Stand der Forschung	60
4.1.3	Versuchsplan	64
4.1.4	Substanzcharakterisierung	65
4.1.4.1	<i>Kristalline Lactose</i>	65
4.1.4.2	<i>Amorphe Lactose</i>	67

4.1.4.3	<i>Kristallisationsverlauf von amorpher Lactose</i>	69
4.1.5	Kalibrierung	71
4.1.5.1	<i>10 – 90 % kristalliner Gehalt</i>	71
4.1.5.1.1	XRPD	71
4.1.5.1.2	NIRS	73
4.1.5.1.3	DSC	76
4.1.5.1.4	Gesamtbewertung	77
4.1.5.2	<i>1 – 9 % amorpher Gehalt</i>	77
4.1.5.2.1	XRPD	77
4.1.5.2.2	NIRS	80
4.1.5.2.3	Gesamtbewertung	81
4.1.5.3	<i>0 – 10% kristalliner Gehalt</i>	82
4.1.5.3.1	XRPD	82
4.1.5.3.2	NIRS	84
4.1.5.3.3	Gesamtbewertung	85
4.1.5.4	<i>Praktische Anwendungen der Kalibrierungen</i>	86
4.1.5.4.1	Proben bekannten amorphen / kristallinen Gehaltes	86
4.1.5.4.2	Proben mit unbekanntem amorphen Gehalt	87
4.1.5.4.3	Proben mit unbekanntem kristallinen Gehalt	89
4.1.5.4.4	Proben unbekanntem amorphen Gehalts; unterschiedliche Partikelgröße	91
4.1.5.4.5	Gesamtbewertung	92
4.1.5.5	<i>Fehlerabschätzung XRPD und NIRS</i>	93
4.2	Quantitative Bestimmung von Indomethacin in der intakten Tablette	94
4.2.1	Stand der Forschung	94
4.2.2	Versuchsplan	96
4.2.3	Substanzcharakterisierung	98
4.2.4	Quantitative Wirkstoffbestimmung in Abhängigkeit von der Tablettenform	100
4.2.5.1	<i>Biplane Tabletten</i>	<i>100</i>
4.2.5.2	<i>Gewölbte Tabletten</i>	<i>105</i>

4.2.5.3	<i>Gesamtbewertung</i>	108
4.2.5	Quantitative Wirkstoffbestimmung in Abhängigkeit von der Partikelgröße	109
4.2.5.1	Wirkstoffpartikel < 10 µm	109
4.2.5.2	Wirkstoffpartikel > 10 µm	110
4.2.5.3	Gesamtbewertung	112
4.2.6	Fehlerabschätzung XRPD	112
4.3	In situ Stabilitätsuntersuchungen in der Temperatur-Feuchte-Kammer	114
4.3.1	Bedeutung der Stabilität	114
4.3.2	Stand der Forschung	114
4.3.3	Versuchsplan	117
4.3.4	Substanzcharakterisierung	119
4.3.4.1	<i>Theophyllinanhydrat</i>	119
4.3.4.2	<i>Theophyllinmonohydrat</i>	121
4.3.4.3	<i>Emcompressdihydrat</i>	124
4.3.4.4	<i>Emcompressanhydrat</i>	128
4.3.5	Kalibrierungen	131
4.3.6	Untersuchungen an Theophyllinmonohydrat	133
4.3.6.1	<i>Phasentransformation in Abhängigkeit von der Temperatur</i>	133
4.3.6.2	<i>Phasentransformation in Abhängigkeit von der relativen Feuchte</i>	136
4.3.6.3	<i>Phasentransformation in Abhängigkeit von Temperatur und Feuchte</i>	139
4.3.6.4	<i>Phasentransformation im Klimaschrank</i>	142
4.3.7	Untersuchungen an stabilem Theophyllinanhydrat	144
4.3.7.1	<i>Hydratation von Theophyllinanhydrat</i>	144
4.3.7.2	<i>Reproduzierbarkeit der Messungen</i>	146
4.3.8	Inkompatibilitätsstudien	148
4.3.8.1	<i>Theophyllinanhydrat + Emcompressdihydrat</i>	148
4.3.8.2	<i>Theophyllinmonohydrat + Emcompressanhydrat</i>	154
4.3.8.3	<i>Gesamtbewertung</i>	155

5	ZUSAMMENFASSUNG	156
6	LITERATURVERZEICHNIS	159
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	166
8	ANHANG	169

1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Wegen der zunehmenden regulatorischen Anforderungen an einen neuen Arzneistoff haben kristallographische Analysenverfahren wie die Pulverröntgendiffraktometrie große Bedeutung erlangt. So muss vor der Zulassung sichergestellt werden, ob und in welchem Ausmaß andere polymorphe Formen des Wirkstoffs auftreten können und unter welchen Bedingungen dies geschieht. Von diesem Ergebnis hängt ab, welches Herstellungsverfahren, welche Formulierungstechnik und welche Lagerungsbedingungen gewählt werden, um zu jedem Zeitpunkt ein Produkt gleichbleibend hoher galenischer und biopharmazeutischer Qualität zu gewährleisten.

Bisher wurde die Pulverröntgendiffraktometrie in der USP als Verfahren zur Identifizierung und Reinheitsprüfung von Feststoffen sowie zur Unterscheidung verschiedener Modifikationen einschließlich des amorphen Zustands herangezogen. Für quantitative Untersuchungen gilt eine Nachweisgrenze von 10 (m/m) %. Im EuAB wird die Röntgendiffraktometrie zum Nachweis von Asbest in Talkum verwendet, sowie zur Bestimmung der „wahren“ Kristalldichte, die mittels Einkristallstrukturdaten über die Größe und den Aufbau der Elementarzelle und der Molekularmasse berechnet wird. Eine Quantifizierung von Substanzen wird nicht durchgeführt.

Da in den letzten Jahren die Qualität von Röntgendiffraktometern durch die Entwicklung neuer Detektoren und optischer Systeme gestiegen ist, war es Ziel dieser Arbeit, die tatsächliche Leistung der neuen Geräte hinsichtlich ihrer praktisch erreichbaren Nachweisgrenze, Messgenauigkeit und Messzeit anhand des X'Pert Pro MPD Systems von PANalytical zu untersuchen. Es sollte festgestellt werden, inwiefern sich das Gerät für den routinemässigen Einsatz in der Quantifizierung von Wirk- und Hilfsstoffen im pharmazeutischen Herstellungsprozess eignet. Zusätzlich wurde versucht, die Ergebnisse, die durch die klassische Auswertung der Diffraktogramme erhalten wurden, durch die multivariate Auswertung der Partial Least Squares Regression weiter zu verbessern.

Es werden drei Versuchsreihen durchgeführt, welche beispielhaft die wesentlichen Einsatzgebiete der Röntgendiffraktometrie in der Pharmazie betreffen:

1. Quantitative Kristallinitätsbestimmung von α -Lactosemonohydrat mit dem Ziel, bei minimaler Messzeit 0.5 – 1 % amorphes in kristallinem Material und umgekehrt nachzuweisen. Als Vergleichsmethode dienen NIRS und DSC.
2. Quantitative Bestimmung von Indomethacin der intakten Tablette, wobei Gehaltsunterschiede von 0.5 % unabhängig von Tablettenform und Partikelgröße des

eingesetzten Wirkstoffs festgestellt werden sollen. Als Vergleichsmethode dient die UV-Spektroskopie.

3. Stabilitätsuntersuchungen in der Temperatur-Feuchte-Kammer des Röntgendiffraktometers, bei denen die klimatischen Voraussetzungen, die Umwandlungskinetik und die Endprodukte der Phasentransformation von Theophyllinmonohydrat zu Theophyllin-anhydrat und umgekehrt untersucht werden sollen. Die Ergebnisse werden mit denen des Klimaschranks verglichen.

Anschließend wird eine Kompatibilitätsstudie durchgeführt, bei der die potentielle Möglichkeit des Kristallwasserübergangs von einem Hilfsstoff ($\text{CaHPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) auf einen Wirkstoff (Theophyllinanhydrat) und umgekehrt (Theophyllinmonohydrat \rightarrow CaHPO_4) untersucht wird.

2 THEORIE

2.1 Grundlagen der Röntgenbeugung

2.1.1 Erzeugung und Charakterisierung von Röntgenstrahlen

Röntgenstrahlen entstehen, wenn hochbeschleunigte Elektronen auf Materie treffen und abgebremst werden. Die Erzeugung von Röntgenstrahlen findet in Röntgenröhren statt, die aus einer evakuierten Glas- oder Stahlröhre bestehen. Die aus einer Glühkathode austretenden Elektronen werden durch eine angelegte Hochspannung beschleunigt und treffen auf die Anode, die für die Analyse organischer Substanzen meist aus Kupfer besteht. Die kinetische Energie der Elektronen wird bei der Abbremsung in der Anode vorwiegend in Wärme umgesetzt, nur ein Bruchteil wird in kurzwellige elektromagnetische Strahlung umgewandelt. Die von der Anode ausgehende Röntgenstrahlung entsteht auf Grund zweier unterschiedlicher Prozesse:

1. *Röntgenbremsstrahlung*: Wird ein rasch fliegendes Elektron beim Durchgang durch das starke elektrische Feld in der Nähe des Atomkerns abgebremst, so kann es einen Teil seiner Energie in Form von Röntgenstrahlung der Frequenz ν abgeben, entsprechend der Einsteinschen Beziehung:

$$\Delta E = h\nu \quad (\text{Gl. 2.1.1})$$

Das dabei entstehende kontinuierliche Spektrum bricht bei einer Grenzwellenlänge λ_{Gr} ab, die durch den vollständigen Energieübergang eines abgebremsten Elektrons an ein einzelnes Photon gegeben ist.

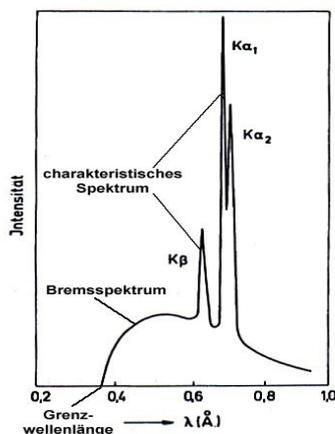


Abb. 2.1.1: Röntgenspektrum einer Kupferanode mit Bremskontinuum und K_{α} - und K_{β} -Linien des Kupfers

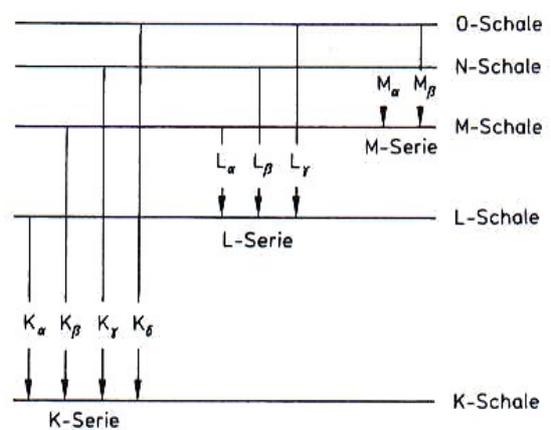


Abb. 2.1.2: Entstehung der charakteristischen Röntgenstrahlung durch Elektronenübergänge im Atom

2. *Charakteristische Röntgenstrahlung*: Übersteigt die Energie der aufschlagenden Elektronen die Ionisierungsenergie der tiefer gelegenen Elektronenschalen, so werden aus den inneren Hüllen des Anodenmaterials Elektronen herausgeschlagen. Die dabei entstehenden Lücken können durch Elektronen aus weiter außen liegenden Schalen aufgefüllt werden. Bei diesem Vorgang wird Röntgenstrahlung emittiert, deren Frequenz dem energetischen Abstand beider Zustände entspricht (Abb. 2.1.2). Dadurch wird das Bremsspektrum durch ein Linienspektrum überlagert (Abb. 2.1.1), das für das verwendete Anodenmaterial charakteristisch ist.

Röntgenstrahlen werden aufgrund ihrer kurzen Wellenlänge von ca. 10^{-10} m (1 Å) zu Längenmessungen im Gebiet atomarer Dimensionen eingesetzt wie zum Beispiel der Analyse von Kristallstrukturen oder anderer Schichtsysteme, deren charakteristische strukturelle Perioden ebenfalls im Bereich von wenigen Å liegen. Untersuchungsverfahren mit Röntgenstrahlen lassen sich in drei Gruppen einteilen:

- Röntgenfluoreszenzanalyse: die Probe wird durch harte polychromatische Röntgenstrahlung zur Emission charakteristischer, langwelliger Röntgenstrahlung angeregt über die eine Identifikation der Probenbestandteile erfolgt
- Röntgendiffraktometrie: weiche, monochromatische Röntgenstrahlung wird am Kristallgitter der Probensubstanz gebeugt, was eine Kristallstrukturanalyse ermöglicht
- Röntgendurchleuchtung: Grobstrukturanalyse mit harter Röntgenstrahlung, vorwiegend medizinischer Einsatz

2.1.2 Wechselwirkung von Röntgenstrahlen mit Materie

2.1.2.1 Absorption

Die Abschwächung von Röntgenstrahlung in Materie folgt dem Gesetz:

$$I = I_0 \cdot e^{-\mu d} \quad (\text{Gl. 2.1.2})$$

wobei I_0 der Ausgangsintensität eines monochromatischen Röntgenstrahls vor dem Eintritt in ein homogenes Material entspricht, d der Weglänge (in cm) im Material und I der Intensität bei Verlassen des Materials. μ (cm^{-1}) ist der sog. lineare Absorptionskoeffizient und stellt bei gegebener Wellenlänge eine nur von der Dichte δ des Absorbens abhängige Materialkonstante dar. Eine dichteunabhängige Größe ist der Massenschwächungskoeffizient MSK:

$$\text{MSK} = \mu/\delta \text{ (cm}^2/\text{g)} \quad (\text{Gl. 2.1.3})$$

Der MSK verhält sich in Gemischen und Verbindungen additiv und kann aus den MSK der Einzelkomponenten berechnet werden. Der so erhaltene Wert wird dann über die Dichte der Gesamtmischung wieder in μ umgerechnet und die Eindringtiefe d des Röntgenstrahls in die Probe ermittelt. Große Unterschiede zwischen den Absorptionskoeffizienten von Mischungspartnern können zu Verfälschungen der relativen Intensitäten im Röntgendiffraktogramm führen und bedürfen einer entsprechenden Korrektur bei einer späteren quantitativen Auswertung. Ähnliches gilt für die Eindringtiefe d , die bei schwach absorbierenden Stoffen zu Störstrahlung, Peakverschiebungen und Intensitätsminderung durch Probentransparenz führen kann (s. Kap. 3.1.2). Der MSK ist nicht linear von der Wellenlänge abhängig, sondern zeigt sprunghafte Veränderungen, sog. Absorptionskanten, die man sich bei der Monochromatisierung von Röntgenstrahlen zunutze macht.

2.1.2.2 Brechung

Da die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Röntgenstrahlen in allen Materialien gleich ist, findet keine Brechung statt.

2.1.2.3 Streuung

- Streuung unter Anregung von Röntgenfluoreszenz: diese Art der Streuung ist bei der verwendeten $\text{Cu}_{K\alpha}$ Strahlung nur bei eisenhaltigen Proben gegeben, da nur in diesem Fall die Energie der einfallenden Röntgenstrahlung der Anregungsenergie der Elektronen entspricht. Folge sind ein erhöhtes Untergrundrauschen und eine Abnahme der Peakintensitäten.
- Inkohärente Streuung (Compton-Streuung): durch die Anregung schwach gebundener Elektronen einer äußeren Schale wird nur ein Teil der einfallenden Röntgenstrahlung aufgenommen, wodurch Primär- und Sekundärstrahlung nicht mehr kohärent sind und es zur Erhöhung des allgemeinen Untergrundes kommt.
- Kohärente Streuung (Rayleigh-Streuung): der monochromatische Primärstrahl regt die Elektronenhüllen der Gitterbausteine zu Schwingungen an. Jeder Baustein wird dadurch zu einer sekundären Strahlungsquelle und strahlt eine kugelförmige Primärwelle derselben Wellenlänge ab. Sind die Wellen in Phase, kommt es bei der Überlagerung der Primärwellen zu einer Intensitätsverstärkung der von den Gitterbausteinen emittierten Röntgenstrahlung.

2.1.2.4 Beugung

Die Röntgenbeugung beruht auf der kohärenten Streuung der Röntgenstrahlen. Aus dem Muster der Interferenzmaxima, die unter den verschiedenen Winkeln zum Primärstrahl auftreten, lassen sich bei Verwendung monochromatischer Röntgenstrahlung Rückschlüsse auf den Gitteraufbau ziehen. Die geometrischen Bedingungen, die hierfür erfüllt sein müssen, sind in der Braggschen Reflexionsbedingung formuliert (s.u.).

2.1.3 Die Braggsche Reflexionsbedingung

Nach Bragg kann die Beugung der Röntgenstrahlung modellhaft als Reflexion an den einzelnen Netzebenen aufgefasst werden. Eine Netzebene ist eine Ebene beliebiger Orientierung im Kristallgitter. Ihre Besetzungsdichte, d.h. die Anzahl der in ihr liegenden Gitterpunkte, wird durch ihre Anordnung im Raum und durch die Gitterstruktur bedingt. Durch die Periodizität des Kristallgitters ist sie immer Teil einer Netzebenenschar. Die Netzebenenscharen werden durch die Millerschen Indices (hkl) benannt [1, 2] und beschreiben durch ihre Besetzungsdichte und den Netzebenenabstand d das gesamte Kristallgitter. Ein Beugungsmaximum kann sich nur ausbilden, wenn die an den Gitterbausteinen einer Netzebene gebeugten Röntgenstrahlen in Phase sind. Dies ist dann der Fall, wenn die Wegdifferenz $AB + BD$ in Abb. 2.1.3 ein ganzzahliges Vielfaches der Wellenlänge ist. Ausgedrückt als trigonometrische Funktion des Beugungswinkels ergibt sich für $AB = BD = d \sin\theta$. Die Wegdifferenz beträgt somit $2d \sin\theta$. Für die Braggsche Reflexionsbedingung ergibt sich somit:

$$n \cdot \lambda = 2d \cdot \sin\theta \quad (\text{Gl. 2.1.4})$$

wobei n eine ganze Zahl ist, die für die Berechnung der Maxima höherer Ordnung benötigt wird. Dementsprechend lässt sich über den Beugungswinkel der Netzebenenabstand d berechnen.

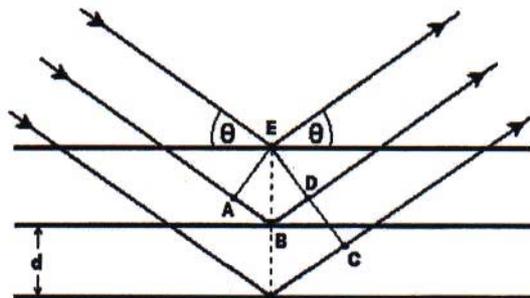


Abb. 2.1.3: Braggsche Reflexionsbedingung: d ist der Netzebenenabstand, λ die Wellenlänge, θ der Einfall- bzw. Ausfallswinkel der Röntgenstrahlung

2.1.4 Die Intensität gebeugter Röntgenstrahlung

Röntgenstrahlen regen die Elektronen der Atome zu erzwungenen Schwingungen an, die selbst wieder Anlass zur Ausstrahlung einer elektromagnetischen Welle sind (kohärente Streuung). Je nach Ordnungszahl und damit Ausdehnung der Elektronenhülle eines Atoms, der Anordnung der Atome innerhalb der Elementarzelle und der Elementarzellen innerhalb des Gitters entsteht zwischen den Amplituden der erzwungenen Schwingungen eine Phasendifferenz, die bei Interferenz zu einer Abschwächung der Gesamtintensität führt. Das Quadrat des Betrags der Amplitude wird Intensität genannt und ist ein Maß für die von einer Welle transportierten Energie [2]. Es gilt folgende Proportionalitätsbeziehung für die Intensität eines Reflexes hkl :

$$I_{hkl} \propto LP \cdot A \cdot H \cdot B \cdot |F_{hkl}|^2 \cdot \frac{V}{v^2} \quad (\text{Gl. 2.1.5})$$

Der wichtigste Parameter ist der Strukturfaktor F_{hkl} , der die Beziehung zwischen Atomanordnung und Beugungsintensität beschreibt. Man erhält ihn aus der Summierung aller Atomformfaktoren f_n , welche die winkelabhängige Schwächung der Gesamtintensität der Streustrahlung aufgrund der räumlichen Ausdehnung der Atome beschreiben, und den Phasenverschiebungen φ_n über alle Teilwellen der n Atome. Im Strukturfaktor ist damit die gesamte Information über die Position der Atome enthalten. Der Temperaturfaktor B berücksichtigt den intensitätsmindernden Einfluss thermisch induzierter Gitterschwingungen, der Absorptionsfaktor A den Intensitätsverlust durch Absorptionseffekte innerhalb des Materials, der Flächenhäufigkeitsfaktor H den Effekt, dass verschiedene Netzebenen auf die gleiche Stelle des Zählrohrs abbeugen, und der Lorentz-Polarisationsfaktor den Einfluss der Strahldivergenz sowie des Intensitätsverlustes durch die Polarisation der gebeugten Strahlung. Außerdem hängt die Intensität von dem Volumenanteil einer Substanz innerhalb der Gesamtprobe ab.

Weitere Parameter, die die Intensität von Beugungsinterferenzen beeinflussen, sind:

- Kristallinität der Probe
- Teilchengröße
- Probenschichtdicke
- Oberflächenbeschaffenheit (Planheit der Probe)
- Textureffekte

2.1.5 Monochromatisierung von Röntgenstrahlen

In der Röntgendiffraktometrie wird monochromatische Strahlung benötigt.

- *Monochromatisierung durch Absorption an Metallfolien:*

Es wird eine Metallfolie gewählt, bei der die K_{β} -Linie der Cu Röntgenstrahlung knapp unterhalb der Absorptionskante des Filtermaterials liegt, die $K_{\alpha 1/\alpha 2}$ -Linien knapp oberhalb (Abb. 2.1.4). Dadurch wird eine selektive Schwächung der K_{β} -Linie erreicht. Es kommt auch zu einer teilweisen Unterdrückung der Röntgenbremsstrahlung.

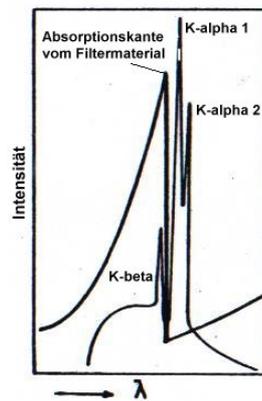


Abb. 2.1.4: Monochromatisierung durch Filter: durch selektive Absorption der K_{β} -Linie

- *Monochromatisierung durch Beugung:*

Einen höheren Grad der Monochromatisierung kann man durch den Einsatz von Kristallmonochromatoren aus Si, Ge oder Graphit erreichen. Die Netzebenen des Einkristalls werden dabei unter einem bestimmten Winkel θ so in den Strahlengang gebracht, dass nur die Wellenlänge der $K_{\alpha 1}$ Strahlung die Bragg-Bedingung $2d \sin\theta = n \lambda_{K\alpha}$ erfüllt. Alle anderen Linien und das kontinuierliche Bremsspektrum werden unterdrückt. Nachteilig ist der damit verbundene hohe Intensitätsverlust der Primärstrahlung.

2.1.6 Nachweis von Röntgenstrahlung

Röntgenstrahlen können prinzipiell photographisch oder mit Hilfe von Zählrohren detektiert werden. In der Pharmazie finden hauptsächlich Zählrohrverfahren Anwendung, wobei zwischen vier verschiedenen Typen unterschieden werden kann [2]:

- Proportionalitätszähler
- Szintillationszähler
- Halbleiterdetektoren
- Ortsempfindliche und Flächendetektoren

Der im Rahmen dieser Arbeit eingesetzte Detektor „X’Celerator“ zählt zu der Gruppe der Halbleiterdetektoren

2.2 Aufbau eines Röntgendiffraktometers

Prinzipiell wird zwischen Einkristall- und Pulverröntgendiffraktometern unterschieden, wobei hier nur auf die Pulververfahren mit Zählrohrregistrierung eingegangen werden soll. Eine ausführliche Darstellung aller möglichen Verfahren findet sich in der Literatur [2, 3].

Es gibt zwei Geometrietypen, die auf dem Fokussierungsprinzip basieren [4]:

- Bragg Brentano Geometrie mit festgelegtem Abstand zwischen Probe und Detektor und einem variablen Fokussierungskreis
- Seemann Bohlin Geometrie mit festgelegtem Fokussierungskreis und einem variablen Abstand zwischen Probe und Detektor

Das Fokussierungsprinzip beruht darauf, dass sich die von der Probe ausgehenden Interferenzen dann in der Detektorblende treffen, wenn sich der Brennfleck der Röhre, das Präparat sowie die Detektorblende stets auf dem Umfang eines gedachten Fokussierungskreises (Abb. 2.2.1) befinden. Da die Probenoberfläche stets plan ist und sich nicht der Krümmung des gedachten Fokussierungskreises anpassen kann, spricht man im Allgemeinen von Parafokussierung.

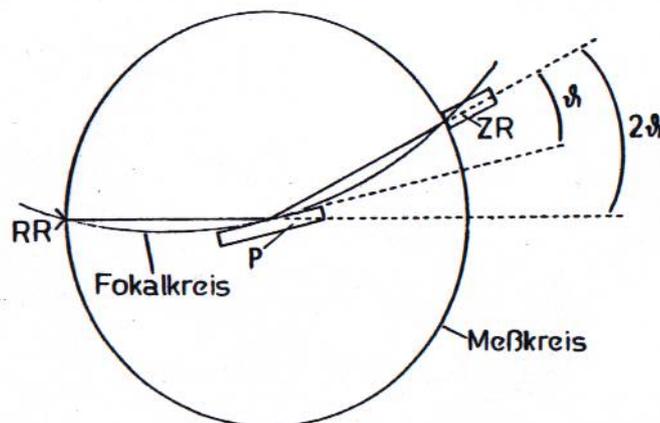


Abb. 2.2.1: Im Mittelpunkt des Messkreises befindet sich die Probe P, während der Brennfleck der Röhre (RR) und die Empfangsblende des Detektors (ZR) auf dem Messkreis liegen. Während der gesamten Messung befinden sich der Brennfleck der Röhre, das Präparat sowie die Detektorblende auf dem Umfang des gedachten Fokalkreises

Beide o.g. Geometrien können sowohl in Reflektion als auch in Transmission verwendet werden. Bei Messungen im Reflektionsbereich wandelt die Probe den von der Röntgenröhre abgestrahlten divergenten Strahl in einen konvergenten um, wodurch eine Fokussierung des gebeugten Strahls auf

einen Punkt (den Detektor) möglich wird. Im Gegensatz dazu ändert die Probe im Transmissionsmodus nicht die Divergenz eines Strahls, d.h. ein divergenter Primärstrahl verbleibt nach Passieren der Probe divergent. Um den Fokussierungsbedingungen dennoch zu genügen, muss durch einen Kristallmonochromator dafür gesorgt werden, dass der divergente Strahl der Röntgenröhre in einen konvergenten Strahl umgewandelt wird, der dann vom Detektor registriert wird (Abb. 2.2.2 a-b).

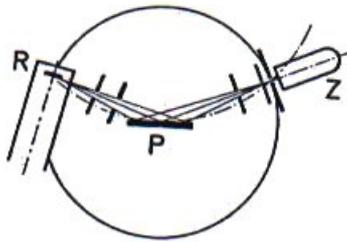


Abb. 2.2.2a: Bragg - Brentano Fokussierung in der Reflexionsgeometrie;
R: Röhre, P: Probe; Z: Zählrohr

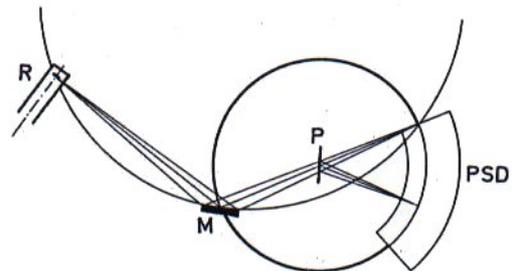


Abb. 2.2.2 b: Transmissionsdiffraktometer mit Primärmonochromator und positionsensitivem Detektor (PSD);
M: Kristallmonochromator

Beim Theta-2Theta Pulverdiffraktometer nach Bragg Brentano befindet sich eine ebene, pulverförmige Probe im Mittelpunkt des sog. Messkreises (Abb. 2.2.1), auf dem sich der Brennfleck der Röntgenröhre und die Blende des Zählrohres befinden. Die Probe nimmt durch eine langsame gleich bleibende Bewegung während der Aufnahme verschiedene Winkel zum einfallenden Röntgenstrahl ein, während sich der Detektor mit doppelter Winkelgeschwindigkeit entlang des Messkreises bewegt. Dadurch werden die Interferenzen einer Probe nicht mehr gleichzeitig, sondern hintereinander detektiert. Das Theta-Theta Goniometer, das im Rahmen dieser Arbeit benutzt wurde, basiert auf dem gleichen Prinzip, nur dass statt der Probe die Röhre bewegt wird.

Abb. 2.2.3 zeigt den apparativen Aufbau eines Pulverdiffraktometers nach Bragg Brentano. Die vom Strichfokus kommende charakteristische Strahlung durchtritt ein Blendensystem, bestehend aus einer Sollerblende und einer Divergenzblende, die die axiale bzw. laterale Divergenz begrenzen. Danach trifft die Röntgenstrahlung auf das ebene Präparat und wird an diesem unter einem bestimmten Winkel gebeugt. Der gebeugte Strahl durchläuft wiederum ein Blendensystem, das aus Schlitz- und Sollerblenden besteht, wird gefiltert bzw. monochromatisiert und trifft auf den Detektor.

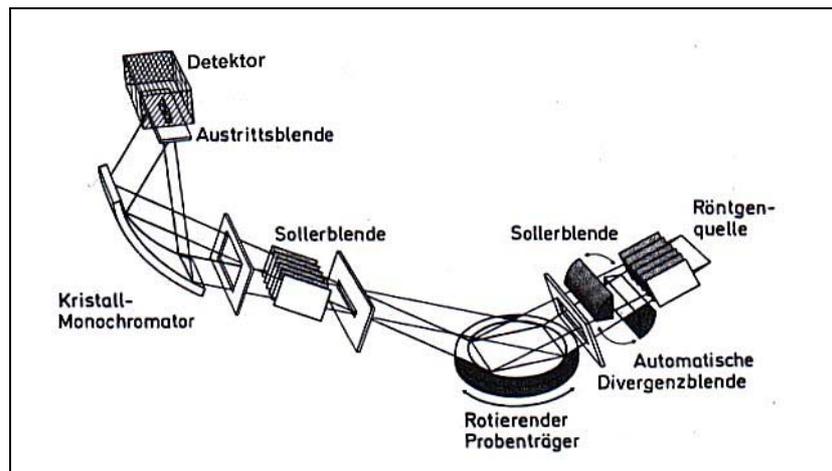


Abb. 2.2.3: Schematischer Aufbau eines Pulverdiffraktometers mit automatischer Divergenzblende und Kristallmonochromator

Aufgrund der strengen Fokussierungsbedingungen verursachen nur geringe Abweichungen vom Fokalkreis eine nicht reproduzierbare Veränderung im Diffraktogramm, da der gebeugte Strahl nicht mehr in der Detektorblende fokussiert. Häufigster Grund für solche Abweichungen ist eine unebene Probenoberfläche wie z.B. bei einer gewölbten Tablette. Dieser Fehler kann durch die Verwendung paralleler Röntgenstrahlung ausgeglichen werden.

2.3 Quantitative Auswertung von Röntgendiffraktogrammen

Liegen zwei oder mehrere kristalline Substanzen nebeneinander in der zu untersuchenden Probe vor, so sind die Interferenzen beider Komponenten im Röntgendiffraktogramm enthalten. Die Intensitäten der Linien sind dabei proportional zu ihrem Mengenanteil. Untersucht wird häufig der Kristallinitätsgrad einer Substanz, die polymorphe Umwandlung einer Modifikation in eine andere oder die quantitative Zusammensetzung eines Gemisches. Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über die angewandten quantitativen Methoden gegeben werden; für eine ausführliche Lektüre wird auf die entsprechend angegebene Literatur verwiesen.

2.3.1 Bestimmung der Kristallinität

Die Kristallinität ist definiert als der prozentuale Anteil kristalliner Substanz in einer Probe, die sowohl kristalline als auch amorphe Anteile enthält (2-Phasen-Modell) [5].

Die röntgenographische Bestimmung des Kristallinitätsgrades beruht darauf, die amorphen und kristallinen Phasenanteile des Beugungsdiagrammes quantitativ zu ermitteln. Die amorphen Bereiche teilkristalliner Festkörper erzeugen im Röntgendiffraktogramm ein oder mehrere Halos, deren integrale Intensität den Anteil der amorphen, ungeordneten Phase charakterisiert. Die integralen Intensitäten der kristallinen Reflexe charakterisieren demgegenüber den kristallinen Anteil.

Gitterstörungen wie der Einbau von Fremdbausteinen und Versetzungen, thermisch bedingte Gitterfehlordnungen sowie Gitterdefekte erster und zweiter Ordnung, die von einem wirklichen amorphen Anteil zu unterscheiden sind, können zum Streuuntergrund beitragen und werden bei der Bestimmung des Kristallinitätsgrades mit einigen Methoden nicht berücksichtigt.

2.3.1.1 Methode nach Hermans und Weidinger

Die Intensität der am kristallinen Anteil gebeugten Strahlung wird zur Gesamtintensität des Diffraktogramms in Beziehung gesetzt [6]:

$$X_{kr} = \frac{I_{kr}}{I_{kr} + I_{am}} = \frac{I_{kr}}{I_{ges}} \quad (\text{Gl. 2.3.1})$$

Zur Erzielung höherer Genauigkeit rechnen Nakai et al. [7] die erhaltenen Intensitäten in Massenanteile kristalliner (M_{kr}) und amorpher (M_{am}) Bereiche um:

$$X_{kr} = \frac{M_{kr}}{M_{kr} + M_{am}} = \frac{M_{kr}}{M_{ges}} = \frac{\int I_{kr} \theta d\theta}{\int I_{kr} \theta d\theta + (k_{am}/k_{kr}) \int I_{am} \theta d\theta} \quad (\text{Gl. 2.3.2})$$

k_{kr} und k_{am} sind Konstanten, die aufgrund der linearen Beziehung zwischen $\int I_{kr} \theta d\theta$ (Integralintensität des kristallinen Anteils) und $\int I_{am} \theta d\theta$ (Integralintensität des amorphen Anteils) graphisch aus der Steigung der entstehenden Geraden ermittelt werden können.

2.3.1.2 Methode nach Ruland

Von Ruland [8] stammt ein Verfahren, mit dem sowohl der Kristallinitätsgrad als auch die Gitterstörungen bestimmt werden können. Es beruht darauf, dass mehrere Winkelbereiche bestimmt werden, in denen die gesamte integrale Streuintensität unabhängig vom Ordnungszustand ist. Wenn keine Gitterstörungen auftreten, berechnet sich der Kristallinitätsgrad X'_{kr} aus dem Verhältnis der integralen Streuintensität unter den Kristallreflexen zur gesamten Streuintensität.

$$X'_{kr} = \frac{\int_{s_1}^{s_2} s^2 I_{kr}(s) ds}{\int_{s_1}^{s_2} s^2 I(s) ds} \quad (\text{Gl. 2.3.3})$$

mit $s = 2\sin\theta/\lambda$, θ = Winkel zwischen Netzebene und einfallendem bzw. gebeugtem Strahl, λ = Wellenlänge, I = Intensität und s_1 und s_2 = Integrationsgrenzen. Durch Gitterfehlstellen und thermische Vibration der Moleküle trägt ein Teil der in den kristallinen Regionen gestreuten Röntgenstrahlung zum amorphen Untergrund bei und geht somit den kristallinen Peaks verloren. Durch Einführung eines Korrekturterms, der die Gitterfehlordnungskonstante D enthält, kann dies im Intensitätsterm der „kristallinen Röntgenstreuung“ berücksichtigt werden. Dadurch lassen sich mit der Formel nach Ruland sowohl Gitterdefekte als auch reine amorphe Bereiche quantitativ berechnen [7, 8].

$$X_{kr} = X'_{kr} \times K; \quad K = \frac{\int_{s_1}^{s_2} s^2 \overline{f^2} ds}{\int_{s_1}^{s_2} s^2 \overline{f^2} D ds} \quad (\text{Gl. 2.3.4})$$

$\overline{f^2}$: mittlere quadrierte Amplitude des Atomformfaktors

2.3.1.3 Modifizierte Methode nach Hendus und Schnell

Es werden die Teilflächen der Kristallinterferenzen (F1 und F2) und die Fläche des amorphen Halos (F3) bestimmt. Der restliche Untergrund, der u.a. durch inkohärente Streuung hervorgerufen wird (z.B. Streuung der Röntgenstrahlen an der Luft sowie durch thermische Bewegung und räumliche Ausdehnung der Gitterbausteine), bleibt unberücksichtigt. Die Kristallinität berechnet sich dann zu:

$$X_{kr} = \frac{F1 + F2}{F1 + F2 + F3} \quad (\text{Gl. 2.3.5})$$

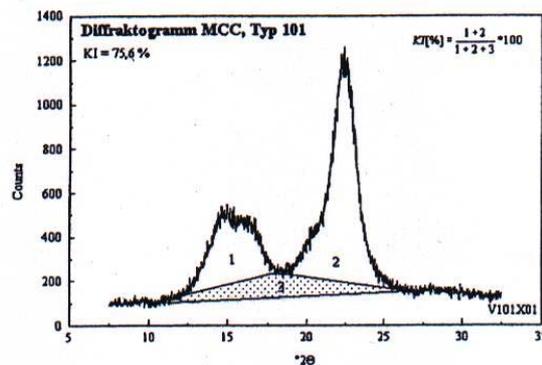


Abb. 2.3.1: Kristallinität von MCC [9]

Weitere Methoden:

Soltys et al [10] beschreiben den Kurvenverlauf des amorphen Halos bzw. der Peaks durch mathematische Funktionen, durch deren anschließende Kombination ein Diffraktogramm unbekanntem amorphen Gehalts numerisch beschrieben und ausgewertet werden kann. Die Beschreibung des amorphen Halos erfolgt dabei durch eine Mignot-Rondot Funktion [11] der

Form: $Y = B \cdot \left[\cos\left(\frac{x-a}{b}\right) \right]^\alpha \cdot \left[\frac{K^2}{K^2 + (x-a)^2} \right]$, wobei die Konstanten a , b , B , K und α über ein

numerisches Minimierprogramm bestimmt werden. Die Beschreibung der Peaks erfolgt durch eine

Gauß-Funktion des Typs: $Y = e^{-\frac{(x-m)^2}{n}}$.

Auf einem ähnlichen Prinzip basiert die Methode des „whole pattern fitting“ von Chen et al. [12]. Dabei wird das Spektrum der 100% amorphen und der 100% kristallinen Standardsubstanz über eine Simplexoptimierung solange an das Diffraktogramm der Probe angepasst, bis dieses optimal beschrieben wird. Aus dem Verhältnis der jeweiligen Beiträge des rein amorphen bzw. rein

kristallinen Diffraktogramms zum Spektrum der Probe erhält man dann den jeweiligen amorphen bzw. kristallinen Gewichtsanteil.

In den meisten Fällen werden zur Bestimmung der Kristallinität einer unbekannt Probe Kalibrierreihen herangezogen, die zuvor mit Hilfe von Vergleichsmustern bekannten Kristallinitätsgrades erstellt wurden. Dabei werden die Kalibrierproben so gewählt, dass sie hinsichtlich ihres Gehaltes sowie ihrer Partikelgröße und Partikelform der zu analysierenden Probe gleichen. Die quantitative Auswertung der bekannten Proben kann dann mittels oben genannter Methoden oder klassisch über die Peakfläche erfolgen, wobei eine Auswertung über die Fläche bei der Quantifizierung geringer amorpher Gehalte zu ungenau ist.

2.3.2 Quantitative Bestimmung eines Bestandteils im Multikomponentensystem

Für die quantitative Auswertung eines Zwei- oder Multikomponentengemisches stehen prinzipiell vier verschiedene Auswertmethoden zur Verfügung, die sog. Absorptions-Diffraktionsmethode, die Methode des internen Standards, die Methode des externen Standards sowie das „Whole pattern fitting“. Für die Anwendung der Absorptions-Diffraktionsmethode muss der Massenschwächungskoeffizient bekannt sein, der durch Berechnung aus den Bestandteilen einer Mischung oder durch Transmissionsmessung der Probe bestimmt werden kann. Will man dies vermeiden, kann eines der anderen Verfahren eingesetzt werden.

Die Basisgleichung der quantitativen Phasenanalyse lautet nach Klug und Alexander [1]:

$$I_{ij} = \frac{K'_{ij} x_j}{\delta_j \mu_{ges}^*} = \frac{K'_{ij} x_j}{\mu_{ges}^*} = \frac{K'_{ij} x_j}{\sum_{k=1}^n \mu_k^* x_k} \quad \text{mit } K'_{ij} = \frac{K'_{ij}}{\delta} \quad (\text{Gl. 2.3.6})$$

I_{ij} = Intensität des i-ten Beugungsreflexes der Phase j; δ_j = Dichte der Phase j;
 x_j = Massenkonzentration der Phase j; K_{ij} = Kalibrationskonstante;
 μ^* = Massenabsorptionskoeffizient der Mischung

Obwohl eine Mischung aus n Komponenten zusammengesetzt sein kann, kann sie als Zweistoffgemisch betrachtet werden, wobei Phase j (x_j) dem Analyten und Phase m ($1-x_j$) der Matrix entspricht. Da $\mu_{ges}^* = \mu_j^* \cdot x_j + \mu_m^* \cdot (1-x_j) = x_j \cdot (\mu_j^* - \mu_m^*) + \mu_m^*$, ergibt sich für die Intensität eines Beugungsreflexes i der Phase j:

$$I_{ij} = \frac{K'_{ij} c_j}{\delta_j [x_j (\mu_j^* - \mu_m^*) + \mu_m^*]} \quad (\text{Gl. 2.3.7})$$

2.3.2.1 Diffraktions-Absorptionsmethode

Setzt man die Intensität I_{ij} ins Verhältnis zu der Intensität der reinen Phase j als externen Standard,

so lassen sich K'_{ij} und δ_j eliminieren und es ergibt sich mit $(I_{ij})_0 = \frac{K'_{ij}}{\delta_j \mu_j^*}$ [1, 4]:

$$\frac{I_{ij}}{(I_{ij})_0} = \frac{x_j \mu_j^*}{x_j (\mu_j^* - \mu_m^*) + \mu_m^*} \quad (\text{Gl. 2.3.8})$$

$(I_{ij})_0$ und I_{ij} werden aus den entsprechenden Diffraktogrammen entnommen, μ_j^* und μ_m^* können aufgrund der chemischen Formel der Komponenten berechnet werden. Somit ist x_j erhältlich.

Besitzen μ_j^* und μ_m^* den gleichen Wert wie dies bei einer Mischung von Polymorphen der Fall ist, so vereinfacht sich die Gleichung zu:

$$\frac{I_{ij}}{(I_{ij})_0} = x_j \quad (\text{Gl. 2.3.9})$$

Dementsprechend kann über $K_{ij} = \frac{(I_{ij})_0}{\mu_j^*}$ die Kalibrationskonstante berechnet werden. Trotz der

Einfachheit dieser Gleichungen sollte man auf die Erstellung einer Kalibriergeraden nicht verzichten, da Textureffekte in der reinen Phase ganz anders ausgeprägt sein können als in einer Mischung, und damit für x_j bzw. K_{ij} verfälschte Werte erlangt werden.

Besitzen μ_j^* und μ_m^* unterschiedliche Werte, so kommt es zu Abweichungen in der Linearität zwischen $I_{ij}/(I_{ij})_0$ und x_j (s. Abb. 2.3.2).

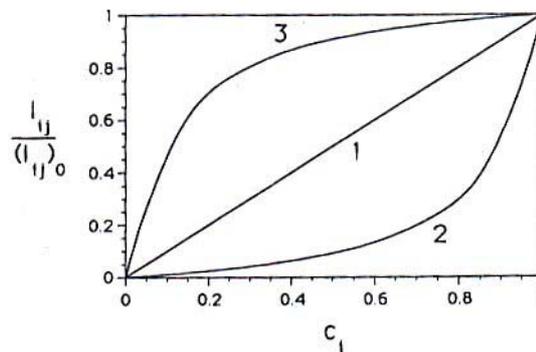


Abb. 2.3.2: Abhängigkeit der relativen Intensität von der Gewichtsfraktion x_j bei (1) $\mu_j^* = \mu_m^*$, (2) $\mu_j^* = 0.1 \mu_m^*$, (3) $\mu_j^* = 10 \mu_m^*$ [4]

In diesem Fall gilt folgende Beziehung:

$$x_j = \frac{I_{ij}}{(I_{ij})_0} \cdot \left(\frac{\mu_{ges}^*}{\mu_j^*} \right)^\alpha \quad (\text{Gl. 2.3.10})$$

wobei α Mikroabsorptionseffekte berücksichtigt.

Ist die durchschnittliche Partikelgröße der Mischungskomponenten kleiner als 10 μm , so ist $\alpha = 1$. Ist dies nicht der Fall, so kann α aus der Steigung der Geraden bestimmt werden, die entsteht, wenn $[\log x_j - \log [I_{ij}/(I_{ij})_0]]$ gegen $\log (\mu_{ges}^*/\mu_j^*)$ aufgetragen wird.

Die Kalibrationsgerade wird erhalten, indem $\frac{I_{ij}}{(I_{ij})_0} \cdot \left(\frac{\mu_{ges}^*}{\mu_j^*} \right)$ gegen x_j aufgetragen wird.

Voraussetzung für die Anwendbarkeit dieser Methode ist die Verfügbarkeit der reinen Phase j , mindestens ein aufgelöster Peak, sowie die Kenntnis aller Massenabsorptionskoeffizienten.

Will man auf die Verwendung der Reinstoffe verzichten, so bedarf es zur Analyse eines n -phasigen Gemisches mindestens n Proben derselben Phasen n in unterschiedlichen Proportionen zueinander, um die Kalibrationskonstanten zu ermitteln („Standardlose Methode“ [4]). Voraussetzung dabei ist die Gültigkeit der Stoffbilanzgleichung ($x_1 + x_2 + \dots + x_n = 1$), d.h. alle Proben dürfen nur die n identischen Bestandteile enthalten. Außerdem muss die quantitative Zusammensetzung der Proben unterschiedlich genug sein, um verlässliche Ergebnisse zu erhalten.

2.3.2.2 Methode des internen Standards

Bei dieser Methode wird ein Referenzmaterial (z.B. LiF oder ZnO) in bekannter Menge der zu analysierenden Probe beigelegt, und alle Reflexintensitäten des Diffraktogramms werden zu der Peakintensität der Standardsubstanz ins Verhältnis gesetzt [1, 4, 13]. Es gilt:

$$\frac{I_{ij}}{I_{hs}} = \frac{K_{ij} \cdot (1 - x_s) \cdot x_j}{K_{hs} \cdot x_s} = C \cdot x_j \quad (\text{Gl. 2.3.11})$$

I_{hs} = h -ter Reflex des internen Standards, I_{ij} = i -ter Reflex der j -ten Phase

Bei Auftragen von I_{ij}/I_{hs} gegen x_j ergibt sich eine Ursprungsgerade. Aufgrund der Unabhängigkeit von den Absorptionseigenschaften der Probe kann diese Methode für jedes Multikomponentensystem eingesetzt werden, sofern es pulverförmig vorliegt. Ausserdem werden bei der Analyse gerätebedingte Fehler automatisch mitberücksichtigt.

2.3.2.3 Additionsmethode

Diese Methode stellt eine Erweiterung der Methode des internen Standards dar [14]. Dabei wird die Substanz, die quantitativ erfasst werden soll, der Mischung nochmals in bekannter Menge zugesetzt. Prinzipiell muss keine Kalibrationsgerade erstellt werden, es kann auch eine einzelne Probe analysiert werden. Dazu sind insgesamt drei Messungen nötig [15]: Messung der Probe vor (I_v) und nach dem Zusatz (I_n) der Substanz, sowie Messung der reinen Substanz (I_0). Als analytischer Peak wird dabei ein Reflex gewählt, der nicht überlappend ist. Es gilt:

$$x_j = \frac{I_v}{I_0} \cdot \frac{I_0 - I_n}{I_n - I_v} \cdot \frac{G_n}{G_v} \quad (\text{Gl. 2.3.12})$$

G_v : Gewicht vor Doping
 G_n : Gewicht nach Doping

I_v : Intensität vor Doping
 I_n : Intensität nach Doping

I_0 : Intensität der reinen Phase j

Soll eine Kalibrationsgerade erstellt werden, wird die Reflexintensität des analytischen Peaks der Phase j zur Reflexintensität einer ebenfalls in der Probe befindlichen Phase k ins Verhältnis gesetzt und gegen die bekannte Menge der hinzugefügten Phase j y_j aufgetragen. Die Regressionsgerade wird anschliessend auf Null, d.h. keinen Zusatz der Phase j, extrapoliert (Abb.9); der erhaltene Wert entspricht der ursprünglichen Menge x_j der Phase j in der Probe [4, 14]. Es gilt:

$$\frac{I_{ij}}{I_{hk}} = K(x_j + y_j) \quad (\text{Gl. 2.3.13})$$

Angewendet werden kann diese Methode bei Pulverproben mit geringem bis mittlerem Analytgehalt. Auch hier erfolgt die Analyse unabhängig vom Massenschwächungskoeffizienten. Die hinzugefügte Menge sollte die Intensität des analytischen Peaks nicht mehr als zwei- bis dreifach verstärken.

2.3.2.4 Verdünnungsmethode

Es wird eine bekannte Menge inerten Materials zu der zu analysierenden Probe hinzugefügt, das weder in der Probe enthalten ist, noch mit dem analytischen Reflex der Phase j interferiert [4]. Es gilt:

$$x_j = \frac{x_d \cdot \mu_d^*}{(1 - x_d) \cdot \mu_j^*} \cdot \frac{(I_{ij})_n / (I_{ij})_0}{1 - (I_{ij})_n / (I_{ij})_v} \quad (\text{Gl. 2.3.14})$$

x_d : Gewichtsanteil des Verdünnungsmaterials

μ_d : Massenabsorptionskoeffizient des Verdünnungsmaterials

$(I_{ij})_n$: der i-te Reflex der Phase j nach Zusatz des Verdünnungsmaterials

$(I_{ij})_v$: der i-te Reflex der phase j vor Zusatz des Verdünnungsmaterials

Diese Methode ist v.a. bei Proben geeignet, die den Analyten in hoher Konzentration enthalten. Sie ist daher komplementär zur Additionsmethode.

2.3.2.5 Methode des externen Standards: *Quantitative Analyse über RIR-Werte*

Die bisherigen quantitativen Methoden beruhen darauf, dass die Intensität eines Reflexes der zu analysierenden Substanz registriert und anschließend zu der Intensität desselben Reflexes der Reinsubstanz oder der neu zusammengesetzten Probe mit bekanntem Analytgehalt ins Verhältnis gesetzt wurde. Darauf kann verzichtet werden, wenn die Peakintensitäten der diversen Phasen vor dem eigentlichen Vermessen der Probe unter Bezugnahme auf eine Referenzphase auf einen allgemeinen Maßstab skaliert werden. Dies erfolgt bei der Anwendung der RIR-Werte. RIR bedeutet Reference Intensity Ratio und ist definiert als das Verhältnis des stärksten Peaks einer Phase j zu dem stärksten Peak von Korund ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) bei CuK_α -Strahlung und parafokussierender Bragg Brentano Reflexionsgeometrie. RIR-Werte können aus verschiedenen Quellen wie der PDF Datendank, Literaturstellen oder durch eigene Messungen erhalten werden. Prinzipiell können sie experimentell oder durch Berechnung aus simulierten Pulverbeugungsdiagrammen bestimmt werden [16, 17]. Ihr Vorteil liegt darin, dass das aufwendige Erstellen von Kalibrierreihen zur Ermittlung der Kalibrationskonstanten unnötig wird. Der Probe wird keine Standardsubstanz zugesetzt.

2.3.2.6 Matrix flushing

Die Methode des sog. „Matrix flushing“ arbeitet mit RIR-Werten und basiert darauf, durch den Zusatz eines sog. „Flushing agent“ den störende Einfluss unterschiedlicher Massenabsorptionskoeffizienten zu beseitigen. Als Flushing Agent dient vorzugsweise Korund. Die Basisgleichung des Matrix Flushings lautet [18]:

$$x_j = x_f \cdot \frac{RIR_f}{RIR_j} \cdot \frac{I_j}{I_f} \quad (\text{Gl. 2.3.15})$$

x_f entspricht dem Gewichtsanteil des zugesetzten Flushing Komponente, RIR_f und I_f seinem zugehörigen RIR bzw. Intensitätswert. Wird als Flushing Agent Korund gewählt, so vereinfacht sich die Gleichung zu:

$$x_j = \frac{x_c}{RIR_j} \cdot \frac{I_j}{I_c} \quad (\text{Gl. 2.3.16})$$

x_c : Gewichtsanteil Korund; I_c : Intensität des Korundreflexes; RIR_j : RIR Wert der Phase j

Als Flushing Agent kann aber auch ein Bestandteil der Mischung gewählt werden, was die zerstörungsfreie Analyse einer Tablette erlaubt („Autoflushing“)[19]: Für die Analyse eines Mehrstoffgemisches gilt dann:

$$x_1 = \frac{1}{1 + \frac{RIR_1}{I_1} \cdot \left(\frac{I_2}{RIR_2} + \frac{I_3}{RIR_3} + \dots + \frac{I_n}{RIR_n} \right)} \quad (\text{Gl. 2.3.17})$$

I_1, I_2 etc. sind die Peakintensitäten des Leitpeaks, RIR_1, RIR_2 etc die RIR-Werte der jeweiligen Substanz.

Wird nun anstelle der klassischen RIR-Werte, die auf Korund als Referenzphase Bezug nehmen, ein bereits in der Probe befindlicher Stoff als Bezugssystem gewählt, so kann man die RIR Werte durch neue Konstanten („künstliche RIR-Werte“) ersetzen, die man experimentell selbst ermittelt hat [20]. Dadurch wird es möglich, die Probe mit Hilfe ihrer selbst zu analysieren:

$$x_1 = \frac{1}{1 + \frac{k_1}{I_1} \cdot \left(\frac{I_2}{k_2} + \dots + \frac{I_n}{k_n} \right)} \quad \text{mit} \quad k_j = \frac{x_{k.Ref.}}{x_j} \cdot \frac{I_j}{I_{k.Ref.}} \quad (\text{Gl. 2.3.18})$$

Dabei entspricht k_j dem künstlichen RIR-Wert, der aus einer bekannten Zusammensetzung der Referenzphase x_k und der Phasen x_j und den dazugehörigen Intensitätswerten I_k und I_j der analytischen Peaks berechnet werden kann.

2.3.2.7 Auswertung komplexer Spektren („whole pattern fitting“)

Die bisher erwähnten Methoden benötigen für jede quantitativ zu erfassende Mischungskomponente mindestens einen aufgelösten Peak. Tatsächlich sind solche Bedingungen bei der Analyse von Multikomponentenmischungen in der Regel nicht gegeben, d.h. es treten mehr oder weniger stark ausgeprägte Reflexüberlappungen auf. Prinzipiell existieren zwei Möglichkeiten für die Lösung dieses Problems. Die erste Möglichkeit besteht darin, die Überlappungen mittels Profilanpassung in die jeweiligen Intensitätsbeiträge der Einzelkomponenten zu zerlegen und diese anschließend nach einem der o.g. Verfahren auszuwerten. Die zweite Möglichkeit besteht, darin das gesamte Spektrum zur Auswertung heranzuziehen.

Profilanpassung [3, 4, 21]:

Bei der Profilanpassung werden für die Reflexe mathematisch einfach zu definierende Funktionen angegeben. Alle Messpunkte innerhalb eines Reflexes werden durch die Methode der kleinsten Quadrate an die zugrunde liegende Funktion angepasst. Die am häufigsten verwendeten Modelle sind die Pseudo-Voigt bzw. die Pearsson VII Funktion [3], die außer Reflexlage, -höhe und -breite auch die variable Flankenbreite eines Röntgenreflexes berücksichtigen. Die Pearsson VII Funktion tut dies durch einen entsprechenden Flankenparameter, während die Pseudo-Voigt Funktion das gewichtete Mittel zwischen einer Lorentz- und einer Gaußfunktion darstellt.

Whole pattern fitting [22 – 25]:

Die Methode des „Whole pattern fittings“ wurde 1969 erstmals von Rietveld [21] entwickelt und diente dazu, durch rechnerische Verfeinerung eines Pulverdiffraktogramms Strukturdaten zu erhalten, wie sie sonst nur durch Einkristallanalyse gewonnen wurden. Inzwischen wird diese Methode auch bei der quantitativen Auswertung von Röntgendiffraktogrammen eingesetzt. Das Prinzip beruht darauf, dass die berechneten Diffraktogramme der Einzelkomponenten solange miteinander kombiniert werden, bis das gemessene Beugungsspektrum der Probe optimal beschrieben und die Summe der Abweichungsquadrate minimal wird. Aus den so erhaltenen Skalierungsfaktoren der Einzelspektren kann auf die quantitative Zusammensetzung der Mischung geschlossen werden. Der Gewichtsanteil x der Phase j ist dann definiert zu:

$$x_j = \frac{S_j \delta_j}{\sum_{n=1}^n S_n \delta_n} \quad (\text{Gl. 2.3.19})$$

S_j : Skalierungsfaktor, wird durch die Rietveldanalyse erhalten

$\delta_j = (\text{ZMV})_j$: wahre Dichte der Phase j , die sich aus der Anzahl Z der Moleküle pro Elementarzelle, dem Molekulargewicht M und dem Volumen der Elementarzelle V berechnen lässt

Voraussetzung für die Anwendbarkeit dieser Gleichung ist, dass sich alle Gewichtsanteile der Mischung zu eins aufaddieren. Ist dies durch das Vorhandensein einer strukturell unbekanntem Phase (z.B. amorph) nicht der Fall, so muss ein interner Standard in bekannter Menge hinzugefügt werden, um einen zusätzlichen Parameter K zu berechnen:

$$K = \frac{S_{is} \delta_{is}}{x_{is}} \quad (\text{Gl. 2.3.20})$$

S_{is} ist der Skalierungsfaktor, δ_{is} die Dichte und x_{is} der Gewichtsanteil des internen Standards.

Mit Hilfe von K können dann die Gewichtsanteile der übrigen Phasen berechnet werden:

$$x_j = \frac{S_j \delta_j}{K} \quad (\text{Gl. 2.3.21})$$

Insgesamt besteht bei dem „Whole pattern fitting“ nicht die Möglichkeit, nur einen bestimmten Bestandteil quantitativ zu erfassen, sondern es werden alle Phasen, die in der Probe enthalten und durch Strukturdaten beschrieben sind, simultan analysiert. Der Vorteil besteht darin, dass Fehler durch Vorzugsorientierung oder Mikroabsorption in der Strukturverfeinerung berücksichtigt werden.

2.4 Probleme der quantitativen Röntgendiffraktometrie

Die meisten Substanzen, die in der Pharmazie zum Einsatz kommen, sind organischer Natur. Da die Elementarzellen organischer Stoffe groß sind und eine relativ geringe Symmetrie aufweisen, führt dies zu Röntgenreflexen im Kleinwinkelbereich und komplexen Beugungsmustern. Dies hat den Nachteil, dass eine qualitative oder quantitative Auswertung durch Peaküberlappungen und stark abweichende Peaksymmetrie im Kleinwinkelbereich erschwert wird. Ein zusätzliches Problem stellt die Neigung organischer Materialien dar, aufgrund ihrer häufig plättchen- oder nadelförmigen Gestalt eine Vorzugsorientierung im Probenträger einzunehmen. Dadurch kommen einige Netzebenen häufiger in Reflexionsstellung als andere, wodurch die Intensitäten innerhalb des Diffraktogramms stark verfälscht werden. Ein weiteres Problem beruht auf den geringen Absorptionseigenschaften von organischem Material, was dazu führt, dass die Röntgenstrahlen tief in das Probenmaterial eindringen können. Dies führt zu Fehlern durch Probentransparenz und Störstrahlung durch den Probenträger. Im Folgenden sind die möglichen Einflüsse auf das Röntgenspektrum aufgelistet:

2.4.1 Effekt der Partikelgröße

Damit ein Pulverdiffraktogramm dem Beugungsspektrum des dazugehörigen Einkristalls entspricht, muss durch eine geeignete Partikelgröße eine zufällige Verteilung der Kristallitorientierung im Pulverbett und eine adäquate statistische Verteilung gewährleistet sein [26]. Deshalb sollte eine Teilchengröße von 10 μm nicht überschritten werden. Bei einer Teilchengröße $> 10 \mu\text{m}$ sind in der Probe zu wenig kohärente Bereiche für die Beugung des Primärstrahls vorhanden; außerdem kommt es zu einer gegenseitigen mechanischen Behinderung der einzelnen Teilchen, so dass keine statistische Orientierungsverteilung mehr vorliegt. Die Konsequenz ist ein Abweichen der relativen Reflexintensitäten zueinander und eine unruhigere Linienstruktur. Bis zu einem gewissen Grad können diese Effekte durch die Drehung der Probe um ihre eigene Achse („sample spinning“) kompensiert werden. Die Partikelgröße spielt eine wesentliche Rolle bei Textur-, Extinktions- und Mikroabsorptionseffekten.

2.4.2 Vorzugsorientierung (Textur)

Ist die Orientierung der Kristallite im Pulverbett nicht mehr statistisch verteilt, liegt eine Vorzugsorientierung vor, was nicht reproduzierbare Änderungen der Reflexintensitäten zur Folge hat [4, 27]. Um dies zu vermeiden, sollte die Partikelgröße auf $< 10 \mu\text{m}$ reduziert werden. Allerdings kann durch den Mahlprozess eine unerwünschte Phasentransformation verursacht

werden. In diesem Fall können Textureffekte durch ein Beladen des Probenträgers von der Rückseite („backloading“) oder durch Vermengen der Probe mit Aerosil oder Korkmehl verkleinert werden. Das Aufbringen des Pulvers auf eine Haftschrift ist aufgrund der geringen Substanzmenge für quantitative Analysen eher ungeeignet. Eine Drehung der Probe während der Aufnahme, d.h. das sample spinning, trägt auch zur Minimierung von Textureffekten bei.

2.4.3 Primäre Extinktion

Die Peakintensität einer Substanz, die mit hohem Perfektionsgrad kristallisiert ist, nimmt ab einer Partikelgröße $> 15 \mu\text{m}$ infolge Doppelreflexion an den Netzebenen ab (Abb. 2.4.1) [4]. Der doppelreflektierte Strahl K_2 ist zum einfallenden Strahl K_0 phasenverschoben und schwächt dadurch dessen Intensität, wodurch weniger Intensität zu den weiter innengelegenen Netzebenen gelangt, und deren gebeugte Intensität abnimmt.

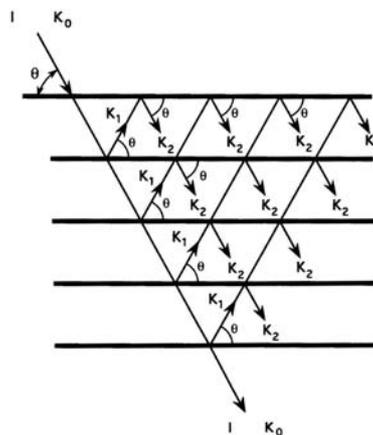


Abb. 2.4.1: Primäre Extinktion eines Röntgenstrahls: Doppelreflexion der Strahlen an darüberliegenden Netzebenen und daraus resultierende Phasenverschiebung zum Primärstrahl

2.4.4 Mikroabsorption

Bei Fehlern durch Mikroabsorption [4, 27] werden die Intensitätsschwankungen durch starke Unterschiede der Massenabsorptionskoeffizienten und/oder der Partikelgrößen verursacht. Auch hier gilt: je kleiner die Partikelgröße, desto geringer der Einfluss der Mikroabsorption. Da die meisten organischen Substanzen im Allgemeinen nur geringe Absorptionskoeffizienten aufweisen, die sich nur gering unterscheiden, ist dieser Effekt in der Regel vernachlässigbar.

2.4.5 Statistische Genauigkeit der Zählrate

Die statistische Genauigkeit der quantitativen Analyse [14] hängt von der Präzision der gemessenen Integralintensität ab. Für N Counts beträgt die Standardabweichung $\sigma(N) = (N)^{1/2}$. Um die Präzision zu verbessern, muss also die Zählzeit pro Schritt erhöht werden.

2.4.6 Probentransparenz

Das Phänomen der Probentransparenz [4] tritt v.a. bei Stoffen mit kleinen Absorptionskoeffizienten auf und dementsprechend auch bei pharmazeutischen Substanzen. Die Reflexion des Primärstrahls an Netzebenen tief in der Probe kommt einer Abweichung der Probenoberfläche vom Fokussierungskreis gleich, was zu einer Peakverbreiterung in Richtung der kleineren Winkel führt. Dadurch sinkt die Auflösung, und die Peakposition wird falsch bestimmt

2.4.7 Probenpräparation

Das Auftreten einiger Fehler hängt u.a. auch von der korrekten Präparation der Probe ab. So kann durch die Beladung des Probenträgers von der Rückseite Vorzugsorientierung reduziert werden. Ausserdem sollte für eine plane und glatte Oberfläche gesorgt werden, damit die Fokussierungsbedingung eingehalten wird und es nicht zu Peakverschiebungen und Intensitätsänderungen kommt. Unregelmässigkeiten in der Oberfläche können durch die Verwendung von paralleler Röntgenstrahlung ausgeglichen werden.

2.4.8 Instrumentbedingte Fehler

Für quantitative Messungen müssen instrumentbedingte Fehler wie Schwankungen in der Intensität des primären Röntgenstrahls ausgeschlossen bzw. kontrolliert werden. Dies geschieht durch die regelmäßige Vermessung einer Standardsubstanz (Si). Wird eine Veränderung festgestellt, so müssen die Spektren um den relativen Intensitätsverlust korrigiert werden. Systematische Fehler, die sich durch die Höhendivergenz des Primärstrahls, der Breite des Detektorspaltes oder aus spektralen Verunreinigungen der verwendeten Strahlung ergeben, sind - bei unverändertem Versuchsaufbau - als konstant anzusehen.

2.5 Einsatzgebiete der Röntgendiffraktometrie in der Pharmazie

Über 85% der pharmazeutischen Darreichungsformen enthalten Wirk- und Hilfsstoffe in fester Form, deren physikochemische und mechanische Eigenschaften wie Fließfähigkeit, Tablettierbarkeit, Löslichkeit oder Lagerstabilität von der Kristallstruktur abhängen. Die Röntgendiffraktometrie als klassisches Kristallstrukturanalysenverfahren ist daher besonders geeignet, über eine vorliegende Kristallstruktur oder deren Änderung Aufklärung zu verschaffen.

Im Allgemeinen kann ein Feststoff in amorpher, teilkristalliner oder kristalliner Form vorliegen, wobei die kristalline Phase in verschiedenen polymorphen oder pseudopolymorphen Formen auftreten kann. Unter Polymorphie versteht man hierbei die Fähigkeit einer Substanz, bei gleich bleibender chemischer Zusammensetzung in unterschiedlichen Kristallformen zu kristallisieren, wovon eine bei Raumtemperatur die stabilste ist. Je nach Kristallisationsbedingung kann statt der stabilen auch eine andere Kristallform entstehen, die dann als metastabil zu bezeichnen ist, da sie trotz ihrer thermodynamischen Instabilität der stabilen Form gegenüber existiert. Dies ist auf eine kinetische Hemmung der Phasentransformation zurückzuführen, die jedoch unter bestimmten Bedingungen, wie z.B. feuchter Lagerung oder mechanischer Beanspruchung, überwunden werden kann. Der Vorteil einer metastabilen oder amorphen Form besteht darin, dass sie aufgrund ihres höheren Energiegehaltes eine verbesserte Löslichkeit und damit eine verbesserte Bioverfügbarkeit zeigt. Der Nachteil ist, dass durch den pharmazeutischen Hersteller nachgewiesen werden muss, dass sich der Wirkstoff während der Verarbeitung und der sich anschließenden Lagerung nicht umwandelt oder rekristallisiert. Dieses Monitoring kann mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie in Kombination mit anderen Methoden wie der Raman oder IR Spektroskopie durchgeführt werden.

Angewendet wird die Röntgendiffraktometrie auf die Analyse von reinen Wirk- und Hilfsstoffen sowie auf die ihrer Mischungen [14]. Bei den Reinsubstanzen geht es vor allem darum, die Identität, Reinheit bzw. Kristallinität eines Stoffes festzustellen. Mischungen werden auf ihre qualitative und – im Falle des Wirkstoffs – auch quantitative Zusammensetzung geprüft. Im Mittelpunkt stehen in der Regel Polymorphieuntersuchungen. Dabei soll geklärt werden, welche polymorphe Form vorliegt, ob sie durch eine andere Form verunreinigt ist und ob sie sich bei ihrer Verarbeitung zur fertigen Darreichungsform oder während der anschließenden Lagerung verändert.

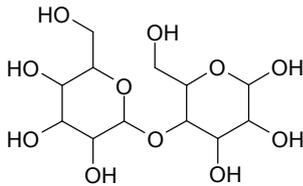
Um vorab die Lagerstabilität einer Formulierung abschätzen zu können, werden real-time in situ Haltbarkeitsstudien in der Temperatur-Feuchte-Kammer des Röntgendiffraktometers durchgeführt, bei denen eine Phasentransformation unter bestimmten klimatischen Bedingungen durch

regelmäßige Aufnahme von Diffraktogrammen erfasst und hinsichtlich ihrer Kinetik ausgewertet werden kann.

3 MATERIALIEN UND METHODEN

3.1 Materialien

3.1.1 Lactose



Lactose ist ein reduzierendes Disaccharid, bei dem ein Molekül Galactose β -1,4-glykosidisch mit einem Molekül Glucose verknüpft ist. Es kommt in zwei Anomeren, der α - und der β - Form, vor. Beim Auskristallisieren unterhalb von $93,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ erhält man das Monohydrat der α -Lactose, oberhalb von $93,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ die wasserfreie β -Lactose [5]. Die wasserfreie, stabile Form der α -Lactose erhält man durch Erhitzen des Monohydrats auf über $130\text{ }^{\circ}\text{C}$, unterhalb dieser Temperatur ($110 - 130\text{ }^{\circ}\text{C}$) entsteht eine instabile Form.

Die in der Pharmazie am häufigsten verwendete Form ist α -Lactose-Monohydrat, das häufig als Füllmittel in Tabletten und Kapseln eingesetzt wird. Es hat einen Wassergehalt von ca. 5 %, der sich aus dem Kristallwasser und dem absorptiv gebundenen Wasser (ca. 0.1 – 0.2 %) zusammensetzt. Seine Kristallstruktur und das dazugehörige Röntgendiffraktogramm sind in Abb. 3.1.1 dargestellt.

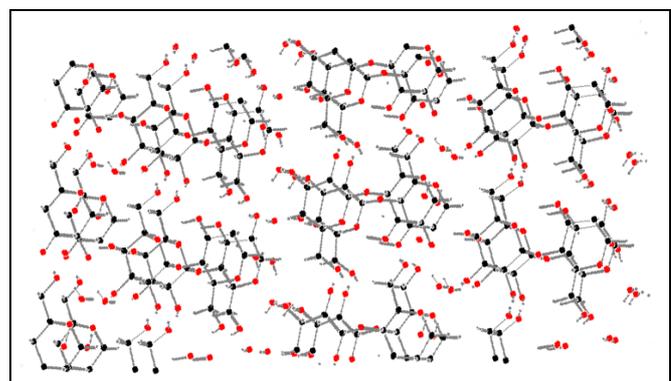
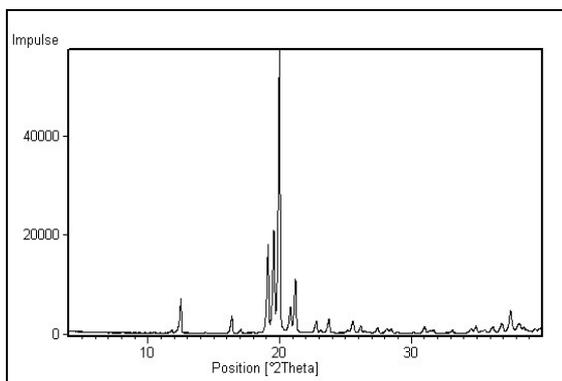


Abb. 3.1.1: Röntgendiffraktogramm und Kristallstruktur von α -Lactose-Monohydrat (monoklin)

α -Lactose-Monohydrat wird in gesiebter, gemahlener, agglomerierter und sprühgetrockneter Form vertrieben [28]. Die kristallinen, gesiebten Produkte finden v.a. als Kapselfüllmaterial und Trägerstoff in Pulverinhalatoren Anwendung. Sie besitzen auf ihrer Oberfläche eine monomolekulare Absorptionsschicht, die mögliche Verunreinigungen aus dem Herstellungsprozess und etwas amorphes Material enthalten kann. Dies ist bei ihrem Einsatz in Pulverinhalatoren von Bedeutung, bei denen der mikronisierte Wirkstoff reversibel und möglichst reproduzierbar an den Lactoseträger gebunden sein muss. Die vermahlenden Produkte werden vor allem für die Feuchtgranulierung eingesetzt, die agglomerierten und sprühgetrockneten für die Direkttablettierung. Durch die poröse Struktur der agglomerierten Lactosen erhalten die Produkte plastische Verformungseigenschaften. Das gleiche gilt für die sprühgetrockneten Produkte, bei denen amorphe Feststoffbrücken für das gute Verformungsverhalten sorgen. Der Nachteil des amorphen Anteils besteht darin, dass Inkompatibilitäten wie die Maillardreaktion schneller auftreten und zu unerwünschten Verfärbungen in der Tablette führen können [29].

Die wasserfreie Form der α -Lactose kann auch zur Tablettierung eingesetzt werden. Sie ist hygroskopischer als das Monohydrat und wandelt sich bei $> 70\%$ rF in dieses um. β -Lactose findet nur in der USP Verwendung.

Da die Tabletten der wasserfreien Lactosen im Vergleich zu der wasserhaltigen Form einen schlechteren Zerfall zeigen, werden sie seltener als Füllmaterial eingesetzt.

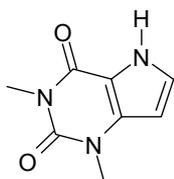
In der folgenden Tabelle (Tab. 3.1.1) sind die untersuchten Lactosen der Firma Meggle zusammengestellt:

Produkt	Partikelgröße (μm)	Eigenschaften
SorboLac 400	d_{90} : 38	gemahlen
GranuLac 70	d_{90} : 212	gemahlen
GranuLac 140	d_{90} : 106	gemahlen
GranuLac 200	d_{90} : 75	gemahlen
GranuLac 230	d_{90} : 63	gemahlen
PrismaLac 40	d_{50} : 425	gesiebt
CapsuLac 60	d_{50} : 250	gesiebt
SacheLac 80	d_{50} : 180	gesiebt
SpheruLac 100	d_{50} : 150	gesiebt
InhaLac 70	d_{50} : 212	gesiebt
InhaLac 120	d_{50} : 125	gesiebt
Inhalac 230	d_{50} : 63	gesiebt
Tablettose 70	d_{50} : 212	agglomeriert
Tablettose 80	d_{50} : 180	agglomeriert
Tablettose 100	d_{50} : 150	agglomeriert
FlowLac 100	d_{50} : 150	sprühgetrocknet

Tab. 3.1.1: Lactose Monohydrate der Firma Meggle: d_{50} bzw. d_{90} entsprechen einem Siebdurchgang von 50 bzw. 90 % durch ein Sieb entsprechender Maschenweite

Amorphe Lactose kann sich anteilig bei der Herstellung oder Verarbeitung kristalliner Lactosen bilden, wenn das Kristallgitter durch mechanische Einwirkung angegriffen und zerstört wird. Die schnelle Fällung einer Lactoselösung durch Sprüh- oder Gefriertrocknung führt – je nach Ausgangskonzentration und Geschwindigkeit der Fällung – zu rein amorphen oder teilkristallinen Produkten. Der amorphe Anteil führt zu einer Zunahme von Komprimier- und Kompaktierbarkeit, durch die Erhöhung der Hygroskopizität jedoch auch zu einem verminderten Fließverhalten der Tablettiermischung. Auch die Bioverfügbarkeit wird beeinflusst: der höhere Energieinhalt der amorphen Phase bedingt eine bessere Löslichkeit und damit ein verbessertes Auflösungsverhalten der Tablette. Andererseits ist damit aber auch eine erhöhte Reaktivität und damit Instabilität gegeben. Da außerdem immer mit einer Festphasenumwandlung zur stabileren, kristallinen Form gerechnet werden muss, ist der Einsatz amorpher Formen mit einer gewissen Unsicherheit verbunden.

3.1.2 Theophyllin



Theophyllin ist ein bekanntes Bronchospasmolytikum und wird in Form von Tabletten, Kapseln oder Pulverinhalatoren bei obstruktiven Atemwegserkrankungen eingesetzt [30]. Aufgrund seiner geringen therapeutischen Breite [31] sind eine korrekte Dosierung und eine reproduzierbare Freisetzung aus der Arzneiform von großer Bedeutung. Als Xanthinderivat gehört Theophyllin allerdings zu den Arzneistoffgruppen, bei denen Polymorphie- sowie Pseudopolymorphiephänomene gehäuft anzutreffen sind [32]. Je nachdem, welche Form eingesetzt wird und welchen Veränderungen sie während der Herstellung unterliegt, verändert sich auch das Löseverhalten und damit die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffs.

Prinzipiell bildet Theophyllin zwei enantiotrope Modifikationen und ein Hydrat [33]. Ausserdem existiert noch eine metastabile Form, die sich der stabilen Form des Anhydrats gegenüber monotrop verhält [34]. Offizinell sind das Monohydrat sowie die stabile wasserfrei Form [30].

Theophyllin kristallisiert aus Wasser als Monohydrat in Form farbloser, monokliner Nadeln oder Tafeln. Das Kristallwasser wird bei 100 – 105 °C vollständig abgegeben, so dass bei 110 °C und

unter reduziertem Druck die stabile Form des Anhydrats hergestellt werden kann. Die enantiotrope Form des Anhydrats („Hochtemperaturform“) bildet sich nur unter drastischen Bedingungen (in hermetisch verschlossenem Behältnis bei 270 °C [33]) aus der bei Raumtemperatur thermodynamisch stabilen Form und ist daher irrelevant für die Praxis. Das metastabile Anhydrat entsteht dagegen bereits unter üblichen klimatischen Bedingungen durch Dehydratation von Theophyllin Monohydrat bei erhöhter Temperatur (ab 40 °C), geringer Feuchte oder reduziertem Druck. Es ist nicht rein gewinnbar, sondern bildet sich anteilig neben der stabilen Form, in die es sich mit der Zeit auch wieder umwandelt (Abb. 3.1.2).

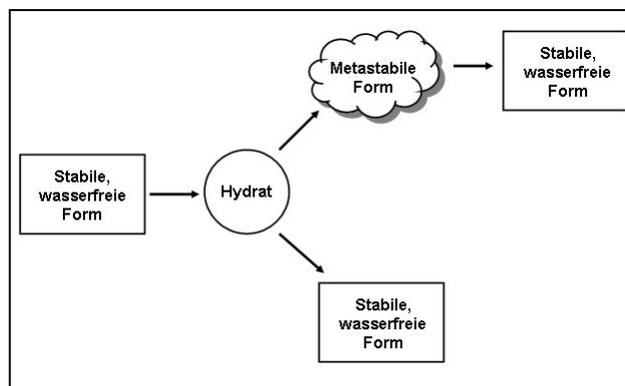


Abb. 3.1.2: Mögliche Phasentransformationen von Theophyllin: unter dem Einfluss hoher Feuchte wandelt sich die stabile, wasserfreie Form in das Monohydrat um, aus dem sich während des nachfolgenden Trocknens sowohl das metastabile als auch das stabile Anhydrat bilden. Die metastabilen Anteile kristallisieren bei Lagerung oder weiterer Verarbeitung wieder in die stabile Form um.

Die obige Abbildung ist ein Beispiel für die Phasentransformationen des Theophyllins bei der Feuchtgranulierung [35] oder Pelletierung [36]. Durch die Hydratation der wasserfreien Form verschlechtert sich ihre Löslichkeit [34, 36, 37]. Diese wird auch durch Trocknung nicht zurückgewonnen, da sich die anteilig bildende metastabile Form im Gegensatz zum stabilen Anhydrat bei Kontakt mit Darmsaft schneller in das Monohydrat umwandelt, als dass es sich löst [38]. Die Dehydratation des Monohydrats kann außer durch geringe relative Feuchte und erhöhte Temperatur auch durch mechanische Einwirkung wie Vermahlung [39] oder Tablettierung [40, 41] hervorgerufen werden. Je nach Mahldauer oder angewandter Presskraft ist der Kristallwasserverlust unterschiedlich stark ausgeprägt. Bei erhöhter Feuchte bildet sich das Monohydrat zwar zurück, hat jedoch im Vergleich zum ursprünglichen Produkt an Stabilität verloren, da das Kristallwasser durch die Gitterdefekte nicht mehr so fest gebunden werden kann [39] und dementsprechend leicht wieder entweicht.

Als Ausgangsmaterial für die Untersuchungen in dieser Arbeit dienten mikronisiertes Theophyllinhydrat sowie Theophyllinmonohydrat von BASF, deren Kristallstruktur mit dazugehörigem Röntgendiffraktogramm in Abb. 3.1.3 und 3.1.4 dargestellt ist.

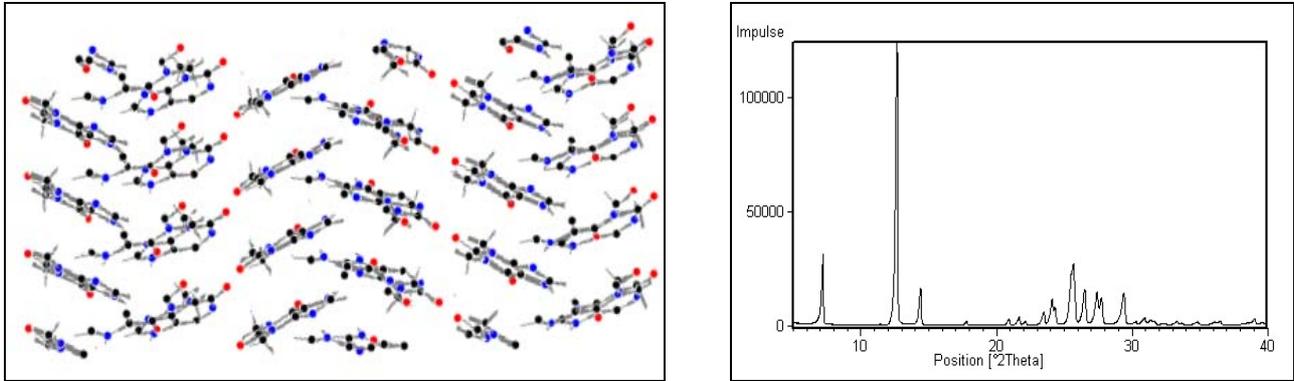


Abb. 3.1.3: Kristallstruktur und Röntgendiffraktogramm von Theophyllinhydrat (orthorhombisch P); die planaren Moleküle sind entlang ihrer [010] Richtung geordnet und zur (010) Netzebene um 26,05° geneigt [42]

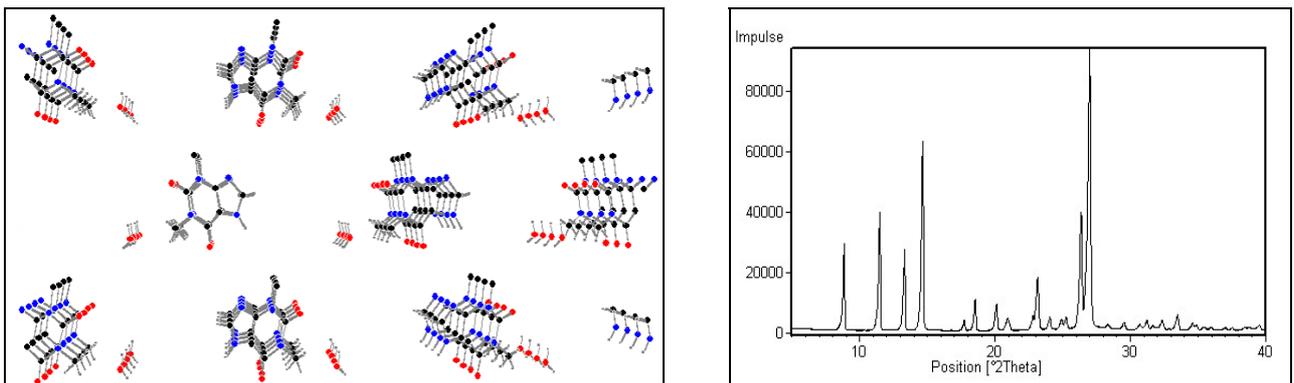


Abb. 3.1.4: Kristallstruktur und Röntgendiffraktogramm von Theophyllinmonohydrat (monoklin); die Wassermoleküle formen unendliche Ketten im Kristall und sind durch Wasserstoffbrücken an die umgebenden Theophyllinmoleküle gebunden [43]

3.1.3 Calciumhydrogenphosphatanhydrat, Calciumhydrogenphosphatdihydrat



Wasserfreies (DPCA) und wasserhaltiges (DPCD) Calciumhydrogenphosphat werden sowohl als Füllmaterial für Kapseln und Tabletten als auch als Calciumquelle für die Nahrungsergänzung [29] verwendet. Für die Direktverpressung kommen grobkörnige, für die Feuchtgranulation oder Walzenkompaktierung gemahlene Produkte zum Einsatz. Beide Substanzen sind nicht

hygroskopisch und bei Raumtemperatur stabil. Während das Anhydrat keine Umwandlungstendenz zur wasserhaltigen Form zeigt, kann es umgekehrt jedoch unter bestimmten Bedingungen (hohe Umgebungsfeuchte) zum Kristallwasserverlust kommen [29, 44 - 47].

DPCD und DPCA werden im Allgemeinen aus Calciumoxid, Calciumcarbonat oder Calciumhydroxid durch Fällung mit Phosphorsäure gewonnen [44]. Bei Temperaturen $> 70\text{ °C}$ bildet sich vorzugsweise das trikline DPCA, unterhalb von 45 °C das monokline DPCD [45].

Die bei der Herstellung von DPCD gewählten Bedingungen wie Temperatur, Ausgangskonzentration und Fällrate bestimmen seine späteren Eigenschaften vor allem hinsichtlich seiner Kristallstruktur, Partikelgröße und -form sowie seiner Anfälligkeit gegenüber Kristallwasserverlust bei niedriger Temperatur und hoher Feuchte [44, 49]. Der zuletzt genannte, autokatalytisch induzierte Kristallwasserverlust ist einer der Hauptgründe für die Änderung der physikochemischen Eigenschaften und des Freisetzungsverhaltens einer fertigen Arzneiform während der Lagerung. Außerdem kann das freigesetzte Kristallwasser den möglicherweise hydrolytisch empfindlichen Wirkstoff schädigen oder ihn in sein Hydrat verwandeln. Aufgrund dieser Abhängigkeit vom Herstellungsprozess spielt das Herkunftsland von DPCD eine Rolle [49].

In dieser Arbeit wurden sowohl die Reinsubstanzen von DPCD bzw. DPCA (Emcompressdihydrat bzw. Emcompressanhydrat, Penwest Pharmaceuticals Ltd., UK) als auch die 1:1 Mischungen dieser Substanzen mit Theophyllinanhydrat bzw. Theophyllinmonohydrat bei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen auf entsprechend stattfindende Umwandlungen und mögliche Inkompatibilitäten (Übergang von Kristallwasser von einem Stoff auf den anderen) untersucht. Die folgenden Abbildungen (Abb. 3.1.5 und 3.1.6) zeigen die Röntgendiffraktogramme von DPCD und DPCA:

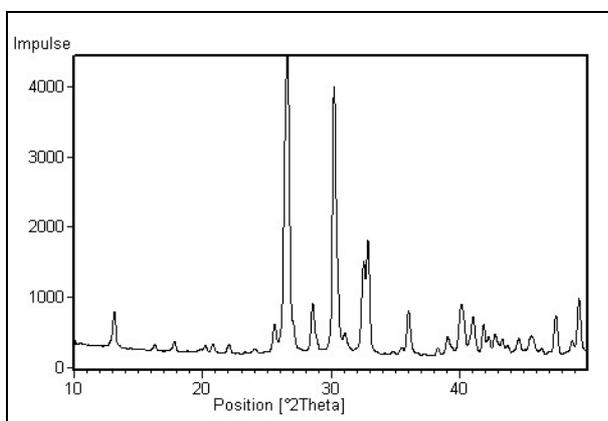


Abb. 3.1.5: Röntgendiffraktogramm von DPCA

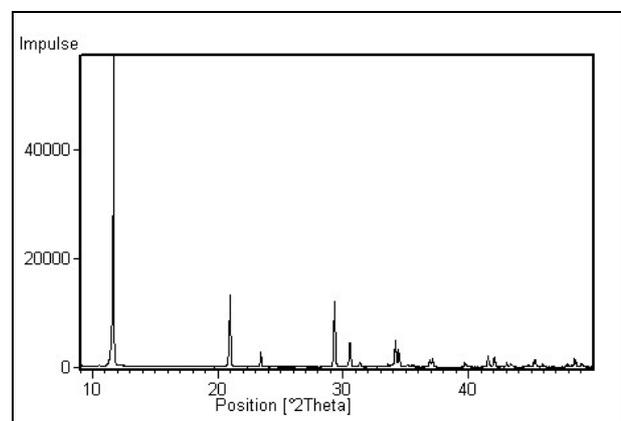
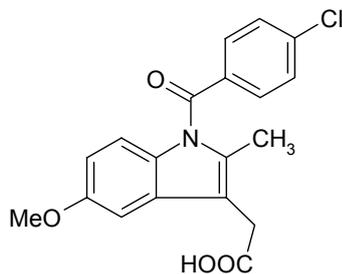


Abb. 3.1.6: Röntgendiffraktogramm von DPCD

3.1.4 Indomethacin



Indomethacin zählt zu den nichtsteroidalen Antirheumatika und wird medizinisch vorwiegend als Antiarthritikum und Antiphlogistikum eingesetzt.

Durch Kristallisation aus verschiedenen Lösungsmitteln organischer und wässriger Art können verschiedene polymorphe Formen sowie einige Solvate gewonnen werden. Außerdem existiert noch eine bei geringer Temperatur und Feuchte relativ stabile, amorphe Form. Über die genaue Anzahl der Polymorphen herrscht immer noch Ungewissheit, einige Gruppen berichten von drei [50], andere von vier oder mehr Formen [51, 52], wobei die Angaben z.T. widersprüchlich sind. Als gesichert gelten die α - und die γ -Form, wobei letztere die thermodynamisch stabile Form bei Raumtemperatur darstellt und eine im Vergleich zur α -Form schlechtere Löslichkeit besitzt [53]. Statt mit „ α “ bzw. „ γ “ werden die beiden Formen in der Literatur auch mit „II“ (metastabil) bzw. „I“ (stabil) bezeichnet. Die sog. β – Form, die als erstes von Yamamoto [50] beschrieben wurde, ist ein Benzen-Solvat. Bei den übrigen in der Literatur gefundenen „Polymorphen“ handelt es sich in der Regel ebenfalls um Solvate oder um Inklusionskomplexe mit Cyclodextrin [51].

Das in den Arzneibüchern aufgeführte Indomethacin entspricht der γ -Form, was durch ein IR-Spektrum überprüft wird.

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob es möglich ist, über eine Kalibrierreihe den Indomethacingehalt in einer unzerstörten Tablette zu bestimmen. Um eine mögliche Phasentransformation während der Tablettierung zu vermeiden, wurde die thermodynamisch stabile γ -Form (Synopharm) eingesetzt, deren Röntgenspektrum in Abb. 3.1.7 zu sehen ist:

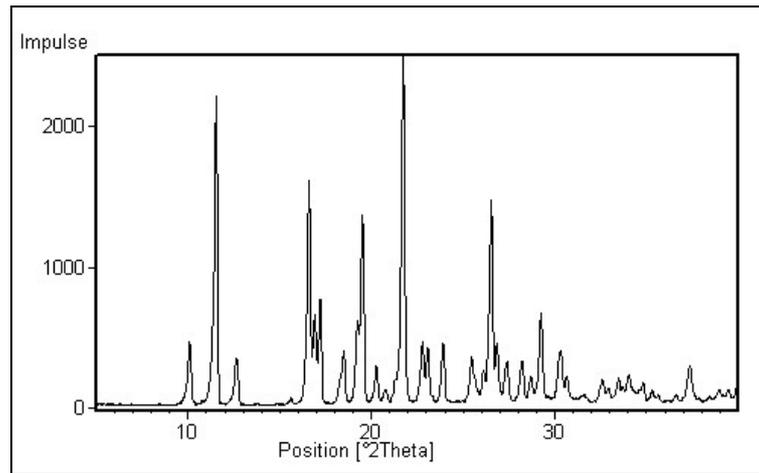


Abb. 3.1.7: Röntgendiffraktogramm der verwendeten γ -Form des Indomethacins (triklin); Lieferant: Synopharm

Tablettierhilfsstoffe für die Indomethacintabletten

Alpha-Lactosemonohydrat (kristallin)

→ Füllmittel; da die Tablettenbestandteile vor der Verpressung granuliert wurden, kam ein gemahlenes Produkt zum Einsatz, Granulac[®] 200 der Firma Meggle, Wasserburg, Deutschland.

Polyvinylpyrrolidon (PVP), Kollidon[®] 25 (amorph)

→ Bindemittel zur Herstellung eines Klebstoffgranulats. Die Zahl 25 entspricht dem K-Wert, der aus der relativen Viskosität η einer Lösung bestimmter Konzentration (m/V) nach Fikentscher berechnet wird und mit dem Molekulargewicht von Povidon in Zusammenhang steht. Hersteller: BASF, Ludwigshafen, Deutschland

Maisstärke (teilkristallin)

→ Sprengmittel; kann in Form des Kleisters auch als Bindemittel oder bei Pulvern und Streupudern als Füllmittel zum Einsatz kommen. Hersteller: Roquette, Lestrem, Frankreich

Quervernetztes Polyvinylpyrrolidon; Kollidon CL[®] (amorph)

→ Sprengmittel; CL steht für cross-linked. Hersteller: BASF, Ludwigshafen, Deutschland

Magnesiumstearat (kristallin)

- Gleit- und Schmiermittel; Magnesiumstearat ist ein Gemisch aus Magnesiumsalzen verschiedener Fettsäuren, vor allem der Öl-, Palmitin- und Stearinsäure, wobei vom Arzneibuch ein Mindestgehalt von 40 % Stearinsäure gefordert wird. Es tritt in verschiedenen polymorphen Formen mit unterschiedlichen Schmiereigenschaften auf.
Hersteller: Bärlocher, München, Deutschland

hochdisperses Siliciumdioxid, Aerosil 200 (amorph)

- Fließreguliermittel, Verstärkung des Dochteffekts bei Sprengmitteln. Die Zahl 200 entspricht der Größe der Oberfläche, d.h. 200 m²/g. Hersteller: Degussa, Frankfurt, Deutschland

3.2 Methoden und Geräte

3.2.1 Röntgendiffraktometer

Für die röntgenographischen Untersuchungen wurde das X'Pert Pro MPD θ - θ System der Firma Panalytical verwendet. In diesem System sind Röntgenröhre sowie Detektor beweglich, während die Probenstation fest montiert ist. Dadurch befindet sich die Probe während der gesamten Messung in der Horizontalen, was für locker gepackte oder besonders große bzw. schwere Proben von Vorteil ist. Der Aufbau des gesamten Gerätes basiert auf dem PW3050/60 X'Pert Pro Standard Resolution Goniometer mit den Grundachsen θ und 2θ , das vertikal betrieben wird und einen Radius von 240 mm besitzt. An ihm sind die Röntgenröhre, die Optiken für den einfallenden bzw. den gebeugten Strahl, die Probenstation sowie der Detektor an verschiedenen Positionen angebracht.

Die in unserem System eingebaute Röntgenröhre (Special Ceramic Tube Cu Long Fine Focus) besitzt eine dickere Kupferanode als üblich, wodurch der Fokus thermisch stabiler wird und die Anodenoberfläche weniger verändert. Dies ist für die Verwendung von Spiegeloptiken wie dem Hybridmonochromator (s.u.) vonnöten, da diese nur einen kleinen Akzeptanzwinkel für den divergenten Röntgenstrahl haben. Im Prinzip kann die Röhre im Punkt- oder Strichfokus betrieben werden, wobei für unsere Anwendungen der Strichfokus der gebräuchliche ist.

Die für den Betrieb des Systems notwendigen Optiken und Probenstationen können an dem Goniometer befestigt oder entfernt werden, ohne dass eine nachfolgende Justage des Gerätes notwendig ist (Prefix Konzept). In den von der Röhre kommenden Strahl werden eine Reihe von Blenden eingebracht, die die Divergenz des Strahls einschränken: der programmierbare Divergenzspalt (PDS) reduziert die laterale, die Sollerblenden die axiale Divergenz. Von der Größe der Divergenzblende hängt die Größe der bestrahlten Probenoberfläche ab, wobei soviel Probe wie möglich bestrahlt werden sollte, um hohe Intensitäten im entstehenden Diffraktogramm zu erhalten, ohne jedoch den Probenträger zu erfassen. Die Blende kann im automatischen oder festen Modus betrieben werden. Weicht die zu vermessende Probe in ihrer Oberfläche von den Fokussierungsbedingungen (Kap. 2.2) ab, so wird der PDS durch eine Spiegeloptik ersetzt, die die Röntgenstrahlung parallelisiert und dadurch Unregelmässigkeiten in der Oberfläche ausgleicht. In unserem Fall geschieht dies durch den Hybridmonochromator, der eine Kombination aus Spiegel und einem speziell geschliffenen Germaniumkristall darstellt, der die Strahlung monochromatisiert.

Der an der Probe gebeugte Strahl durchläuft seinerseits wieder ein Blendensystem, bis er auf den Detektor (X'Celerator) trifft. Der X'Celerator zählt zu den Halbleiterdetektoren, in dem über eine große Anzahl parallel geschalteter Halbleiterdioden die einschlagenden Photonen winkelabhängig registriert werden. Dadurch kann ein größerer Winkelbereich simultan erfasst werden, was die Messzeit erheblich verkürzt. Ausserdem zeichnet er sich durch eine hohe Linearität und Auflösung aus.

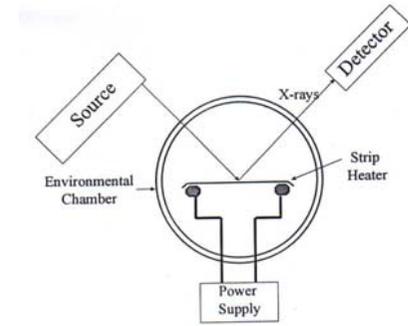
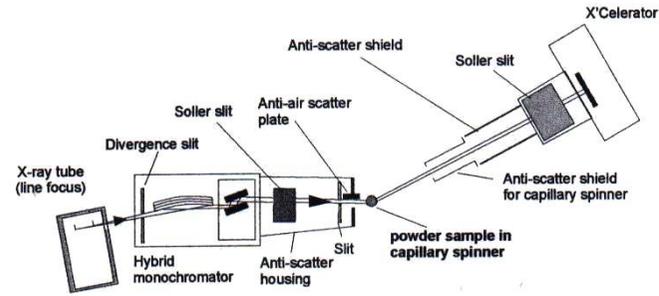
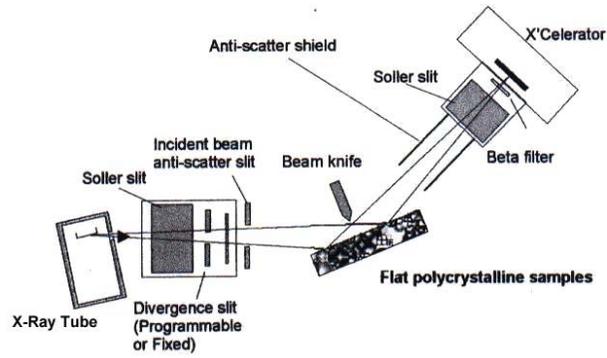
Je nachdem, welcher Zweck mit der röntgenographischen Untersuchung einer Substanz verfolgt wird, werden unterschiedliche Probenstationen verwendet:

- „Sample Spinner“
- „Capillary Spinner“
- „Temperature Humidity Chamber“ (THC)

Die klassische Versuchsanordnung für die Vermessung polykristalliner Pulverproben oder Tabletten stellt die Konfiguration des „sample spinners“ (Abb. 3.2.1) dar, bei dem die Probe während der Messung mit zuvor festgelegter Geschwindigkeit um ihre Vertikale rotiert. Dadurch wird die Partikelstatistik verbessert, was die relativen Intensitäten im Spektrum berichtigt und den allgemeinen Kurvenverlauf glättet.

Ist nur wenig Probensubstanz an der Hand oder ist diese oxidationsempfindlich, toxisch oder stark texturanfällig, wird die Kapillaroptik (Abb. 3.2.2) verwendet. Auch hier wird die Probe kontinuierlich gedreht, um die Partikelstatistik zu verbessern.

Um die Stabilität einer Substanz unter bestimmten klimatischen Bedingungen *in situ* zu untersuchen, kann sie in die Temperatur Feuchte Kammer (THC) eingebracht werden (Abb. 3.2.3). Dieses Device besteht aus einem in einer abgedichteten Kammer befindlichen Ofen, in die über eine äußere Zufuhr Luft oder Stickstoff einer bestimmten Feuchte eingeleitet wird. Die Temperatur des Ofens wird über einen Widerstandsdraht kontrolliert. Materialveränderungen können so in ihrem tatsächlichen Ablauf schneller erfasst und besser verstanden werden, als dies durch die üblichen *postmortem* Studien im Klimaschrank der Fall ist.



40

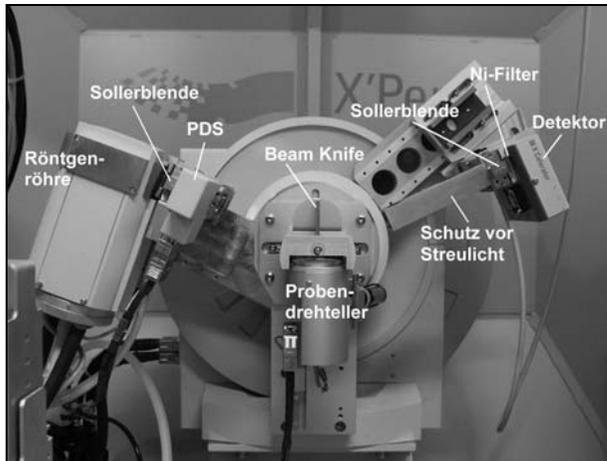


Abb. 3.2.1: Konfiguration des „sample spinners“ zur Auswertung von Pulverproben oder Tabletten

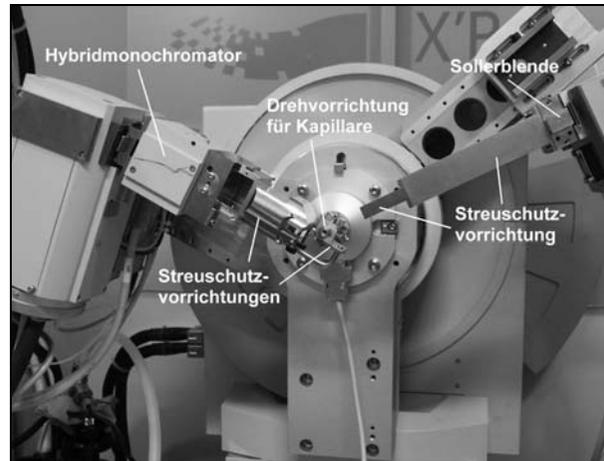


Abb. 3.2.2: Konfiguration des „capillary spinners“ zur texturreduzierten Auswertung von Pulvern

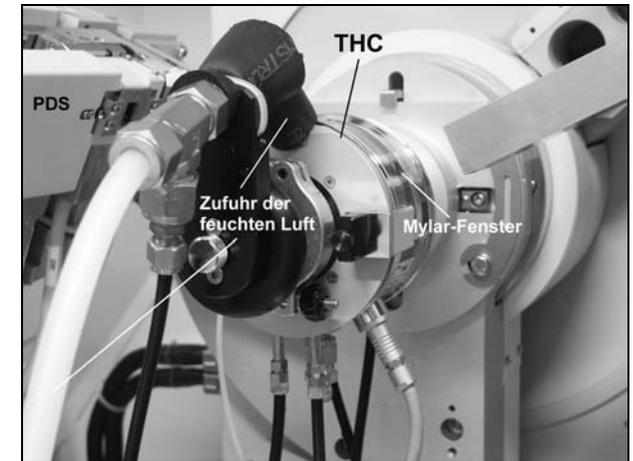


Abb. 3.2.3: Konfiguration der Temperatur-Feucht-Kammer für *in situ* Haltbarkeitsstudien

3.2.1.1 *Geräteeinstellung am Röntgendiffraktometer: Versuchsreihe 1-3*

Probe	Optik	Sollerblende 1	Divergenzblende	Maske	Probenstation	Sollerblende 2	Filter	X'Cel
Kristallinitätsbestimmung								
1-9 % amorphe Lactose	PDS	0.04 rad	0.25°, fest	15 mm	sample spinner	0.04 rad	ja	2.122°
1-10 % krist. Lactose	PDS	0.04 rad	0.25°, fest	15 mm	sample spinner	0.04 rad	ja	2.122°
	Hybrid	keine	0.5°, fest	keine	sample spinner	0.04 rad	nein	2.122°
	Hybrid	keine	0.5°, fest	keine	sample spinner	0.04 rad	nein	2.122°
0 - 100% krist. Lactose	PDS	0.04 rad	0.25°, fest	15 mm	sample spinner	0.04 rad	ja	2.122°
Stabilitätsuntersuchungen								
Theophyllinmonohydrat	PDS	0.04 rad	8 mm, automat.	10 mm	THC	0.04 rad	ja	2.122°
Theophyllinanhydrat	PDS	0.04 rad	8 mm, automat.	10 mm	THC	0.04 rad	ja	2.122°
DPCD	PDS	0.04 rad	8 mm, automat.	10 mm	THC	0.04 rad	ja	2.122°
DPCA	PDS	0.04 rad	8 mm, automat.	10 mm	THC	0.04 rad	ja	2.122°
Theophyllinmonohydrat	PDS	0.04 rad	0.25°, fest	15 mm	sample spinner	0.04 rad	ja	2.122°
Theophyllinanhydrat	PDS	0.04 rad	0.25°, fest	15 mm	sample spinner	0.04 rad	ja	2.122°
DPCD	PDS	0.04 rad	0.25°, fest	15 mm	sample spinner	0.04 rad	ja	2.122°
DPCA	PDS	0.04 rad	0.25°, fest	15 mm	sample spinner	0.04 rad	ja	2.122°
Gehaltsbestimmung von Indomethacin in der unzerstörten Tablette								
biplane Tabl	PDS	0.04 rad	0.25°, fest	10 mm	sample spinner	0.04 rad	ja	2.122°
	PDS	0.04 rad	0.25°, fest	10 mm	sample spinner	0.04 rad	ja	2.122°
gewölbte Tabl.	Hybrid	keine	0.5°, fest	keine	sample spinner	0.04 rad	nein	2.122°
	Hybrid	keine	0.5°, fest	keine	sample spinner	0.04 rad	nein	2.122°

Tab. 3.2.1

3.2.1.2 Messbedingungen am Röntgendiffraktometer: Versuchsreihe 1-3

Probe	Winkel [$^{\circ}2\theta$]	Schrittweite	Zählzeit [sec]	Röhre
Kristallinitätsbestimmung				
1-9 % amorphe Lactose	7.0 - 45.0	0.016	6	40 kV, 40 mA
	12.0 - 13.0	0.008	120	40 kV, 40 mA
1-10 % krist. Lactose	10.5 - 13.5	0.016	200	40 kV, 40 mA
	10.0 - 22.0	0.016	120	40 kV, 40 mA
0 - 100% krist. Lactose	4.0 - 40.0	0.008	10	40 kV, 40 mA
Stabilitätsuntersuchungen				
Theophyllinmonohydrat	5.0 - 40.0	0.016	20	35 kV, 30 mA
Theophyllinanhydrat	5.0 - 40.0	0.016	20	35 kV, 30 mA
DPCD	5.0 - 40.0	0.016	20	35 kV, 30 mA
DPCA	5.0 - 40.0	0.016	20	35 kV, 30 mA
Theophyllinmonohydrat	5.0 - 50.0	0.016	20	45 kV, 40 mA
Theophyllinanhydrat	5.0 - 50.0	0.016	20	45 kV, 40 mA
DPCD	5.0 - 50.0	0.016	20	45 kV, 40 mA
DPCA	5.0 - 50.0	0.016	20	45 kV, 40 mA
Gehaltsbestimmung von Indomethacin in der unzerstörten Tablette				
biplane Tabl	21.5 - 22.5 **	0.016	150	35 kV, 30 mA
	8.0 - 45.0	0.016	30	35 kV, 30 mA
gewölbte Tabl.	21.0 - 22.5 **	0.016	270	35 kV, 30 mA
	9.5 - 23.0	0.016	120	35 kV, 30 mA

Tab. 3.2.2: ** Bei diesen Spektren wurde der Untergrund manuell bestimmt

3.2.1.3 Verwendete Programme:

X'Pert Data Collector Version 2.0c, Panalytical B.V., Almelo, The Netherlands (Datenerfassung)

X'Pert High Score Version 1.0c, Panalytical B.V., Almelo, The Netherlands (Datenauswertung)

The Unscrambler Version 7.6, Camo ASA, Oslo, Norwegen (multivariate Datenauswertung)

3.2.1.4 Probenvorbereitung

Pulverförmige Proben

Vor Einbringen in den jeweiligen Probenträger wurden der oder die zu untersuchenden Stoffe in einem Achatmörser sorgfältig verrieben.

Die Präparation der Probe für die Konfiguration des „sample spinners“ erfolgte mit Hilfe der sog. „Backloading technique“, bei der das Pulver rückseitig in einen Stahlring definierten Durchmessers (PW 1811/16, Fa. Panalytical) eingebracht wird, der dann auf einer Trägerplatte fixiert wird (PW 1811/00, Fa. Panalytical). Die entstehende Probenoberfläche war stets plan und glatt.

Proben für die Kapillarmessung wurden in 0.3 mm dünne Glaskapillaren der Firma Mark überführt, und zwar so, dass die Füllung der Kapillare vollständig und lückenlos war.

Die Probenpräparation für die THC erfolgte von vorne („Front loading“). Da bei dieser Präparationsart leicht Textureffekte auftreten können, wurde - soweit möglich - auf eine Partikelgröße kleiner als 10 µm geachtet. Die Probenoberfläche war stets plan und glatt.

Tabletten

Tabletten wurden mit Hilfe von Knetgummi auf einem geeigneten Probenträger (PW 1812/00, Fa. Panalytical) befestigt, zentriert und anschließend mittels einer Glasplatte auf die erforderliche Referenzhöhe gebracht.

3.2.1.5 Auswertung von Röntgendiffraktogrammen

3.2.1.5.1 Bestimmung des Untergrundes

Röntgenspektren von Pulvern enthalten immer ein statistisches Rauschen, das vor der Reflexsuche ermittelt und abgezogen werden muss. Dies erfolgt in dem Programm X'Pert High Score[®] durch eine iterative Methode nach Sonneveld und Visser [3]. Diese automatische Bestimmung des Untergrundes wurde bei der Auswertung aller Diffraktogramme außer den speziell Gekennzeichneten verwendet. Bei niedrig symmetrischen Kristallen wie bei organischen Stoffen überlappen sich im oberen Winkelbereich die Reflexe so stark, dass der eigentliche Untergrund nicht mehr erreicht wird. Dadurch wird dieser zu hoch angenommen und die Intensität überlappender Reflexe zu niedrig bestimmt. Deshalb sollten für quantitative Auswertungen immer einzelstehende Reflexe gewählt werden (Ausnahme: whole pattern fitting).

3.2.1.5.2 Reflexsuche

Als Reflexsuchroutine wurde die 2. Ableitung gewählt, da diese Methode eine genauere Detektion stark überlappender Peaks ermöglicht. Die Nullstellen der 2. Ableitung entsprechen den Wendepunkten der Peaks und das negative Minimum der Reflexspitze, d.h. der Reflexlage. Die numerische Berechnung erfolgt über gleitende Polynome nach Savitzky Golay. Da die 2. Ableitung das Signal/Rausch-Verhältnis erhöht, ist die Reproduzierbarkeit der Minimumlagen der 2. Ableitung etwas schlechter, d.h. bei asymmetrischen Reflexen ist das Minimum zur schmalen Flanke hin verschoben. Daher wurde anschließend immer eine Profilanpassung durchgeführt, um Peakposition, -form und -fläche zu verfeinern. Die anschließende univariate Auswertung erfolgte

bei nicht überlappenden Peaks über die Fläche, bei überlappenden über die Höhe, die gegen die Konzentration des Analyten aufgetragen wurde.

3.2.1.5.3 Profilanpassung

Für die Profilanpassung wird die Pseudo-Voigt-Funktion benutzt, die ein gewichtetes Mittel aus einer Gauss- und Lorentzfunktion darstellt. Die Verfeinerung erfolgt nach der Levenberg Marquardt Methode, einem Algorithmus für die kleinste-Fehlerquadrat-Abschätzung nicht linearer Parameter.

3.2.1.5.4 Chemometrie

Zusätzlich zur klassischen Auswertung über die Peakflächen wurde untersucht, ob die multivariate Evaluation der Daten Vorteile gegenüber dem univariaten Ansatz hat. Die Grundlagen der multivariaten Auswertung (Chemometrie) sind in Kap 3.2.3 zu finden.

3.2.2 Nahinfrarotspektroskopie (NIRS)

Der NIR-Bereich umfasst Wellenlängen von 800 – 2500 nm bzw. Wellenzahlen von 12500 – 4000 cm^{-1} , wo vor allem Ober- und Kombinationsschwingungen funktioneller Gruppen (OH-, NH-, SH-, CH-, C=O u.a.) organischer Verbindungen angeregt werden. Da beim Übergang von der Grundschiwingung zur ersten Oberschiwingung das Ausmaß der Absorption um den Faktor 10 bis 100 abnimmt, ist es möglich, im NIR-Bereich Proben ohne Vorbereitung oder Verdünnung zu vermessen. Allerdings erhöht sich dadurch auch der Einfluss physikalischer Parameter wie die Partikelgröße, Wassergehalt etc.

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 pulverförmiger Proben ausgestattet ist. Alle Proben wurden in diffuser Reflexion im Bereich von 4000 – 12500 Wellenzahlen gegen einen Referenzstandard (Spectralon) gemessen. Die optische Auflösung betrug 4 Wellenzahlen, die Signalerfassung erfolgte in Absorption.

Die diffuse Reflexion ist ein gebräuchliches Messverfahren für feste Substanzen. Dabei wird das Verhältnis der Intensität des von der Probe reflektierten Lichts I zu der Intensität des an einer Referenz reflektierten Lichts I_0 bestimmt (I/I_0 ; relative Reflexion). Die Detektion erfolgt mit Silicium-, Germanium- oder Indium-Gallium-Arsenid Dioden.

Wie oben bereits erwähnt, handelt es sich bei dem verwendeten Spektrometer um ein FT-Gerät mit Michelson Interferometer. Bei diesem wird die Intensität des reflektierten Lichtes nicht wie in konventionellen Geräten als Funktion der Wellenzahl (Frequenzdomäne) aufgezeichnet, sondern die Registrierung erfolgt als Funktion der Zeit (Zeitdomäne). Dazu wird der einfallende Lichtstrahl über einen Strahlenteiler in zwei Hälften geteilt, die je nach Stellung des beweglichen Spiegels (Abb. 3.2.4) bei ihrem erneuten Zusammentreffen eine Phasendifferenz zueinander aufweisen und so konstruktiv oder destruktiv miteinander interferieren. In Abhängigkeit von dieser Phasendifferenz (und damit von der Bewegungszeit des Spiegels) schwankt die Intensität zwischen Maximum und Null. Eine bestimmte Wellenlänge entspricht somit einer bestimmten Zeit auf der Skala der Spiegelbewegung.

Beim Durchgang der gesamten Strahlung durch die Probe werden alle für die Substanz charakteristischen Wellenzahlen absorbiert, wodurch das Interferogramm in Abhängigkeit von der Spiegelbewegung sein Aussehen ändert. Das so entstandene Summeninterferogramm wird am Detektor registriert und im Rechner durch Fourier Transformation (Rückverwandlung der Zeit- in

die Frequenzdomäne) in ein „normales“ NIR Spektrum überführt. Der Vorteil der FT-Technik ist die höhere Empfindlichkeit im Vergleich zu konventionellen Geräten, die hohe Präzision der Wellenzahl-Registrierung sowie die sehr kurzen Messzeiten.

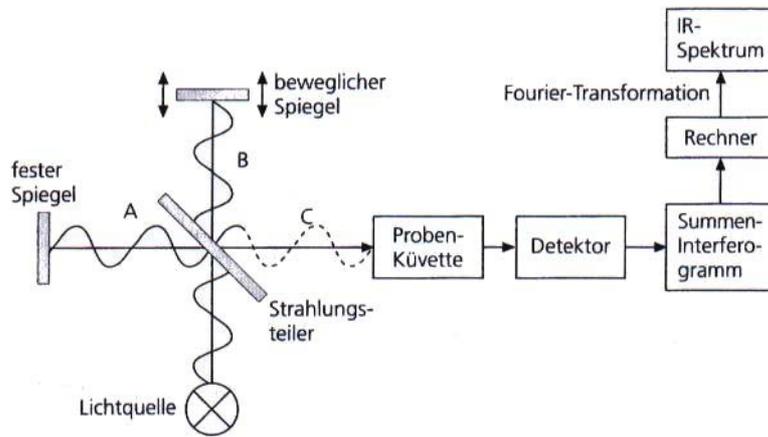


Abb. 3.2.4: Michelson Interferometer: ist der optische Weg vom Strahlenteiler zu beiden Spiegeln gleich lang oder beträgt die Phasendifferenz ein ganzzahliges λ , so kommt es zu konstruktiver Interferenz, andernfalls zu destruktiver. Bei kontinuierlichem Hin- und Herbewegen des Spiegels wechselt die Lichtintensität in Abhängigkeit von der Stellung des Spiegels

3.2.2.1 *Probenvorbereitung*

Das zu vermessende Pulver wurde in ein Schnappdeckelglas überführt und durch mehrmaliges Aufstampfen komprimiert, um eine reproduzierbare Packungsdichte zu erreichen. Für die Messung wurde die Probe auf einem Laborboy so platziert, dass die Lichtleitersonde ca. 5 mm eintaucht.

3.2.2.2 *Auswertung von NIR-Spektren*

Die Auswertung von NIR-Spektren erfolgte mit den Methoden der Chemometrie unter Verwendung der Unscrambler[®] Software von Camo ASA, Oslo, Norwegen.

3.2.3 Chemometrie

Unter Chemometrie versteht man die Wissenschaft, die durch Anwendung mathematischer oder statistischer Methoden die Messwerte eines chemischen Prozesses oder Systems mit dessen Zustand verknüpft [54]. Dabei werden v.a. multivariate Verfahren verwendet, bei denen im Gegensatz zu den univariaten Auswertungsmethoden mehrere Variablen gleichzeitig zur Beschreibung einer Eigenschaft herangezogen werden [55].

Chemometrisch auswertbare Daten setzen sich zusammen aus:

- verwendbarer, systematischer Variation (z.B. durch Konzentrationsschwankungen der gesuchten Komponente)
- störender, systematischer Variation (z.B. durch andere Mischungsbestandteile oder Korngrößenunterschiede)
- nicht systematischer Variation

Da die o.g. Variationen über viele X-Variablen (Wellenzahlen im NIR Spektrum) redundant verteilt sind und sich alle Einflüsse gegenseitig überlappen, bedarf es der multivariaten Analyse, um die in den Spektren enthaltene Hauptinformation zu extrahieren und sinnvoll mit der Y-Matrix (z.B. Konzentration) zu korrelieren.

Die Aufgabe eines chemometrischen Modells besteht also darin, die systematische von der nicht systematischen Variation zu trennen, die Daten auf die statistisch relevante Anzahl von Variablen zu komprimieren, Überlappungen von Spektralbereichen aufzulösen und die gesuchte Größe (die Regressionskoeffizienten) zu berechnen [56].

3.2.3.1 Hauptkomponentenanalyse (*Principal Component Analysis, PCA*)

Die Hauptkomponentenanalyse zählt zu den bilinearen Faktormethoden und dient dazu, durch Eliminierung der Kollinearität innerhalb der X-Matrix den Datensatz auf die informativsten Vektoren zu komprimieren. Dabei wird die ursprüngliche Datenmatrix X durch zwei kleinere Matrizen, die Faktorenmatrix („Scores“) T und die Ladungsmatrix („Loadings“) P angenähert. Man geht von folgender Modellgleichung aus [57]:

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \mathbf{P}^T + \mathbf{E} \quad (\text{Gl. 3.2.1})$$

PCA-Faktorzerlegung mit n Proben, m Wellenlängen im Spektrum und f Anzahl relevanter Faktoren/ PCs:

T: Score-Matrix mit n Zeilen und f Spalten (Faktoren/ Hauptkomponenten)

P: Ladungsmatrix mit f Zeilen und m Spalten

E: Residualmatrix mit n Zeilen und m Spalten

Die Matrix T enthält die komprimierten Daten der Ausgangsmatrix, die Ladungsmatrix P die Regressionskoeffizienten von X auf T [57]. Diese beschreiben den Zusammenhang zwischen den Faktoren und den ursprünglichen Variablen. Die Residualmatrix E beinhaltet die Diskrepanz zwischen dem ursprünglichen und dem durch T und P erzeugten Spektrum. Die Berechnung der Matrizen T und P erfolgt über den NIPALS-Algorithmus (**N**onlinear **I**terative **P**artial **L**east **S**quares).

Die Hauptkomponenten oder „principal components“ lassen sich als Projektionen der ursprünglichen Datenmatrix X auf die Faktorenmatrix T auffassen [54]. Ihre Bestimmung geschieht nach vorhergehender Spektrenzentrierung und -standardisierung durch Koordinatentransformation, d.h. durch die Berechnung der Eigenvektoren. Die so entstehenden neuen Achsen sind orthogonal zueinander und werden als Hauptkomponenten bezeichnet. Die Ladungen (P) geben dabei die Richtung der neuen Achse an, während die Scores die Position der (Zeilen-) Objekte darauf beschreiben. Der Eigenwert eines berechneten Eigenvektors, d.h. die Varianz einer Hauptkomponente, bestimmt ihren Anteil an der Gesamtinformation des Spektrums. Je größer die Varianz, desto wichtiger die Hauptkomponente. Alle Hauptkomponenten werden nach abfallender Varianz geordnet, so dass der erste Faktor die größte Variation beschreibt. Jede hinzukommende Komponente umfasst dann das Maximum an Varianz, das durch die vorhergehenden Komponenten nicht erfasst wurde.

Zusammenfassend kann man also sagen: Wellenlängen oder Winkelbereiche (Spaltenvektoren), die in einem Datensatz hochkorreliert sind, werden durch einen gemeinsamen Faktor beschrieben, wobei Proben (Zeilenvektoren) mit hohen Absorptionswerten hohe Scorewerte erhalten und umgekehrt. Anschließend werden stark streuende Bereiche im Spektrum zu einem Faktor zusammengefasst. Dadurch werden Inhaltsstoffe, die deutliche Variationen im Spektrum hervorrufen, in den ersten Hauptkomponenten beschrieben, solche, die geringe Streuungen verursachen, in höheren Faktoren.

3.2.3.2 Hauptkomponentenregression (PCR)

Die sog. Principal Component Regression basiert auf den bei der PCA berechneten Hauptkomponenten. Durch eine Regression der kleinsten Fehlerquadrate von Y auf die Score Matrix T der PCA werden entsprechend der Gleichung

$$\mathbf{Y} = \mathbf{TQ}^T + \mathbf{F} \quad (\text{Gl. 3.2.2})$$

die Ladungen Q der Y -Matrix erhalten. F beinhaltet die Residuen, d.h. die nicht erklärte Varianz. Die gesuchten Regressionskoeffizienten B , die den Zusammenhang zwischen Y und X beschreiben

$$Y = X B + \text{Residuen} \quad (\text{Gl. 3.2.3})$$

werden aus den berechneten X und Y - Ladungen, P und Q , erhalten:

$$B = P Q \quad (\text{Gl. 3.2.4})$$

Die bei der PCR verwendeten Hauptkomponenten dienen dem Ziel maximaler Varianzausschöpfung und damit der Vermeidung von Kollinearitätsproblemen innerhalb der X -Matrix. Eine wirksame Vorhersage der Y Matrix durch die beibehaltenen Faktoren ist damit nicht zwangsläufig gegeben, da die Korrelation mit Y erst nach der PCA erfolgt. Ein Kompromiss zwischen beiden Effekten, d.h. Beseitigung der Kollinearität bei gleichzeitig hoher Korrelation mit Y , wird durch die PLS Regression gegeben.

3.2.3.3 Partial Least Squares Regression (PLSR)

Bei der PLSR wird zur Bestimmung der Hauptkomponenten nicht nur die Varianz in der X -Matrix, sondern zusätzlich die Varianz der Y -Matrix berücksichtigt. Dies führt in der Regel dazu, dass die Aussagekraft der Faktoren für die analytische Fragestellung zunimmt, da sie an den entsprechend vorgegebenen Inhaltsstoffen oder Konzentrationen ausgerichtet werden.

Analog zu PCA und PCR gelten für die Datenreduktion folgende Gleichungen:

$$X = T P^T + E \quad (\text{Gl. 3.2.5})$$

$$Y = T Q^T + F \quad (\text{Gl. 3.2.6})$$

T : Score Matrix mit n Zeilen und f Spalten; orthogonal

P^T : Ladungen der transponierten X -Matrix mit m Zeilen und f Spalten

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

Q^T : Ladungen der transponierten Y -Matrix mit p Zeilen und f spalten

F : Residuenmatrix für die Y -Matrix mit n Zeilen und p Spalten

f : Zahl der Hauptkomponenten/ Faktoren

Die Score-Matrix T wird unter Berücksichtigung der Datenmatrix X und der Y -Matrix so berechnet, dass die wichtigsten, also die ersten, Hauptkomponenten die größte Varianz in X enthalten und gleichzeitig die höchste Korrelation mit Y aufweisen. Damit unterscheidet sich die PLSR wesentlich von der PCR (s.o.).

Der Zusammenhang zwischen der X und der Y -Matrix sind in folgender Gleichung dargestellt:

$$Y = X B + R \quad (\text{Gl. 3.2.7})$$

Y entspricht der Matrix der abhängigen, X der Matrix der unabhängigen Variablen und B der Matrix der Regressionskoeffizienten, die gesucht werden. Sie werden mittels der Methode der kleinsten Fehlerquadrate erhalten. Für die Berechnung von B benötigt man die Matrizen P, Q und W [54]:

$$\mathbf{B} = \mathbf{W}(\mathbf{P}^T\mathbf{W})^{-1}\mathbf{Q}^T \quad (\text{Gl. 3.2.8})$$

W entspricht dabei den sog. „Loading weights“, die zusammen mit P und Q für die Berechnung von B sowie für die Vorhersage unbekannter Proben herangezogen wird, um die Orthogonalität des Systems zu gewährleisten.

Da es sich bei den berechneten B-Werten immer um Schätzungen handelt, existiert noch eine Residuenmatrix R, die die Differenz zwischen den gemessenen und den mit dem Modell vorhergesagten y-Werten beschreibt.

Der Hauptvorteil der PLSR besteht darin, dass sie durch die wechselseitige Zerlegung der X- und der Y-Matrix große, aber irrelevante Variationen eliminiert und dadurch in der Regel die robustesten Kalibrationen liefert.

3.2.3.4 Datenvorbehandlung

NIR-Spektren sind in der Regel von Streulichteffekten überlagert, die zu additiven Überlappungen, multiplikativen Fehlskalierungen, nicht linearen Verzerrungen und Rauschen im Spektrum führen [56]. Um diese unerwünschten Effekte zu entfernen und die inhaltsstoffbedingten Unterschiede zu betonen, werden sog. Datenvorbehandlungen durchgeführt. Sie werden vor der eigentlichen Kalibrierung angewendet und müssen gleichermaßen sowohl auf den Kalibrierdatensatz als auch auf die vorherzusagenden Proben angewendet werden.

In dieser Arbeit wurden die multiplikative Streukorrektur (MSC) sowie die erste oder zweite Ableitung eingesetzt.

3.2.3.4.1 Ableitung nach Savitzky-Golay

Durch die Bildung von Ableitungen werden niedrigfrequente Signalanteile wie Basislinienschwankungen und –deformationen unterdrückt, was die Signalkomplexität reduziert und die visuelle Auflösung erhöht [56]. Bereits die erste Ableitung korrigiert Parallelverschiebungen von Spektren, durch die zweite Ableitung können auch globale Steigungen im Spektrum (Trends) entfernt werden.

Die Ableitung nach Savitzky Golay beruht auf der Polynomabschätzung eines Teils des Spektrums. Dazu wird in einen der Größe nach wählbaren Teil der Kurve („Segment“) ein Ausgleichspolynom

gelegt, aus dessen Ableitung sich ein neuer Datenpunkt ergibt, der in der Mitte des Segmentes liegt. Durch sukzessive Verschiebung des Segments über die gesamte Kurve wird das gesamte Spektrum neu berechnet. Je größer die Segmentbreite gewählt wird, desto stärker ist die ausgleichende, d.h. glättende Wirkung des Polynoms, was zu Informationsverlust im Spektrum führen kann. Je nach spektraler Auflösung sollte also die Segmentgröße angepasst werden. Auch der Grad des Polynoms beeinflusst den Glättungseffekt: je höher der Grad des Polynoms, desto mehr Details bleiben im Spektrum erhalten.

3.2.3.4.2 *Multiplikative Streukorrektur*

Die MSC ist eine kombinierte Korrektur additiver und multiplikativer Effekte. Jedes Spektrum wird dabei an ein sog. Zielspektrum, meist das Mittelwertsspektrum des Kalibriersatzes, angepasst. Zu diesem Zweck wird das zu berichtigende Spektrum vertikal verschoben (Offsetkorrektur) und mit einem geeigneten Faktor multipliziert (Dehnung oder Stauchung), so dass die Summe der Fehlerquadrate gegenüber dem Zielspektrum minimiert wird [56]. Dies entspricht einer univariaten Regression zur Ermittlung der Koeffizienten a und b:

$$x^{MSC} = \frac{x-b}{a} \quad (\text{Gl. 3.2.9})$$

Bereiche ähnlichen Informationsgehaltes werden so reduziert, während systematische Variationen stärker hervorgehoben werden.

3.2.3.5 *Validierung*

Ziel der Validierung ist die Ermittlung der Modellkomplexität, d.h. der optimalen Anzahl an Hauptkomponenten, sowie des Methodenfehlers. Die optimale Modellkomplexität ist dann erreicht, wenn der geschätzte Methodenfehler minimal wird. Als repräsentatives Maß für den Methodenfehler gilt u.a. der RMSEP, d.h. der Root Mean Square Error of Prediction, der sowohl den systematischen als auch den zufälligen Fehleranteil enthält. Um diesen Wert zu erhalten, wird die Eignung des Kalibrationsmodells entweder durch eine externe oder interne Validierung überprüft.

Bei der externen Validierung erfolgt die Ermittlung von Methodenfehler und Modellkomplexität anhand eines repräsentativen, von der Kalibrierung unabhängigen Testprobensatzes. Der Vorteil dieses Ansatzes besteht in der Verlässlichkeit und Realitätsnähe der errechneten Werte. Nachteilig sind der erhöhte Zeitaufwand sowie die Bereitstellung zusätzlicher Proben.

Als Alternative bietet sich die interne Validierung über die sog. Kreuzvalidierung an, bei der die verfügbaren Proben sowohl zur Kalibrierung als auch zur Validierung herangezogen werden. Dazu

wird ein Teil der Kalibrierproben entfernt, wobei darauf geachtet werden muss, dass Wiederholungsmessungen immer zusammen ausgelassen werden. Mit Hilfe der restlichen Probespektren wird nun ein neues Modell berechnet, aufgrund dessen die zuvor entfernten Spektren vorhergesagt werden. Anschließend wird der Unterschied zwischen dem tatsächlichen und dem vorhergesagten Ergebnis berechnet. Dieser Vorgang wird so häufig wiederholt, bis jede Probe einmal ausgelassen wurde. Auf der Basis der berechneten Differenzen zwischen wahren und vorhergesagtem Wert wird der $RMSEP_{CV}$ berechnet.

3.2.3.6 *Leistungsparameter des Modells*

Die Leistungsparameter eines multivariaten Modells machen Aussagen über die Güte der Kalibration sowie über die Sicherheit von künftigen Vorhersagen unbekannter Proben. Die wichtigsten Kenngrößen werden im Folgenden aufgeführt; die dargestellten Formeln entsprechen den vom Unscrambler[®] verwendeten.

3.2.3.6.1 *SEC, SEP, SEP_{CV}*

Der SEC (standard error of calibration) beschreibt den Standardfehler der Vorhersage auf der Basis der Kalibrationsdaten. Werden für die Abschätzung der Fehlerstreuung die Werte des Validationssets zugrunde gelegt, erhält man den SEP. Je nachdem, ob die Validierung intern (Kreuzvalidierung) oder extern (Test set) durchgeführt wird, spricht man vom SEP oder vom SEP_{CV} , d.h. dem „standard error of cross validation“. Die Einheit des Standardfehlers entspricht der der y-Variablen. Im Unscrambler stellen der SEC bzw. SEP ein reines Streumaß (Standardabweichung) dar, da der Bias herausgerechnet wird. Der SEP wird nach folgender Formel berechnet:

$$SEP = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (y_i^{pred.} - y_i^{true} - Bias)^2} \quad (\text{Gl. 3.2.10})$$

Idealerweise sollte dieser Wert möglichst klein sein. Y^{true} ergibt sich aus den Werten der Referenzmethode.

3.2.3.6.2 *RMSEC, RMSEP, RMSEP_{CV}*

Der RMSE (root mean square error) macht eine Aussage über die mittlere Unsicherheit bei der Vorhersage einer unbekannt Probe und hat die gleiche Einheit wie die abhängige Variable y. Er ist bei vernachlässigbar kleinem Bias mit der Standardabweichung vergleichbar, so dass das

Ergebnis einer Vorhersage mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % eine Streuung von $\pm (2 \cdot \text{RMSEP})$ aufweist [58]. Da der RMSE im Unscrambler sowohl systematische wie auch zufällige Fehler umfasst, wird er zur Abschätzung des Methodenfehlers und daher zur Ermittlung der optimalen Anzahl von Hauptkomponenten herangezogen. Die unten angeführte Formel gilt für alle Arten des RMSE, je nachdem, welcher Datensatz zugrunde gelegt wurde (s. Standardfehler).

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i^{\text{pred.}} - y_i^{\text{true}})^2} \quad (\text{Gl. 3.2.11})$$

Idealerweise sollte der Wert des RMSE möglichst klein sein.

3.2.3.6.3 Bias (Verzerrung)

Der Bias beschreibt den systematischen Fehler des Modells bei der Vorhersage unbekannter Proben. Er berechnet sich als die mittlere Abweichung zwischen den vorhergesagten und den wahren Werten:

$$\text{Bias} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i^{\text{pred.}} - y_i^{\text{true}}) \quad (\text{Gl. 3.2.12})$$

Da mit dem Bias eine Aussage über die Unrichtigkeit des Modells gemacht wird, sollte der Wert nahe null sein.

3.2.3.6.4 Bestimmtheitsmaß und Korrelationskoeffizient

Das Bestimmtheitsmaß (R^2) sowie der Korrelationskoeffizient (r) stellen einen dimensionslosen Index im Wertebereich von $-1 \leq R \leq 1$ dar und sind ein Maß dafür, inwieweit zwischen zwei Datensätzen eine zumeist lineare Abhängigkeit besteht.

Das Bestimmtheitsmaß beschreibt für die um den Mittelwert korrigierte Quadratsumme den Anteil an Varianz, der durch die Hauptkomponenten erklärt wird [54]:

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i^{\text{pred.}} - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i^{\text{true}} - \bar{y})^2} \quad (\text{Gl. 3.2.13})$$

Da bei der PLSR die Regressionsparameter mit der Methode der kleinsten Quadrate geschätzt werden, stimmt die Wurzel aus dem Bestimmtheitsmaß mit dem multiplen Korrelationskoeffizienten überein:

$$r = \sqrt{R^2} \quad (\text{Gl. 3.2.14})$$

3.2.4 UV/Vis Spektroskopie

In der Pharmazie wird die UV-Vis-Spektroskopie zur Identitäts- und Reinheitsprüfung, zur quantitativen Analyse und zur Strukturaufklärung eingesetzt [59]. Sie nutzt die elektromagnetischen Wellen des UV (200 – 400 nm) bzw. sichtbaren Lichtes (400 – 800 nm) zur Anregung der π - und n-Elektronen in Molekülen. Die Absorption wird in Abhängigkeit von der eingestrahlten Wellenlänge aufgezeichnet (Abb. 3.2.5). Je größer das chromophore System eines Moleküls, desto leichter werden die in ihm enthaltenen Elektronen angeregt und desto weiter ist das Absorptionsmaximum zu großen Wellenlängen verschoben. Lage und Ausmaß des Absorptionsmaximums machen also eine Aussage über die Anwesenheit bestimmter Grundstrukturen und damit auch über die Identität.

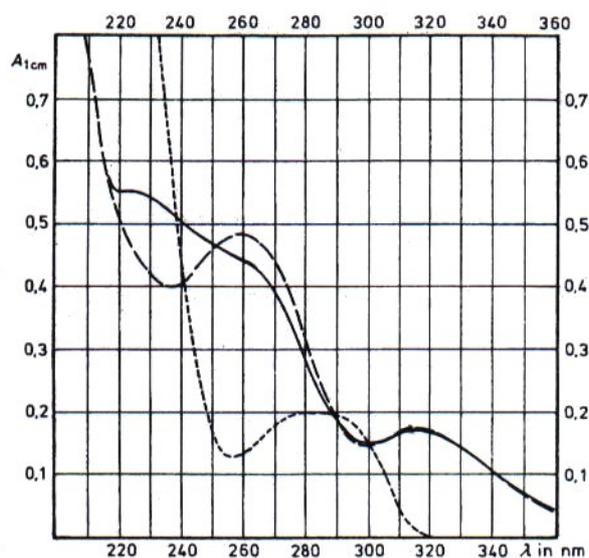


Abb. 3.2.5: UV- Absorption einer 1 %-igen Indomethacin-Lösung in verschiedenen Lösungsmitteln (— Methanol, -- Salzsäure, ---- Natronlauge)

Die Vorteile der UV-Vis-Spektroskopie bei der quantitativen Analyse von Arzneimitteln liegen in der niedrigen Nachweis- und Bestimmungsgrenze und in der schnellen Durchführbarkeit der Methode, die Nachteile in ihrer geringen Substanzspezifität und der aufwendigen Erstellung der Verdünnungsreihen. Das Lambert-Beersche Gesetz beschreibt die Abhängigkeit der Absorption (A) von der molaren Konzentration (c) bei konstanter Schichtdicke (d) wider:

$$A = \varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d; \quad c \text{ in [mol/l]} \quad (\text{Gl. 3.2.15})$$

Bei der Arzneistoffanalyse wird statt des molaren Absorptionskoeffizienten ε häufig der spezifische $A_{1cm}^{1\%}$ verwendet, wobei dann die prozentuale Konzentration verwendet wird. Die spezifische

Absorption entspricht folglich einer in 1 cm Schichtdicke gemessenen 1 %-igen Lösung bei einer bestimmten Wellenlänge:

$$A = A_{1cm}^{1\%}(\lambda) \cdot c \cdot d ; \quad c \text{ in } [\%] \quad (\text{Gl. 3.2.16})$$

Für quantitative Bestimmungen sollte ein gut ausgeprägtes, breites Absorptionsmaximum gewählt werden, um starke Absorptionsänderungen bei kleiner Wellenlängenänderung zu vermeiden. Anschließend wird eine Kalibrierkurve erstellt, für die man die Absorption mehrerer Lösungen von bekannter, aber unterschiedlicher Konzentration vermisst. Die Konzentrationen sollten dabei so gewählt werden, dass die Absorptionen im Gültigkeitsbereich von Lambert-Beer liegen, d.h. zwischen 0.2 und 1.0.

Die UV-metrischen Messungen dieser Arbeit wurden mit dem Zweistrahl-UV-Vis-Spektrometer Lambda-12 der Firma Perkin-Elmer durchgeführt, bei dem das monochromatische UV-Licht (316 nm für Indomethacin) abwechselnd durch eine Vergleichsküvette mit reinem Lösungsmittel und durch die Messküvette geleitet wird (Abb. 3.2.6). Die Erzeugung der Strahlung erfolgte durch eine Deuteriumlampe, die Detektion durch eine Photozelle.

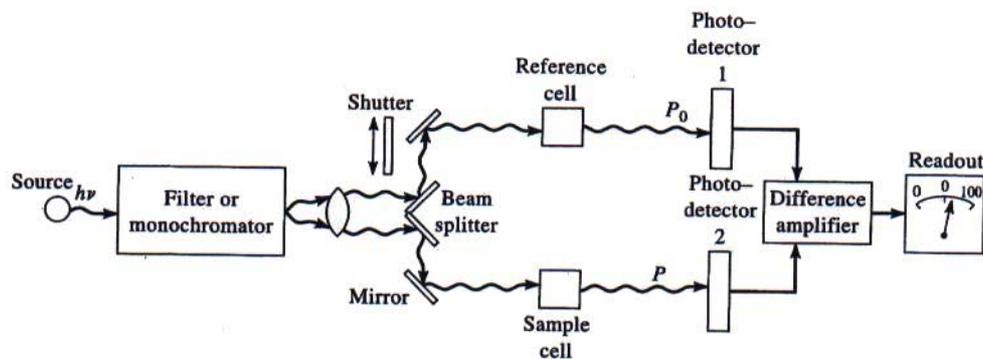


Abb. 3.2.6: Zweistrahlphotometer: Der von der Deuteriumlampe ausgehende Strahl wird monochromatisiert und fällt auf den Strahlenteiler. Die beiden Strahlhälften passieren je eine Küvette und der Intensitätsverlust im Vergleich zum Ursprungsstrahl (Transmission) detektiert. Nach Verrechnung von Blind- und Messprobe, wird die Absorption berechnet und angezeigt.

3.2.5 Laserdiffraktometrie

Die Teilchengröße hat auf die Peakintensitäten und damit auf die Auswertung von Röntgenspektren einen großen Einfluß (Kap. 2.4.1). Daher wurden alle quantitativ zu bestimmenden Substanzen mit Hilfe der Laserbeugungsspektroskopie auf ihre Partikelgrößenverteilung untersucht.

Das Prinzip der Laserdiffraktion beruht auf der Beugung eines Laserstrahls an der Oberfläche annähernd runder Partikel. Die abgelenkten Strahlen erzeugen im Idealfall radial-symmetrische Beugungsspektren auf den konzentrischen Ringen eines Multielement-Detektors, wobei der Radius eines Beugungsringes umgekehrt proportional zur Partikelgröße ist. Kleine Teilchen streuen das Licht mit niedriger Intensität unter großen Beugungswinkeln, große mit hoher Intensität unter kleinen Beugungswinkeln. Außerdem wird die Intensität eines Beugungsmaximums von dem Mengenanteil der entsprechenden Teilchen im Partikelkollektiv bestimmt. Die Auswertung der Beugungsbilder erfolgt in der Regel im Fraunhofer-Bereich, in dem das eingestrahle Licht an den Teilchen, deren Durchmesser größer als die Wellenlänge ist, vorwiegend gestreut und kaum reflektiert oder gebrochen wird. Die Streulichtintensität ist zur zweiten Potenz des Partikeldurchmessers proportional ($I \sim d^2$).

Bei dem verwendeten Gerät handelt es sich um das Laserbeugungsspektrometer HELOS, Sympatec GmbH, D-Clausthal-Zellerfeld. Das zu untersuchende Pulver wurde mit Hilfe der Druckluftdispergierung RODOS in den Laserstrahl ($\lambda = 632.8 \text{ nm}$) gebracht. Dazu wird es von einem rotierenden Teller aus in eine Düse mit Verwirbelungsschikanen eingesaugt, durch die es in der Druckluft dispergiert und horizontal zum Laserstrahl eingesprüht wird. Mit dieser Methode können sowohl kohäsive als auch freifließende Pulver vermessen werden. Dabei muß der Druck so gewählt werden, dass die Agglomerate zerstört werden, die Primärpartikel jedoch nicht. In dieser Arbeit wurde als optimaler Druck 1 bar gewählt.

3.2.6 Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)

Mit Hilfe der DSC wird die Wärmemenge bestimmt, die bei einer physikalischen oder chemischen Umwandlung eines Stoffes benötigt oder frei wird. Dabei werden Probe und Referenz einem zuvor festgelegten Temperaturprogramm unterzogen. Die Meßzelle des DSC-Gerätes Pyris 1 der Firma Perkin Elmer, das in dieser Arbeit verwendet wurde, besteht aus zwei getrennt heizbaren Öfen, zwischen denen während der Messung kein Temperaturunterschied besteht. Erfolgt in der Probe eine Phasenumwandlung, so wird entweder Energie frei oder benötigt. Dementsprechend muss dem Probeofen mehr oder weniger Energie zugeführt werden, um keine Temperaturdifferenz zum Referenzofen auftreten zu lassen. Durch die Integration über die Zeit erhält man die Enthalpieänderung der Probe. In der vorliegenden Arbeit wurde die DSC zur Nachverfolgung von Phasenumwandlungen wie Kristallisation, Hydratwasserverlust oder Modifikationsänderungen verschiedener Substanzen eingesetzt. Die Messungen erfolgten unter einem konstanten Stickstoffstrom von 10 ml/min und einer Heizrate von 10 K/min. Dabei wurden für die Kristallisationsversuche mit amorpher bzw. teilkristalliner Lactose geschlossene Tiegel (30 µl Fassungsvermögen) verwendet, für die übrigen Untersuchungen Schlitztiegel (30 µl).

3.2.7 Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Die TGA (Perkin Elmer TGA 7, Thermal Analysis Controller TAC 7/DX) dient der Bestimmung der Massenänderung einer Substanz in Abhängigkeit von der Temperatur oder (bei isothermen Untersuchungen) in Abhängigkeit von der Zeit. Die gravimetrische Registrierung erfolgt dabei mit einer in einem Ofen befindlichen Analysenwaage unter einem Stickstoffstrom (10 ml/min). Analog zu den DSC Untersuchungen betrug auch hier die Heizrate 10 °C/min; die Endtemperatur variierte je nach Anwendung. Eingewogen wurden ca. 3-5 mg Substanz.

3.2.8 Rasterelektronenmikroskop (REM)

Bei der Rasterelektronenmikroskopie wird die mit Gold überzogene Analysesubstanz mittels eines feinen Elektronenstrahls rasterförmig abgetastet. Die bei der Wechselwirkung zwischen Elektronen und Leitschicht emittierten Sekundärelektronen werden im Detektor durch ein elektrisches Feld beschleunigt und treffen auf einen Szintillator, der einen Lichtblitz aussendet. Durch einen nachgeschalteten Photomultiplier werden diese Lichtblitze gezählt. Jeder abgetastete Punkt entspricht so einem Pixel auf dem Bildschirm. Je mehr Elektronen gezählt werden, desto heller wird der Pixel. Dadurch lassen sich für jeden Punkt die Neigung und teilweise auch das Material der

Oberfläche als Helldunkelwert erfassen, so dass am Ende ein realistisches und dreidimensionales Abbild der Oberfläche erhalten wird. Die mit dem REM der Firma Hitachi gemachten Aufnahmen verfolgten den Zweck, Morphologieänderungen infolge von Phasentransformationen (Verlust der Kristallinität oder von Hydratwasser) bildlich zu erfassen.

4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Der experimentelle Teil gliedert sich in drei Versuchsreihen, die die Haupteinsatzgebiete der quantitativen Röntgendiffraktometrie in der Pharmazie umfassen: die Bestimmung des Kristallinitätsgrades einer Substanz, die Wirkstoffquantifizierung in der unzerstörten, fertigen Arzneiform sowie *in situ* Stabilitäts- und Kompatibilitätsuntersuchungen in der Temperatur-Feuchte-Kammer.

4.1 Quantitative Bestimmung der Kristallinität

4.1.1 Bedeutung der Kristallinität

Der Kristallinitätsgrad ist definiert als der prozentuale Anteil kristalliner Substanz in einer aus amorphen und kristallinen Teilen zusammengesetzten Probe [5]. Er hat einen großen Einfluss auf das biopharmazeutische und technologische Verhalten eines Stoffes.

Durch einen verminderten Ordnungsgrad nimmt die innere Energie eines Systems zu, wodurch die Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit einer sonst schwerlöslichen Substanz beträchtlich erhöht werden kann. Dies führt letztendlich zu einer Verbesserung der Bioverfügbarkeit. Aufgrund des höheren Energieinhaltes besteht jedoch immer die Gefahr, dass sich der amorphe Stoff in die thermodynamisch stabilere, kristalline Form umwandelt, was die Bioverfügbarkeit in nicht reproduzierbarem Ausmaß verschlechtern würde [60, 61]. Diese Vorgänge sind besonders bei Arzneistoffen mit enger therapeutischer Breite fatal: entweder wird die wirksame Konzentration im Blut nicht erreicht oder die Toxizitäts- bzw. Letalitätsgrenze wird überschritten.

Häufig wird ein Hilfs- oder Wirkstoff jedoch nicht gezielt in seine amorphe Form überführt. Vielmehr entstehen bei der Herstellung oder Verarbeitung einer Substanz unwissentlich Gitterdefekte oder amorphe Bereiche. Typische Auslöser sind beispielsweise rasch verlaufende Fällungsreaktionen (Sprüh- oder Gefriertrocknung), mechanische Beanspruchung (Vermahlen, Kompaktieren) oder Unterkühlung einer Schmelze. Neben der o. g. biopharmazeutischen Relevanz hat dies vor allem technologische Auswirkungen: durch den amorphen Anteil erhöht sich die Aggregations- und Agglomerationstendenz eines Pulvers, ebenso wie seine Plastizität und Tablettierbarkeit. Die verstärkte Hygroskopizität verändert die Fließ- und Haftfähigkeit, Misch- und Benetzbarkeit sowie das Aufsaug- oder Quellvermögen des Stoffes [61 - 63]. Durch die erhöhte Reaktivität kann es vermehrt zu chemischen und physikalischen Inkompatibilitäten kommen [64].

Aus diesen Gründen ist das Wissen um die Kristallinität eines Wirk- oder Hilfsstoffs sehr wichtig, um ihr Verhalten während des pharmazeutischen Herstellungsprozesses abschätzen zu können.

4.1.2 Stand der Forschung

Es wurden bereits verschiedene Meßmethoden für die Quantifizierung des Ordnungszustandes einer Substanz herangezogen, die in Tab. 4.1.1 und 4.1.2 zusammenfassend dargestellt sind. Prinzipiell lassen sie sich in vier Gruppen unterteilen: die gravimetrischen, kalorimetrischen, spektroskopischen und die Dichtebestimmungsmethoden.

Die gravimetrischen Verfahren beruhen auf dem unterschiedlichen Wasseraufnahmevermögen der kristallinen bzw. amorphen Substanz. Bei der traditionellen Gravimetrie wird die zu untersuchende Substanz unterschiedlicher Feuchte ausgesetzt und die daraus resultierende Massenzunahme bestimmt [65]. Im Gegensatz dazu verfolgt die dynamische Dampfabsorption (DVS) nicht nur die Wasseraufnahme, sondern auch die Desorption des Wassers nach erfolgter Kristallisation der amorphen Phase [66]. Beide Methoden können einen amorphen Anteil mit hoher Genauigkeit in geringen Mengen quantifizieren, sind aber für eine industrielle Online-Routinemessung nicht geeignet, da die Messzeit zu lang ist und die Probe bei DVS zerstört wird.

Ähnliches gilt für die kalorimetrischen Methoden [65, 67 – 70], die entweder zeitaufwendig oder zerstörend arbeiten. Die Quantifizierung erfolgt zumeist über die Wärmetönung oder Enthalpieänderung während der Rekristallisation (Ausnahme: MT-DSC, die den Glasübergang erfasst).

Die Bestimmung der Dichte [65] kann ebenfalls Aufschluss über das Vorliegen einer amorphen Phase geben, allerdings muss beachtet werden, dass eine Dichteänderung auch durch eine polymorphe Phasentransformation oder Hydratwasserverlust ausgelöst werden kann. Außerdem erweist sich diese Methode als zu ungenau und relativ zeitintensiv.

Die spektroskopischen Verfahren beruhen auf der Auswertung der spektralen Unterschiede zwischen der amorphen bzw. der kristallinen Form. Als besonders geeignet erweisen sich hierbei die FT-Ramanspektroskopie [71], die FT-Nahinfrarotspektroskopie [66, 72, 73] sowie eingeschränkt die Röntgendiffraktometrie [12, 65, 72, 74, 75]. FT-Raman und NIRS arbeiten schnell, genau, nicht zerstörend und sind online anwendbar. Im Gegensatz dazu ist die Messzeit bei der Röntgendiffraktometrie noch zu lang und die bisher erreichten Nachweisgrenzen variieren stark.

Da in der folgenden Versuchsreihe die Kristallinitätsbestimmung schwerpunktmäßig mittels XRPD und NIRS durchgeführt wird, werden die bisherigen Untersuchungen auf diesem Gebiet detaillierter dargestellt:

Wie aus Tab. 4.1.2 ersichtlich, können mit Hilfe der NIRS sowohl geringe kristalline als auch geringe amorphe Anteile mit hoher Genauigkeit und innerhalb kurzer Zeit quantitativ bestimmt werden. Die erreichten Nachweisgrenzen liegen bei ca. 1%. Die Auswertung der Daten erfolgte mittels multipler linearer Regression (MLR) [66, 72], partieller kleinster Fehlerquadrat Regression (PLSR) oder über das Verhältnis zweier Wellenlängen [73].

Die Kristallinitätsbestimmung mittels Röntgendiffraktometrie zeigt unterschiedliche Ergebnisse. Saleki et al. [65] quantifizierten amorphe Saccharose in binärer Mischung mit der kristallinen Form, indem sie das Flächenverhältnis vom Saccharosepeak bei $18.8^\circ 2\theta$ zum Peak des internen Standards LiF bei $45^\circ 2\theta$ berechneten. Die Nachweisgrenze des amorphen Materials betrug dabei ca. 10 %. Demgegenüber lässt sich kristalline Saccharose in seiner amorphen Matrix bis zu 0.9 % detektieren [75]. Gombas et al. [72] erreichten eine Nachweisgrenze von jeweils 5 % für amorphe bzw. kristalline Lactose auf der Basis einer multiplen linearen Regression von vier Reflexen. Ein besseres Ergebnis erzielten Chen et al. [12], die nach Normalisierung der Spektren und anschließendes „whole pattern fitting“ 0.37 % amorphe Lactose erfassen konnten. Die Auswertung des „whole pattern fittings“ beruhte dabei auf einer Simplexoptimierung, bei der die gemessenen Spektren der Reinsubstanzen an das des Probespektrums iterativ angepasst wurden. Um mögliche Fehler durch variierende Probenhöhe oder Oberflächenrauigkeit auszugleichen, erfolgten die Messungen im Parallelstrahl. Crocker et al. [74] untersuchten den Wirkstoff Imipenem, wobei sie den amorphen Gehalt über eine Einzelmessung an einer reflexfreien Stelle, d.h. im Untergrund, des Spektrums bestimmten. Die Präzision betrug $\pm 5\%$. Allen Untersuchungen ist gemeinsam, dass die Messzeit pro Probe mindestens 10 bis 30 min beträgt.

Method	Meßprinzip	Material	zerstörend	online	Meßzeit	LOD [%]
DVS	Sorption von Wasser (Massenzunahme) durch die amorphe Phase; anschließende Desorption (Massenabnahme) bei ihrer Kristallisation	alpha-Lactose-Monohydrat	ja	nein	ca. 3 h	0.7 - 2 ^[66]
Traditionelle Gravimetrie	Massenzunahme infolge Wasseraufnahme der amorphen Form	Saccharose	nein	nein	24 - 48 h	1 ^[65]
Dichtebestimmung	Dichteunterschied zwischen der amorphen (kleinere Dichte) und der kristallinen Form (größere Dichte)	Saccharose	nein	nein	10 - 30 min	10 ^[65]
Lösungskalorimetrie	unterschiedliche Lösungswärmen der amorphen und kristallinen Form	beta-Lactame	ja	nein	0.5 - 1 min	1 ^[67]
IMC	Wärmetönung bei der Kristallisation der amorphen Form	alpha-Lactose-Monohydrat	ja	nein	0.5 - 4 h	0.3 - 1 ^[68, 69]
DSC	Kristallisationsenthalpie der amorphen Form	Saccharose	ja	nein	10 - 30 min	10 ^[65]
MT - DSC	Glasübergang der amorphen Form		nein	nein	1 - 2 h	0.9 ^[70]
FT - Raman	spektrale Unterschiede zwischen der amorphen bzw. kristallinen Form	Indomethacin	nein	ja	1 - 15 min	1 ^[71]
SS - NMR	spektrale Unterschiede zwischen der amorphen bzw. kristallinen Form	alpha-Lactose-Monohydrat	nein	nein	0.5 - 10 h	1 ^[69]
FT - NIR	spektrale Unterschiede zwischen der amorphen bzw. kristallinen Form	diverse	nein	ja	0.6 - 1 min	0.6 - 1
XRPD	spektrale Unterschiede zwischen der amorphen bzw. kristallinen Form	diverse	nein	ja	10 - 30 min	0.37 - 10

Tab. 4.1.1: Methoden zur quantitativen Kristallinitätsbestimmung

Methode	Material	Optiken	Daten- vorbehandlung	Datenauswertung	Meßzeit	LOD [%] ^[Lit.]
XRPD	alpha Lactosemonohydrat	Bragg Brentano	nein	MLR (4 Peaks)	10 - 30 min	5 (amorph in krist.) ^[72] 5 (krist. in amorph)
	Imipenem	Bragg Brentano	nein	Einpunktmessung im amorphen Halo	10 - 30 min	5 (amorph in krist.) ^[74] 5 (krist. in amorph)
	Saccharose	Bragg Brentano	nein	Peakverhältnis	10 - 30 min	10 (amorph in krist.) ^[65]
	Saccharose	Bragg Brentano	nein	Peakfläche	10 - 30 min	0,9 (krist. in amorph) ^[75]
	alpha Lactosemonohydrat	Parallelstrahl	nein	whole pattern fitting	10 - 30 min	0,37 (amorph in krist.) ^[12]
NIRS	alpha Lactosemonohydrat	Glasfaser	SNV und 1. Ableitung	MLR	40 sec	1 (amorph in krist.) ^[66]
	alpha Lactosemonohydrat	k.A.	2. Ableitung	MLR	0,5 - 3 min	5 (krist. in amorph) ^[72] 5 (amorph in krist.)
	Saccharose	rapid content sampler	2. Ableitung	PLSR und Verhältnis zweier Wellenzahlen	0,5 - 1 min	0,6 (krist. in amorph) ^[73] 1 (amorph in krist.)
	Indomethacin	rapid content sampler	2. Ableitung	PLSR und Verhältnis zweier Wellenzahlen	0,5 - 1 min	1 (krist. in amorph) ^[73] 0.9 (amorph in krist.)

Tab. 4.1.2: Bisherige Ergebnisse von XRPD und NIRS in der Quantifizierung geringer amorpher Anteile in einer binären Mischung mit der kristallinen Form und umgekehrt

4.1.3 Versuchsplan

Ziel der folgenden Versuchsreihe war es, die Röntgendiffraktometrie hinsichtlich ihrer Eignung als routinemäßig einsetzbare Methode bei der Kristallinitätsbestimmung pharmazeutischer Substanzen zu prüfen.

Zu diesem Zweck wurden folgende Vorgaben gewählt:

1. Minimale Nachweisgrenzen für amorphes bzw. kristallines Material von ≤ 1 (m/m) % bei:
 - a) gleichzeitiger Verwendung der konventionellen Bragg-Brentano Geometrie
 - b) einer einfachen und schnellen Auswertmethode
2. Minimale Messzeit
3. Verbesserung der Ergebnisqualität (Präzision \uparrow , Nachweisgrenze \downarrow) durch eine multivariate Auswertung (PLS Regression)

Um XRPD als tatsächliche Alternative zu anderen gebräuchlichen Quantifizierungsmethoden aufzuzeigen, wurden NIRS und DSC als Vergleichsmethoden gewählt.

Durch manuelles Mischen der reinen amorphen und kristallinen Phase wurden drei Kalibrierreihen angefertigt. Als Modellsubstanzen dienten α -Lactosemonohydrat und amorphe Lactose. Alle Mischungen wurden aus den gleichen Chargen amorpher bzw. kristalliner Substanz hergestellt und an den o.g. Geräten nahezu simultan vermessen ($n = 3 - 9$).

- 10 – 90 % kristalline Substanz in der amorphen Matrix; 10 % Intervalle
- 1 – 9 % amorphe Substanz in der kristallinen Matrix; 1 % Intervalle
- 0.5 – 10 % kristalline Substanz in der amorphen Matrix: 0.5, 1, 3, 5, 7, 10 %

Die erhaltenen Spektren wurden unterschiedlich ausgewertet:

- Methode nach Hermans und Weidinger (Kap. 2.3.1) oder Peakfläche („klassisch“)
- PLSR (Kap. 3.2.3.3)

Die Validierung der PLS Ergebnisse erfolgte intern durch die sog. Kreuzvalidierung (Kap. 3.2.3.5)

Anschließend wurden die Kalibrierkurven auf die Analyse verschiedener Proben angewendet:

- Proben bekannten amorphen oder kristallinen Gehalts
- Proben unbekanntem Kristallinitätsgrades:
 - a) geringer amorpher Gehalt
 - b) geringer kristalliner Gehalt
 - c) geringer amorpher Gehalt bei gleichzeitig unterschiedlicher Partikelgröße und –form

4.1.4 Substanzcharakterisierung

4.1.4.1 Kristalline Lactose

Als kristalliner Standard wurde Granulac 200, ein gemahlenes α -Lactosemonohydrat der Fa. Meggle, gewählt (x_{10} : 3 μm ; x_{50} : 25 μm ; x_{90} : 70 μm), das im folgenden nur noch als „kristalline Lactose“ oder „kristalliner Standard“ bezeichnet wird. Die Dichte- sowie die Summenverteilung der Teilchengröße sind in Abb. 4.1.1 dargestellt.

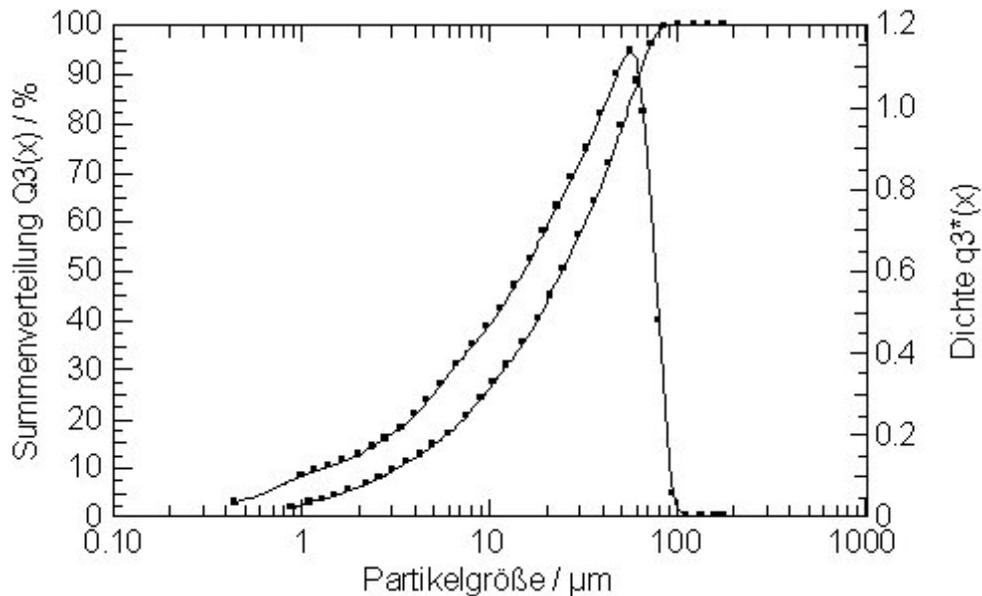


Abb. 4.1.1: Dichte- und Summenverteilung von Granulac 200; x_{10} : 3 μm , x_{50} : 25 μm , x_{90} : 70 μm

Die Substanz wurde eine Woche bei 65 % rF gelagert, um eventuell vorhandene amorphe Bereiche vollständig rekristallisieren zu lassen. 50 - 60 % rF entsprechen dabei der kritischen relativen Feuchte, bei der amorphe Lactose rekristallisiert [72, 76, 77].

Abb. 4.1.2 und 4.1.3 zeigen das DSC bzw. TGA Thermogramm von α -Lactosemonohydrat. Bei ca. 150°C verliert die Substanz ihr Kristallwasser, das zu 5 % enthalten ist, bei 210°C schmilzt die dabei gebildete, wasserfreie α -Lactose. Die noch folgenden Endothermen können möglicherweise auf das Schmelzen von α/β Mischkristallen oder reiner β -Lactose zurückgeführt werden, die bei der Dehydratation des Monohydrats bzw. beim Schmelzen der wasserfreien α -Form anteilig entstehen [78].

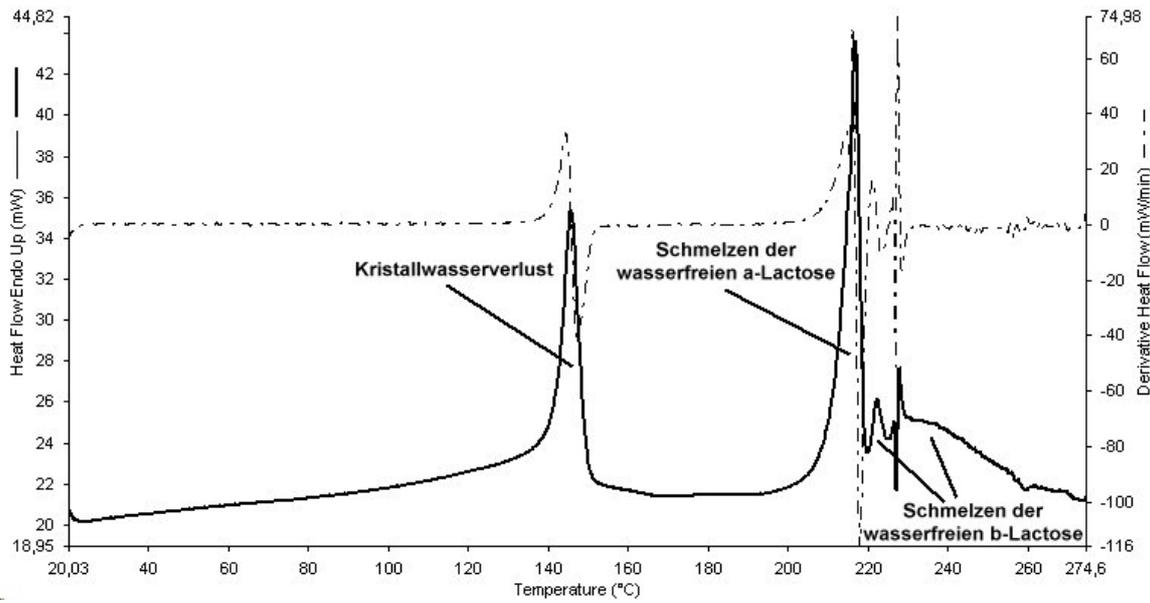


Abb. 4.1.2: DSC Thermogramm von α -Lactosemonohydrat mit 1. Ableitung

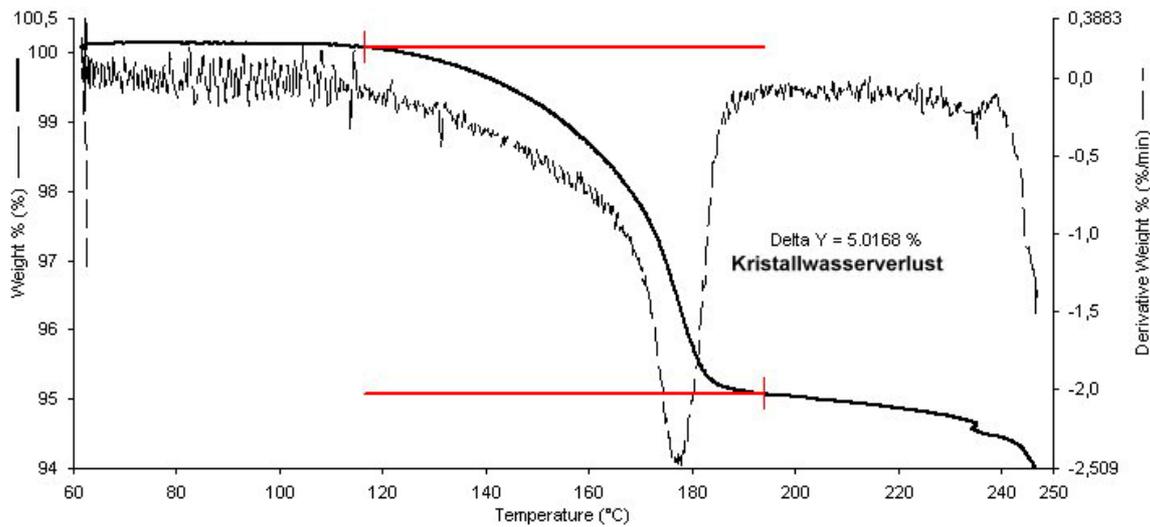


Abb. 4.1.3: TGA Thermogramm von α -Lactosemonohydrat mit 1. Ableitung; Wassergehalt: $\approx 5\%$

Das Röntgendiffraktogramm (Abb. 4.1.4) wie auch das rasterelektronenmikroskopische Bild (Abb. 4.1.5) zeigen anhand der scharfen Peaks in Kombination mit dem geringen Untergrund sowie der formklaren, kantigen Partikel die hohe Kristallinität der Substanz, die für die folgenden Kalibrierreihen als 100 % festgesetzt wird.

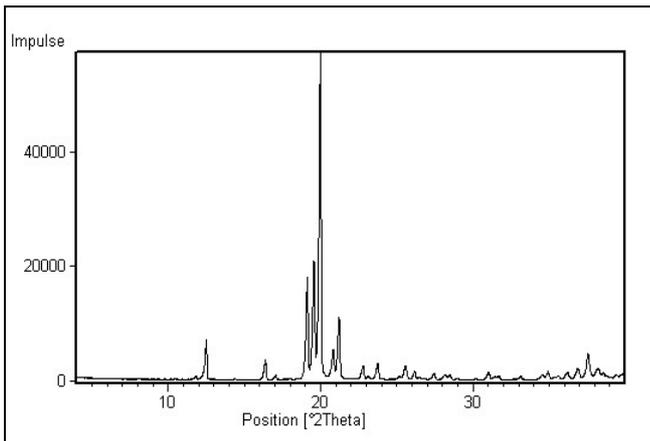


Abb. 4.1.4: Röntgendiffraktogramm von Granulac 200

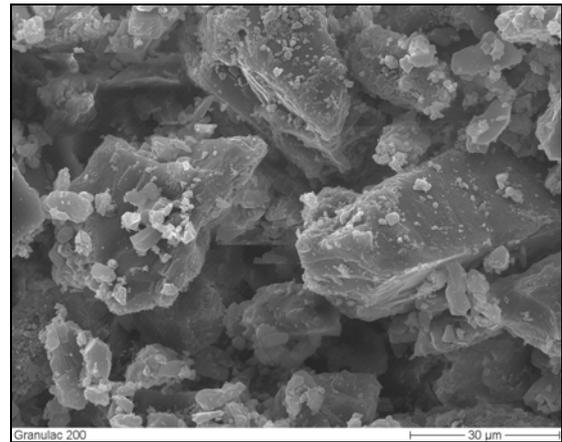


Abb. 4.1.5: REM – Bild von Granulac 200

4.1.4.2 Amorphe Lactose

Amorphe Lactose wurde durch Gefriertrocknung einer gesättigten Lactoselösung hergestellt, deren Bodenkörper zuvor abgetrennt wurde. Um durch eine möglichst schnelle Fällung einen 100 % -igen Unordnungsgrad zu erreichen, wurde in flüssigem Stickstoff ein- und durchgefroren. Die anschließende Trocknung erfolgte in der evakuierten Kammer des Christ Alpha 2-4 Gefriertrockners über 48 h. Verbliebenes Absorptionswasser wurde durch Trocknung der Substanz bei 50°C entfernt. Um Rekristallisation zu vermeiden [76], erfolgte die Lagerung zwischen den Messungen über Silicagel (2 % rF). Während einer Messung wurde eine Umgebungsfeuchte von maximal 30 % nie überschritten (→ keine Rekristallisationsgefahr).

Die Partikelgrößenverteilung ist in Abb. 4.1.6 dargestellt und ist in ihren charakteristischen Korngrößen (x_{10} : 3.5 μm , x_{50} : 14 μm , x_{90} : 64 μm) mit denen von Granulac 200 vergleichbar.

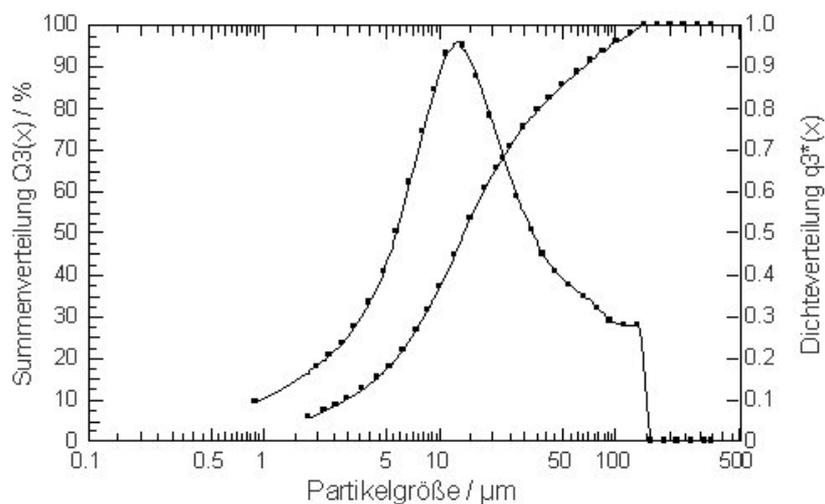


Abb. 4.1.6: Partikelgrößenverteilung von amorpher Lactose; x_{10} : 3.5 μm , x_{50} : 14 μm , x_{90} : 64 μm

Nach der Herstellung betrug der Restwassergehalt der amorphen Lactose weniger als 0.5 % (Abb. 4.1.7). Das DSC Thermogramm von amorpher Lactose im nicht hermetisch geschlossenen Tiegel (Abb. 4.1.8) zeigt einen deutlichen Kristallisationspeak bei ca. 147°C und einen Schmelzprozess bei ungefähr 210 °C. Aufgrund des hohen Druckes im Tiegel ist dieser Vorgang jedoch nicht mehr als klarer Peak erkennbar, sondern ähnelt eher einer Zersetzung. Im offenen Tiegel (Abb. 4.1.9) findet die Kristallisation erst bei 180°C statt, was auf die Bildung eines α/β -Mischkristalls [78] schließen lässt, der kurz darauf bei 210°C schmilzt, gefolgt von der β -Lactose Schmelze, wobei sich die β -Lactose während des ersten Schmelzvorgangs anteilig bildet [76, 78].

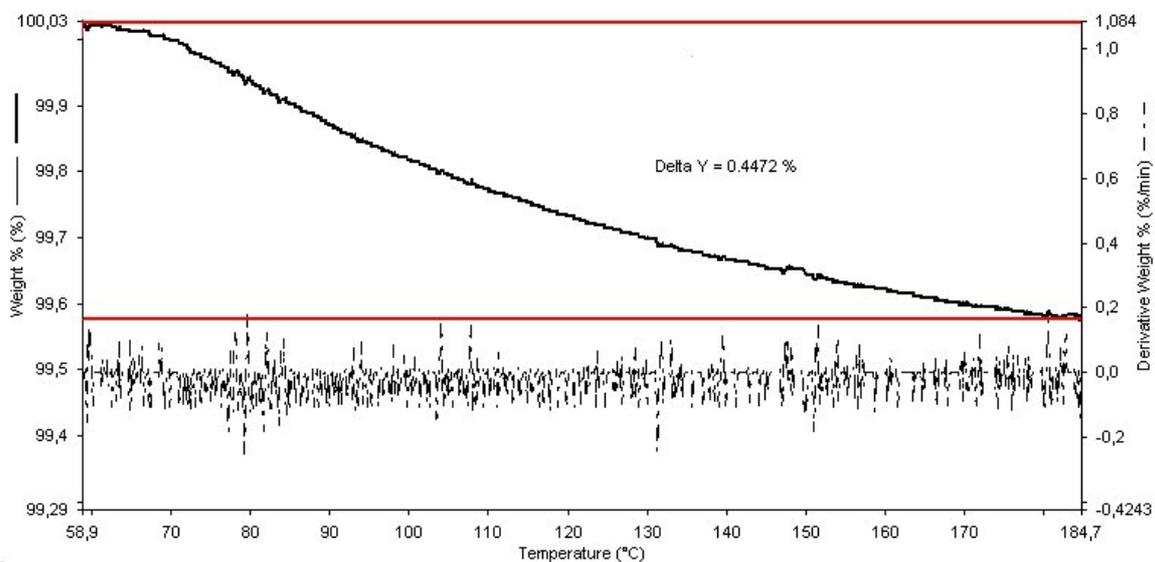


Abb. 4.1.7: TGA Thermogramm von amorpher Lactose mit 1. Ableitung; Wassergehalt: < 0.5 %

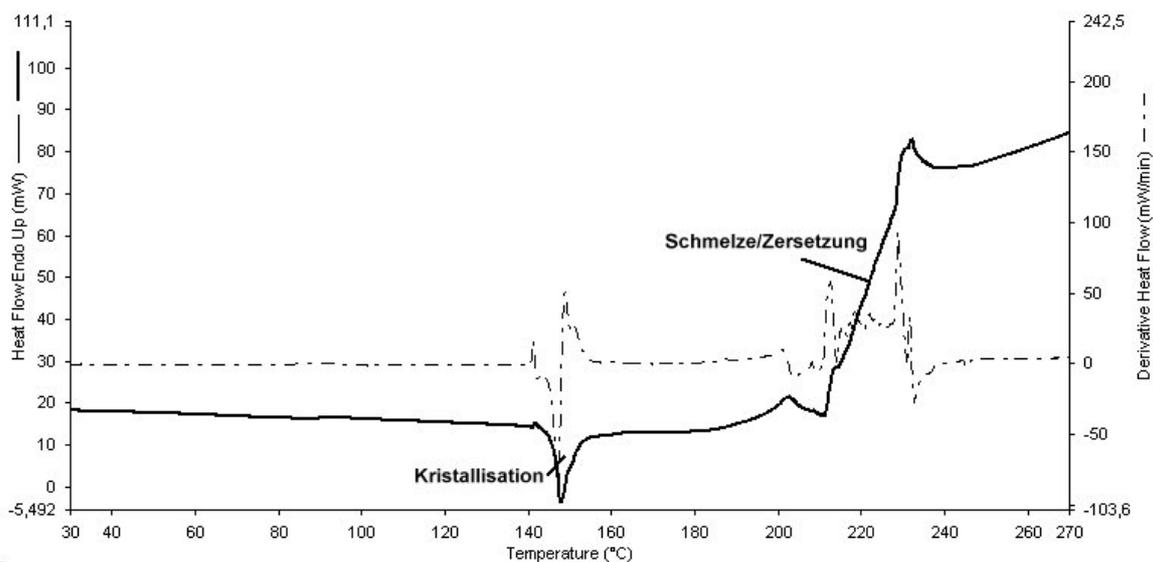


Abb. 4.1.8: DSC Thermogramm von amorpher Lactose in geschlossenem Tiegel

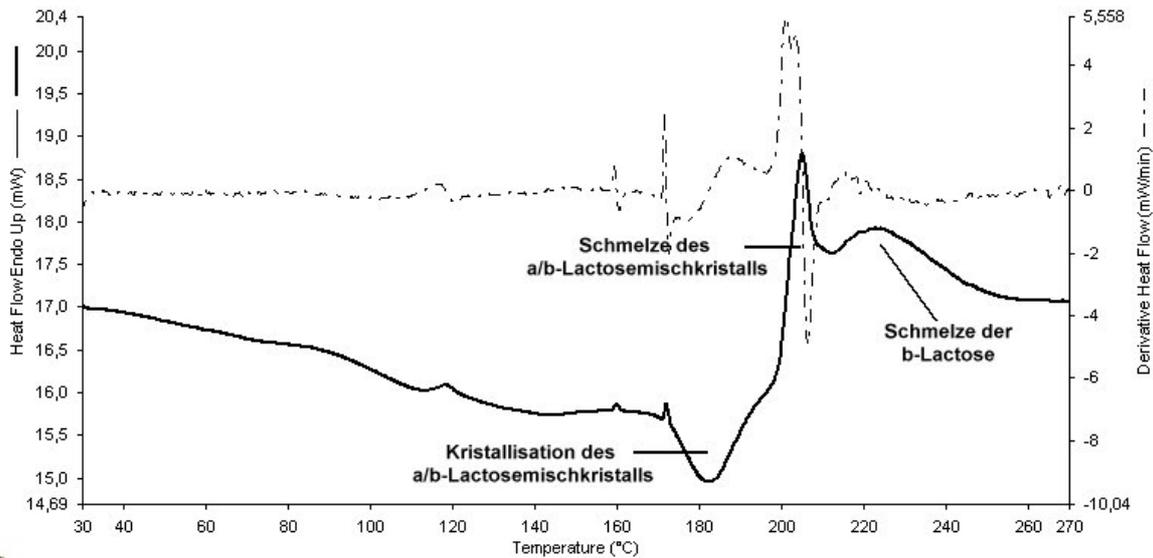


Abb. 4.1.9: DSC Thermogramm von amorpher Lactose in offenem Tiegel

Das Röntgendiffraktogramm (Abb. 4.1.10) zeigt lediglich einen amorphen Halo und die im REM – Bild sichtbaren wachstartigen, formlosen Bruchstücke unterstreichen den amorphen Charakter des Materials (Abb. 4.1.11).

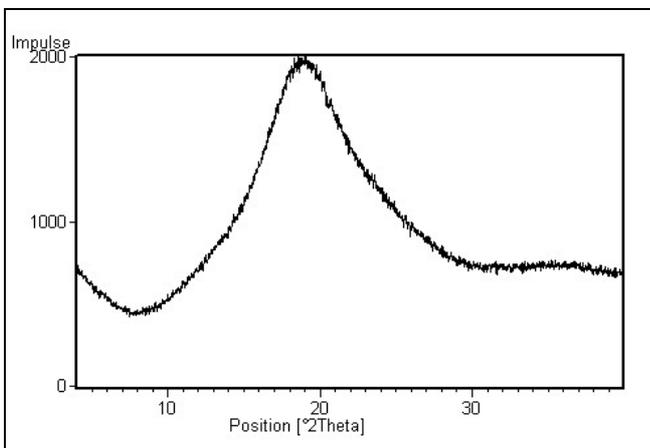


Abb. 4.1.10: Röntgendiffraktogramm von amorpher Lactose

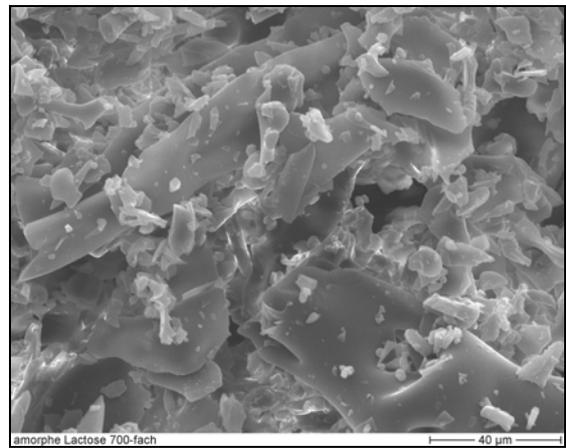


Abb. 4.1.11: REM Bild von amorpher Lactose

4.1.4.3 Kristallisationsverlauf von amorpher Lactose

Ein Stoff kristallisiert aus seinem amorphen Zustand, wenn seine Glasübergangstemperatur T_g die Umgebungstemperatur unterschreitet. Dies kann durch zwei Vorgänge ausgelöst werden: zum einen durch den Weichmachereffekt von Wasser, der die T_g senkt, oder durch eine Erhöhung der Umgebungstemperatur (vgl. DSC). Die häufigere Ursache stellt dabei die Absorption von Wasser

bei hoher Umgebungsfeuchte dar. Fällt die T_g unter die Raumtemperatur, so wechselt der amorphe Zustand von einem glasartigen („glassy“) in einen gummiartigen („rubbery“) über. Damit verbunden ist eine Erniedrigung der Viskosität, d.h. eine erhöhte molekulare Mobilität, die den Kristallisationsprozess auslöst. Welche Kristallisationsprodukte entstehen, hängt davon ab, inwiefern sich in der Lactoselösung ein Mutarotationsgleichgewicht zwischen α - und β -Lactose ausgebildet hat [79]. In der Literatur werden mehrere Kristallisationsprodukte beschrieben [77, 79]: In Abhängigkeit von der Umgebungsfeuchte entstehen zu unterschiedlichen Anteilen α -Lactosemonohydrat, stabile, wasserfreie α -Lactose, α/β -Mischkristalle wechselnder Zusammensetzung (5:3 oder 4:1) sowie β -Lactose. Das Monohydrat stellt das Hauptprodukt dar, in das sich die anderen Formen über kurz oder lang auch umwandeln [69]. Folgendes Schema gibt nochmals einen kurzen Überblick:

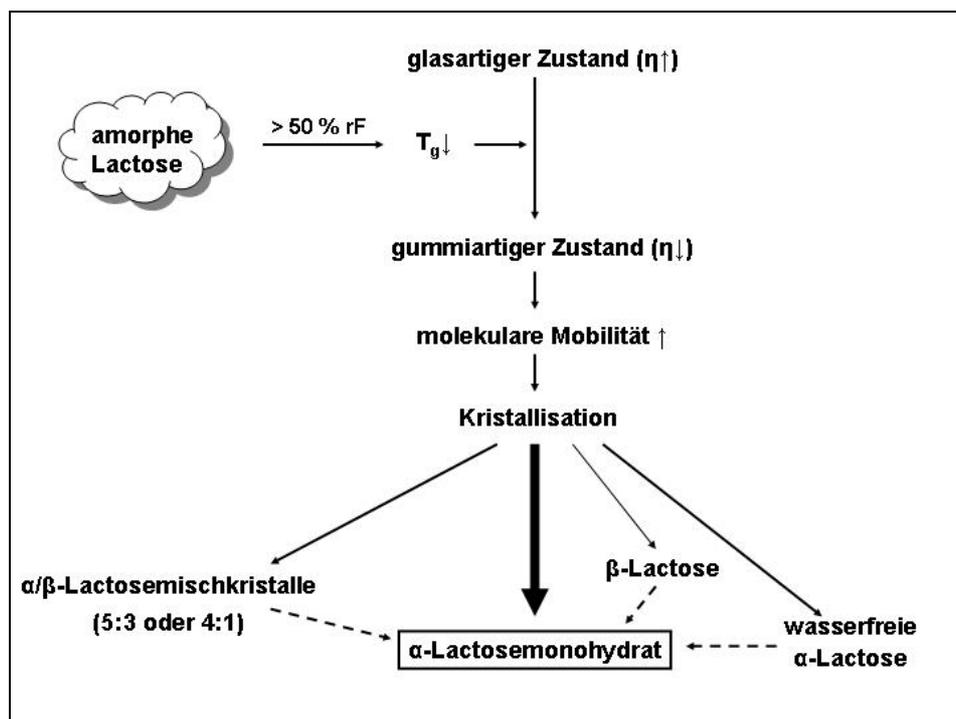


Abb. 4.1.12: Kristallisationsschema von amorpher Lactose

4.1.5 Kalibrierung

Im Folgenden werden die Ergebnisse der einzelnen Kalibrationsreihen dargestellt. Graphisch sind bei den PLS-Regressionen immer die (Kreuz-) Validierungskurven aufgeführt, da auf ihnen die Vorhersage unbekannter Proben basiert.

4.1.5.1 10 – 90 % kristalliner Gehalt

4.1.5.1.1 XRPD

Abb. 4.1.13 zeigt den Einfluß eines variierenden kristallinen Gehaltes in einer binären Mischung aus amorpher und kristalliner Lactose. Beispielhaft dargestellt sind die Röntgenspektren der Kalibriermuster mit 10, 30, 70 und 90% kristallinem Anteil. Es ist deutlich zu erkennen, dass der Untergrund mit ansteigendem amorphem Gehalt zunimmt, was auf die vermehrte diffuse Streuung am ungeordneten, amorphen Anteil zurückzuführen ist, während die Peaks in ihrer Höhe abnehmen.

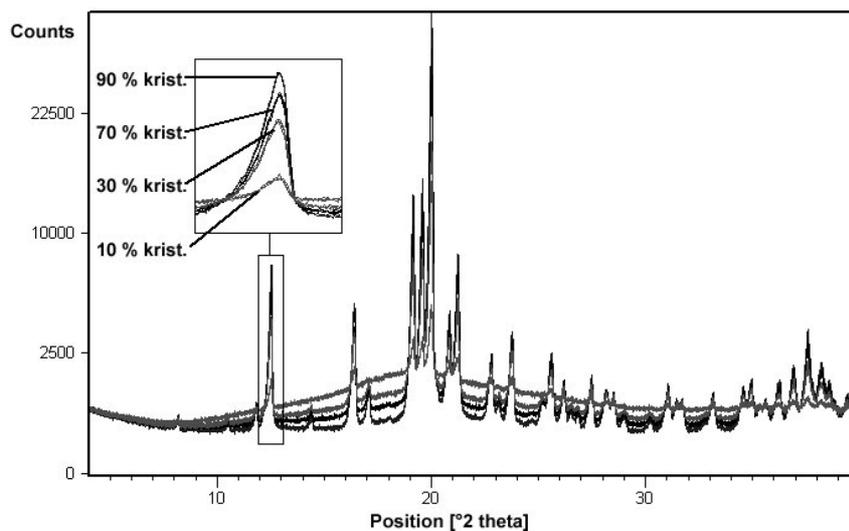


Abb. 4.1.13: Röntgenspektren der Proben mit 10, 30, 70 und 90 % kristallinem Gehalt. Mit sinkender Kristallinität nehmen die Höhe der Peaks ab und das Untergrundrauschen zu

Die Quantifizierung des kristallinen Gehaltes erfolgt bei der klassischen, univariaten Auswertung über die profilverfeinerte Peakfläche, die gegen den „wahren“ Anteil an kristalliner Substanz aufgetragen wird. Von jeder Mischung wurden drei voneinander unabhängige Wiederholungsmessungen durchgeführt. Das erhaltene Kalibrationsmodell zeigt eine hohe Linearität ($r: 0.9991$), eine Steigung von ca. 1 und einen Offset von nahezu 0 (Tab. 4.1.3). Der Methodenfehler der Kalibration, repräsentiert durch den RMSEC, der sowohl systematische wie auch zufällige Fehler beinhaltet, liegt bei 3.53 %.

	XRPD		NIRS	DSC
	klassisch	PLSR	PLSR	klassisch
X-Variablen	Peakfläche	reflexfreier Untergrund	5342 - 4865 cm ⁻¹	Peakfläche
Messzeit [min]	3	3	0,5	15
Korrelationskoeffizient r Cal	0,9991	0,9996	0,9993	0,9955
Korrelationskoeffizient r Val	n.b.	0,9995	0,9985	n.b.
Steigung Cal	0,999	0,9991	0,9986	polynom.
Steigung Val	n.b.	0,9982	1,013	n.b.
Offset Cal	0,034	0,043	0,069	-0,648
Offset Val	n.b.	0,063	-0,597	n.b.
RMSEC	3,533	0,916	1,176	n.b.
RMSEP	n.b.	0,998	1,785	n.b.
SEC	3,7244	0,931	1,194	n.b.
SEP	n.b.	1,014	1,812	n.b.
Bias Cal	0,042	4,17E-07	2,31E-06	n.b.
Bias Val	n.b.	-0,020	0,058	n.b.
PC	n.b.	1	3	n.b.

Tab. 4.1.3: Statistische Daten zu den Regressionen der verschiedenen Methoden

Für die PLSR (multivariate Auswertung) wurden statt eines oder mehrerer Peaks der amorphe Halo, d.h. die reflexfreien Zonen, als X-Variable verwendet. Dies hat den Vorteil, dass Schwankungen in der Peakintensität durch Textur- und Probenpräparationseffekte nicht in die Berechnung mit eingehen, was die Varianz innerhalb der Replikate sowie in den Kalibrationsmustern untereinander verkleinert. Das erstellte Modell ist mit einer Hauptkomponente denkbar einfach und erklärt durch diese 100% der Y- sowie 99% der X-Varianz. Die Anordnung der Kalibrierset entlang der ersten Hauptkomponente sind im Score Plot, d.h. der reduzierten Datenmatrix T aus X, graphisch dargestellt. Die Varianz innerhalb eines Datensets steigt mit abnehmendem Kristallinitätsgrad.

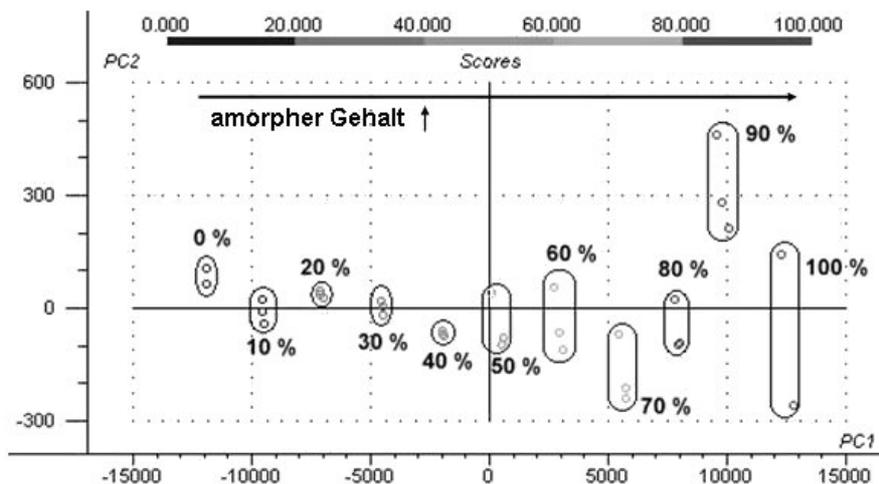


Abb. 4.1.14: Score Plot (XRPD) der Kalibrierreihe 10 – 90 %: die Probensets sind entlang der ersten Hauptkomponente geordnet; mit abnehmendem Kristallinitätsgrad nimmt die Varianz innerhalb eines Datensets zu.

Linearität, Steigung und Offset der Ergebnisse nach Kreuzvalidierung sind mit denen der klassischen Auswertung vergleichbar. Deutlich verbessert hat sich der Methodenfehler (RMSEP: 0.998 %), da bei der PLSR die Variationen innerhalb der bzw. zwischen den Spektren so modelliert werden, dass sie die Y-Variable, d.h. die Konzentration, optimal vorhersagen. Dadurch steigt die Sicherheit bei der Vorhersage unbekannter Proben. Dementsprechend schmaler sind auch die eingezeichneten Konfidenzintervalle in Abb. 4.1.15 verglichen mit Abb. 4.1.16. Der getrennte Vergleich von systematischem (Bias) und zufälligem (SEC/SEP) Fehler führt ebenfalls zu ähnlichen Ergebnissen. Die Auswertung mittels PLSR erhöht sowohl die Richtigkeit als auch die Präzision der Methode.

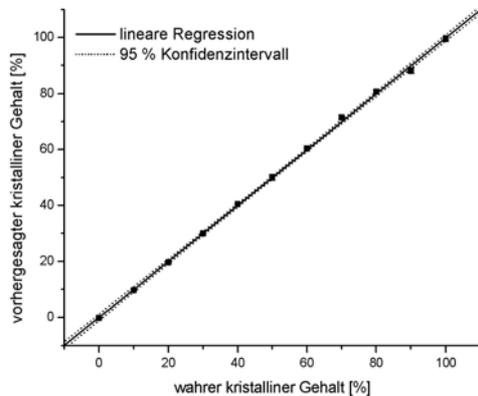


Abb. 4.1.15: Graphische Darstellung der XRPD Ergebnisse der Kreuzvalidierung nach PLSR

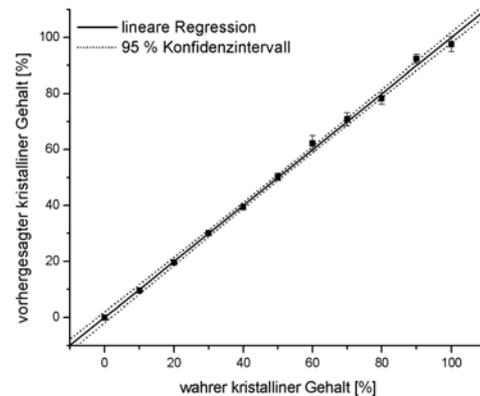


Abb. 4.1.16: Graphische Darstellung der XRPD Kalibrierergebnisse nach Auswertung über die Peakfläche

4.1.5.1.2 NIRS

In einer binären Mischung aus kristalliner und amorpher Lactose kann der zunehmende amorphe Anteil am genauesten über die Abnahme der OH-Kombinationsschwingung des Kristallwassers ($5342 - 4865 \text{ cm}^{-1}$) quantifiziert werden, da diese Bande am empfindlichsten auf den abnehmendem Monohydratanteil reagiert und den wesentlichen spektralen Unterschied zwischen der amorphen und der kristallinen Phase darstellt. Um störende Effekte aufgrund einer variierenden Schichtdicke oder Partikelgröße zu verringern, erfolgt zunächst eine Datenvorbehandlung in Form einer MSC sowie der ersten Ableitung. Die sich daraus ergebenden Spektren sind exemplarisch für die Konzentrationen 10, 30, 70 und 90 % kristallinen Anteils in Abb. 4.1.17 dargestellt.

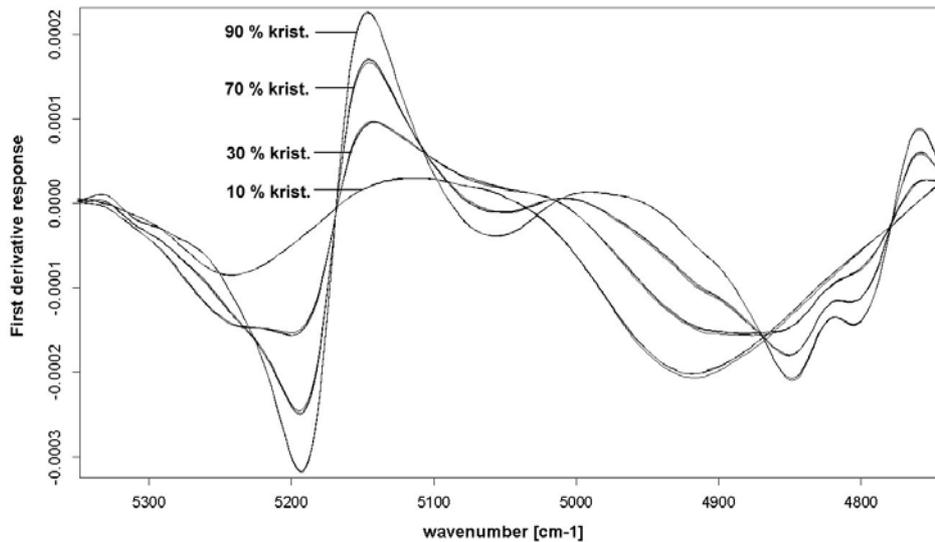


Abb. 4.1.17: NIR – Spektren der OH-Kombinationsschwingung binärer Gemische aus kristalliner und amorpher Lactose nach 1. Ableitung und MSC bei 5342 – 4865 cm^{-1}

Die quantitative Auswertung erfolgte mittels der PLS Regression. Im Gegensatz zu XRPD erweist sich die Einordnung der 100%ig amorphen Lactose in die Gesamtkalibration als schwierig. Durch das vollständige Fehlen von Kristallwasser verändert sich die Absorptionsbandenstruktur des dazugehörigen Spektrums so stark, dass es zu den anderen Proben matrixfremd wird. Dies äußert sich im Scoreplot durch die deutliche Abseitslage der rein amorphen Proben, sowie in der Notwendigkeit einer weiteren, dritten Hauptkomponente zur Erklärung der gesamten (99.74 %) Variation in X, die ohne die dritte Komponente bei nur 40.24 % liegen würde.

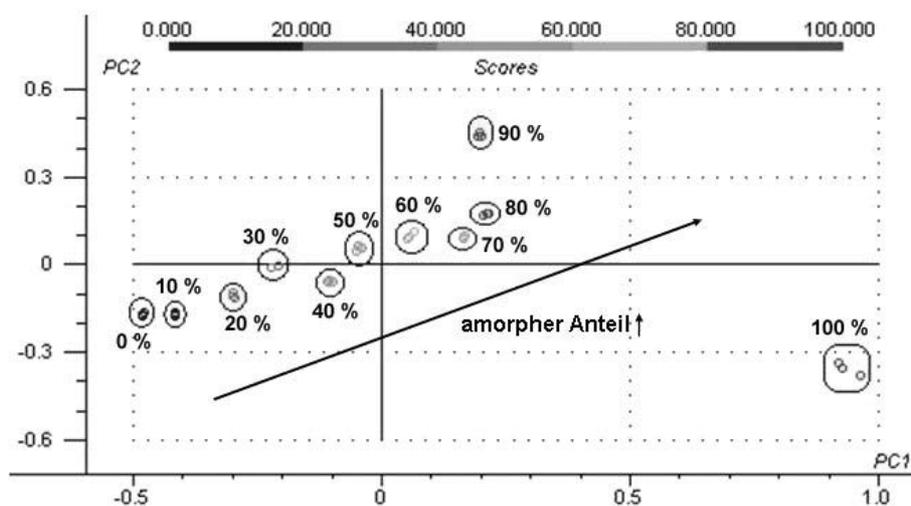


Abb. 4.1.18: Score Plot (NIRS) der Kalibrierreihe 10 – 90 %: die Proben sets sind entlang der ersten und zweiten Hauptkomponente geordnet, die Varianz innerhalb der Datensets ist minimal. Durch die Matrixfremdheit der rein amorphen Proben liegen diese abseits

Die Ergebnisse der Kreuzvalidierung sind mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0.998$ und einem RMSEP von 1.79 % gut, verglichen mit den PLS Ergebnissen von XRPD jedoch qualitativ schlechter. Der Offset der Regressionsgeraden ist aufgrund des abweichenden spektralen Verhaltens von rein amorpher Lactose mit -0.6 deutlich unter null, und auch Richtigkeit und Präzision der Methode sind trotz geringer Varianz innerhalb der einzelnen Datensets niedriger als bei XRPD (Tab. 4.1.4). Dies zeigt auch der Methodenfehler (RMSEP), der mit 1.79% signifikant über dem von XRPD (1 %) liegt. Die damit verbundene erhöhte Unsicherheit in der Vorhersage unbekannter Proben führt im Regressionsmodell zu weiter gefassten 95% Konfidenzintervallen (Abb. 4.1.19). Das Kalibrationsmodell ist mit drei Hauptkomponenten wesentlich komplexer als bei XRPD (1 PC), was für die Einfachheit der Kalibrationsmuster (binäre Gemische) erstaunlich ist, aber durch die Matrixfremdheit des amorphen Bestandteils erklärt werden kann. Eine Neuberechnung des Modells unter Weglassen der 100% amorphen Proben verbesserte die Qualität der Regression nicht.

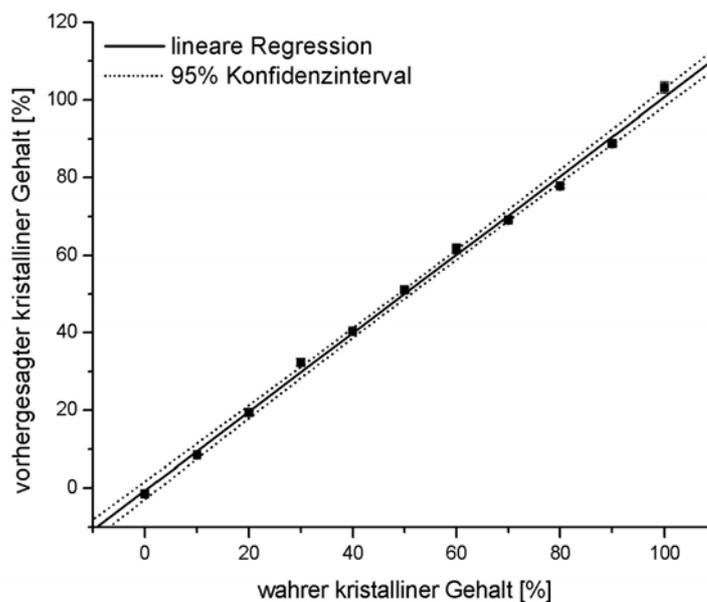


Abb. 4.1.19: Graphische Darstellung der NIR Ergebnisse der Kreuzvalidierung nach PLS Regression

Aufgrund der oben aufgeführten Kalibrationsergebnisse von XRPD und NIRS ergibt sich ein linearer Zusammenhang zwischen beiden Methoden, der in Abb. 4.1.20 dargestellt ist.

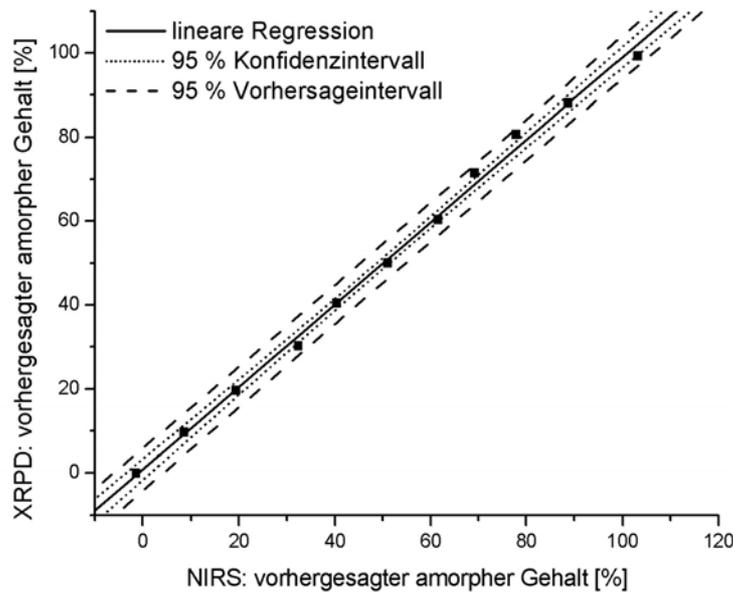


Abb. 4.1.20: Linearer Zusammenhang zwischen den XRPD und NIRS Ergebnissen

4.1.5.1.3 DSC

Bei der kalorimetrischen Kristallinitätsbestimmung zeigt die freiwerdende Kristallisationsenergie eine polynomische Abhängigkeit zweiten Grades ($r: 0.996$) von dem jeweilig in den Kalibrationsmustern enthaltenen amorphen Anteil (Abb. 4.1.21). Dies bedeutet, dass bei einem amorphen Gehalt von $< 20\%$ die Empfindlichkeit der Methode sehr nachlässt. Bei $> 70\%$ sinkt die Messgenauigkeit, was durch die höheren Standardabweichungen der Messergebnisse gezeigt wird.

Die Kristallisation der 100% amorphen Proben erfolgte zufällig bei unterschiedlichen Temperaturen ($140 - 150^\circ\text{C}$), die aufgrund der fehlenden Kristallisationskeime weit über den Kristallisationstemperaturen der Mischungen (ca. 104°C) lagen. Da das Ausmaß der Kristallisationsenthalpie von der Temperatur abhängt, bei der die Kristallisation beginnt (je später, desto höher die freiwerdende Energie) [65], wurde die 100% Probe nicht in die Kalibration eingeschlossen, um das Regressionsergebnis nicht zu verfälschen. Die sonst übliche Auswertung über das Verhältnis von Kristallisations- und Schmelzpeak oder über den Glasübergang war aufgrund des Fehlens eines deutlichen Schmelzpeaks (Kap. 4.1.4.2) bzw. Glasübergangs nicht möglich.

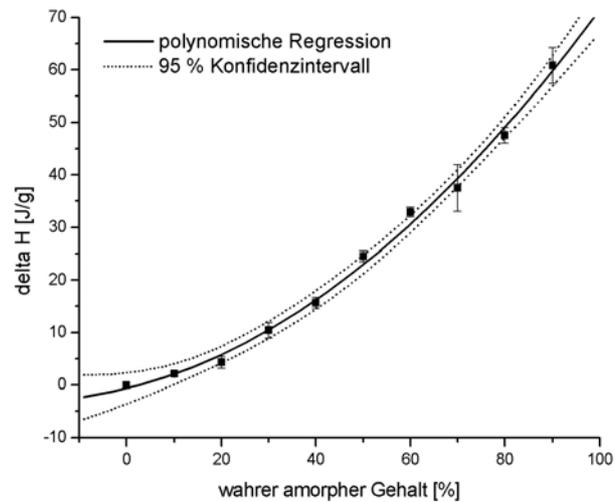


Abb. 4.1.21: Abhängigkeit der Kristallisationsenergie ΔH vom amorphen Anteil in der Probe; Polynomfunktion 2. Grades: $y = -0.648 + 0.223x + 0.005x^2$

4.1.5.1.4 Gesamtbewertung

Der Vergleich der drei Methoden ergibt, dass die beiden spektroskopischen Verfahren XRPD und NIRS in der Lage sind, innerhalb kurzer Zeit (3 min für XRPD und 0.5 min für NIRS) die Kristallinität einer Probe zu quantifizieren und mit hoher Genauigkeit einen linearen Zusammenhang zwischen dem Ordnungszustand eines Materials und der spektralen Eigenschaft herzustellen. Die multivariate Auswertung über die PLSR ist dafür besonders vorteilhaft. Aufgrund der fehlenden Linearität, Genauigkeit und Sensitivität der DSC in Kombination mit einer verhältnismäßig langen Messzeit, wird diese Methode für die folgenden, feineren Kalibrierreihen nicht mehr angewendet.

4.1.5.2 1 – 9 % amorpher Gehalt

4.1.5.2.1 XRPD

Die Quantifizierung geringer amorpher Lactosemengen in einer umgebenden kristallinen Matrix erfolgt einerseits klassisch, d.h. über die Berechnung des Verhältnisses der Netto- zur Gesamtintensität im Diffraktogramm (Methode nach Hermans und Weidinger), andererseits mittels PLS Regression. Dabei werden für letztere unterschiedliche Bereiche des Spektrums als X-Variablen für die Berechnung des Modells gewählt: entweder der reflexfreie Untergrund oder das gesamte Spektrum, d.h. inklusive der Peaks, im Winkelbereich von 10 bis 35 °2 θ .

Analog zu der 10 – 90 % Kalibration beruht der Lösungsansatz des reflexfreien Untergrunds als X-Matrix auf der Annahme, dass dieser Bereich von Textur- und Partikelgrößeneffekten weitgehend

unbeeinflusst ist, was bei dem zweiten Ansatz durch die Hinzunahme der Peaks nicht mehr der Fall ist. Der Vorteil des zweiten Ansatzes besteht darin, dass sein Informationsgehalt insgesamt höher ist, da eine sich ändernde Kristallinität nicht nur den Untergrund, sondern auch die Höhe und die Form der Peaks beeinflusst.

Alle Messungen wurden unter dem Gesichtspunkt durchgeführt, eine möglichst hohe Genauigkeit und niedrige Nachweisgrenze bei gleichzeitig minimaler Messzeit zu erreichen. Als optimal erwies sich hierbei eine Scangeschwindigkeit von $20^\circ 2\theta$ pro Minute. Da der gemessene Winkelbereich $40^\circ 2\theta$ umfasste, resultiert daraus eine Gesamtmesszeit von 2 Minuten, was für röntgenographische Untersuchungen sehr kurz ist.

Abb. 4.1.22 zeigt die Veränderung der Basislinie im Röntgenspektrum bei einer geringen Variation des amorphen Anteils.

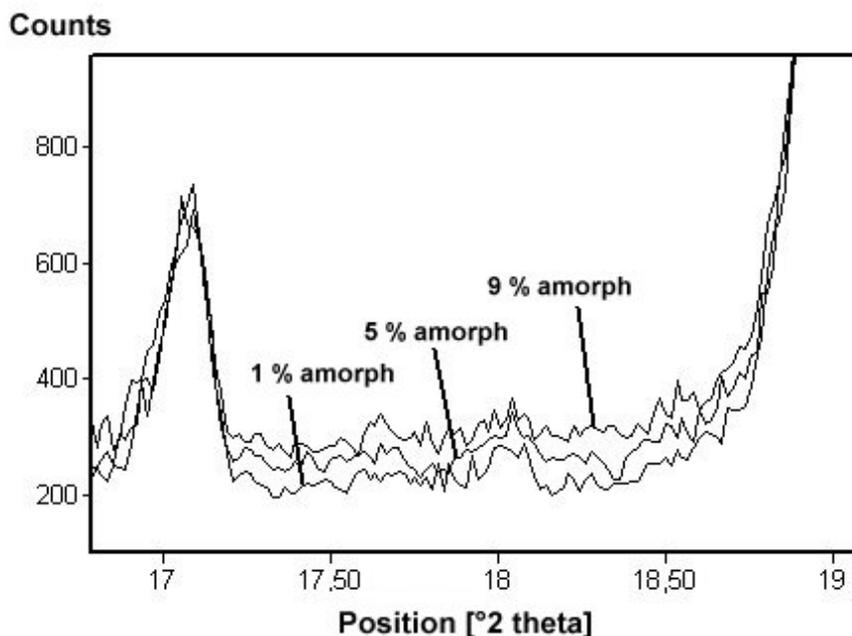


Abb. 4.1.22: Röntgenspektren der Proben mit 1, 5 und 9 % amorphen Restgehalt; während in der Höhe der Peaks kein visuell deutlicher Unterschied mehr zu erkennen ist, zeigt der mit dem amorphen Gehalt zunehmende Untergrund die unterschiedliche Kristallinität der Proben

Die klassische Auswertung nach Hermans und Weidinger liefert ein lineares Regressionsmodell (Abb. 4.1.23) mit hoher Korrelation ($r: 0.994$), einer Steigung von 1 und einem Offset von null (Tab. 4.1.4). Der Methodenfehler der Kalibration (RMSEC) von 0.52 % beruht im Wesentlichen auf zufälligen Fehlern, da der Bias mit -0.01 % denkbar gering ist. Aufgrund der erreichten Messgenauigkeit bei der Vermessung der Probe mit dem geringsten amorphen Anteil [73], d.h. 1 %,

lässt sich eine Nachweisgrenze von 0.93 % amorphem Material in der umgebenden kristallinen Matrix berechnen ($LOD = 3 \times sd / \text{Steigung der Kalibrierkurve}$). Für Quantifizierbarkeit eines amorphen Restgehalts ergibt sich so 3.1 % ($LOQ: 10 \times sd / \text{Steigung der Kalibrierkurve}$).

Die PLS Regression der Daten verbessert die Qualität der Ergebnisse. Unter Verwendung des gesamten Spektrums ($10 - 35^\circ 2\theta$, Abb. 4.1.24) als X-Matrix verbessert sich der RMSEC auf 0.15 % und der RMSEP, d.h. der Methodenfehler der Vorhersage, auf 0.38 %. Die Nachweis- bzw. Quantifizierungsgrenze werden auf 0.57 bzw. 1.9 % gesenkt. Wird nur der reflexfreie Untergrund für die Regression zugrunde gelegt (Abb. 4.1.25), können RMSEP, LOD und LOQ auf 0.34, 0.27 bzw. 0.9 % gesenkt werden. Außerdem ist das berechnete Modell weniger komplex (2 PCs) als das des gesamten Spektrums (3 PCs), bei dem die Höhenvariationen in den Peaks noch mitmodelliert werden müssen.

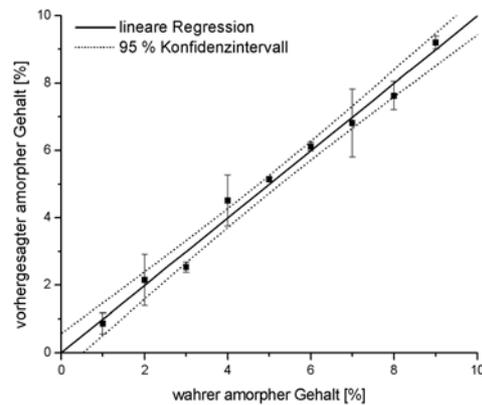


Abb. 4.1.23: Lineare Regression der klassischen Auswertung über I_{net}/I_{obs}

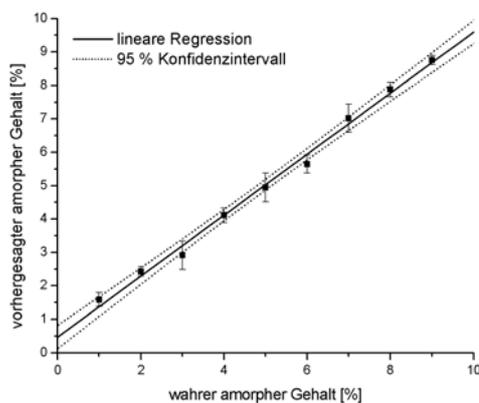


Abb. 4.1.24: Graphische Darstellung der XRPD Ergebnisse nach PLSR über $10 - 35^\circ 2\theta$ und Kreuzvalidierung

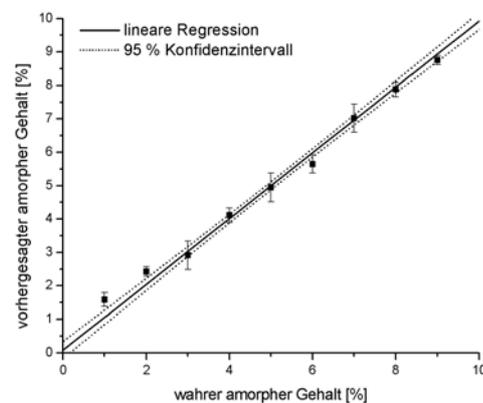


Abb. 4.1.25: Graphische Darstellung der XRPD Ergebnisse nach PLSR über den reflexfreien Untergrund und Kreuzvalidierung

	XRPD			NIRS
	2	2	2	0,5
Messzeit [min]	2	2	2	0,5
X-Variablen	I_{net}/I_{obs}	reflexfreier Untergrund	10 - 35 °2theta	5342 - 4865 cm^{-1}
Korrelationskoeffizient r Cal	0,994	0,996	0,998	0,995
Korrelationskoeffizient r Val	n.b.	0,991	0,992	0,993
Steigung Cal	0,999	0,992	0,997	0,990
Steigung Val	n.b.	0,972	0,912	0,963
Offset Cal	0,003	0,040	0,020	0,050
Offset Val	n.b.	0,165	0,472	0,170
RMSEC	0,523	0,231	0,151	0,330
RMSEP	n.b.	0,333	0,379	0,396
SEC	0,533	0,236	0,154	0,335
SEP	n.b.	0,338	0,384	0,402
Bias Cal	-0,010	8,83E-08	-1,68E-07	3,83E-07
Bias Val	n.b.	0,024	0,035	-0,017
PC	n.b.	2	3	1
LOD [%]	0,93	0,27	0,57	0,2
LOQ [%]	3,1	0,90	1,90	0,65

Tab. 4.1.4: Statistische Daten der verschiedenen Lösungsansätze und Methoden

4.1.5.2.2 NIRS

Analog zu der Auswertung der 10 – 90 % Kalibrierreihe dient die OH-Kombinationsschwingung zur Quantifizierung des amorphen Restgehaltes. Da diesmal spektrale Störungen durch größere amorphe Anteile fehlen (Abb. 4.1.26), ist das erstellte Modell mit einer Hauptkomponente sehr einfach und erreicht mit einem RMSEP von ca. 0.4 % und einem LOD und LOQ von 0.2 % bzw. 0.65 % eine hohe Genauigkeit und Vorhersagesicherheit (Abb. 4.1.27).

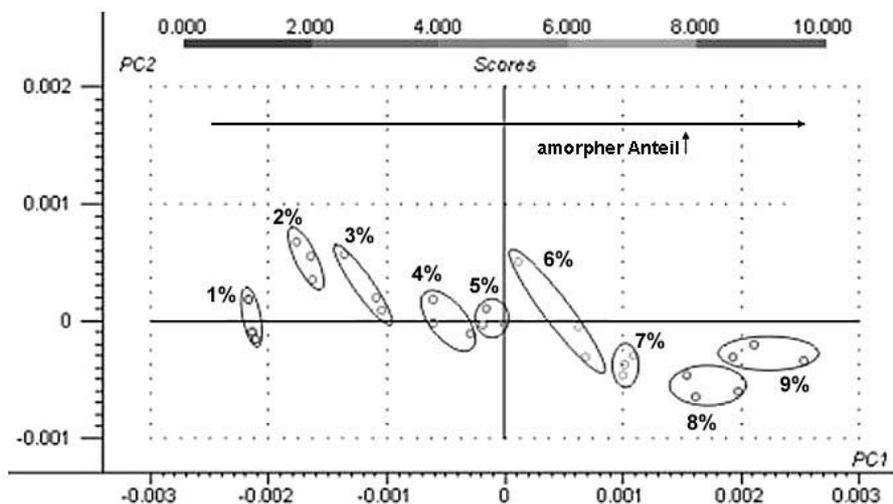


Abb. 4.1.26: Score Plot der NIR Kalibrierung 1 – 9 % amorpher Gehalt: die Proben sind entlang der ersten Hauptkomponente angeordnet

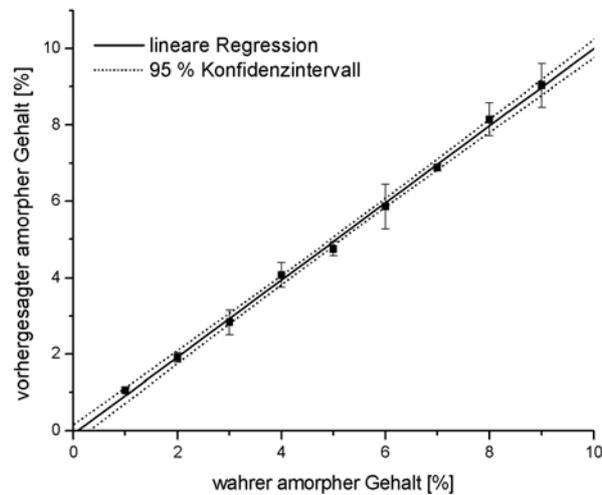


Abb. 4.1.27: Graphische Darstellung der NIR Ergebnisse nach PLS Regression und Kreuzvalidierung

4.1.5.2.3 Gesamtbewertung

Die PLS Regression der XRPD Daten ermöglicht eine höhere Vorhersagegenauigkeit (RMSEP) und geringere Nachweis- bzw. Quantifizierungsgrenzen für amorphes Material als die klassische Auswertung. Dabei erweist sich die Auswertung über die reflexfreien Zonen als besonders vorteilhaft. Verglichen mit NIRS weist XRPD einen ähnlichen, sogar etwas niedrigeren Methodenfehler auf, allerdings ist die Variation innerhalb der Daten erheblich höher (Abb. 4.1.28), was die Nachweisgrenze erhöht. Daher und aufgrund der Möglichkeit, Partikelgrößeneffekte teilweise herauszurechnen, ist NIRS besser für die Quantifizierung geringer amorpher Restmengen geeignet.

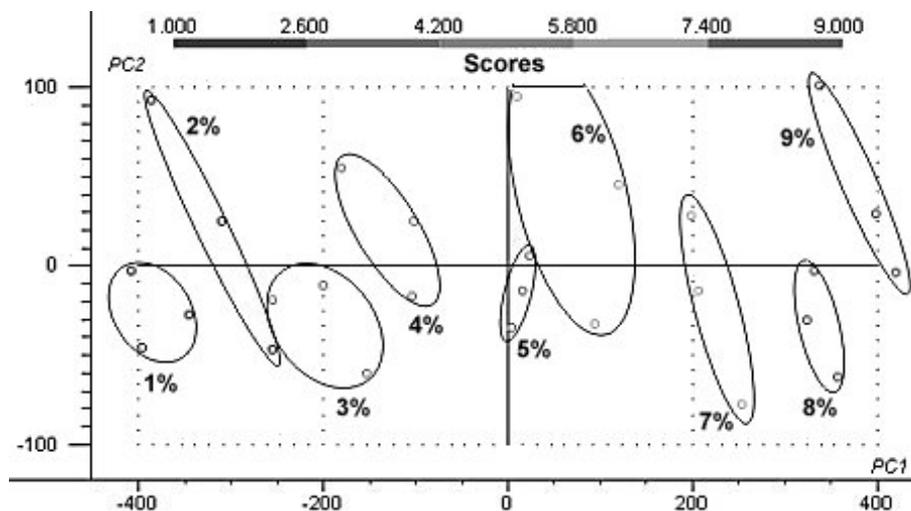


Abb. 4.1.28: Score Plot der XRPD Kalibrierung 1 – 9 % amorpheren Gehalts: die Daten sind entlang der ersten Hauptkomponente angeordnet, aber weisen verglichen mit NIRS eine höhere Variation auf

4.1.5.3 0 – 10% kristalliner Gehalt

4.1.5.3.1 XRPD

Der Nachweis geringer kristalliner Reste von α -Lactosemonohydrat in der amorphen Matrix gelingt problemlos mit hoher Genauigkeit, Präzision und Empfindlichkeit (Abb. 4.1.29 und 4.1.30). Der Methodenfehler der klassischen Kalibration liegt bei 0.3 %, der RMSEC und RMSEP der PLS Regression sogar bei nur 0.1 % bzw. 0.14 % (Tab. 4.1.5). Die Nachweisgrenze für kristallines Material kann durch die multivariate Auswertung von 0.45 % auf 0.27 % gesenkt werden.

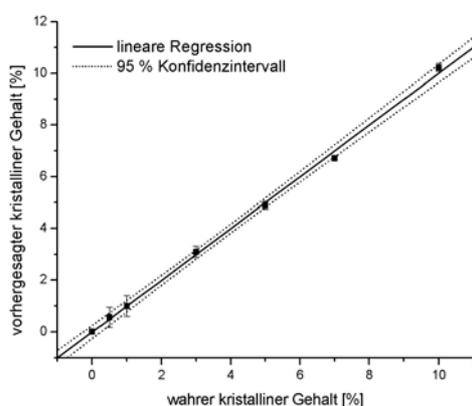


Abb. 4.1.29: Graphische Darstellung der XRPD Ergebnisse nach univariater Analyse der Peakfläche des 12.4 °2θ Reflexes

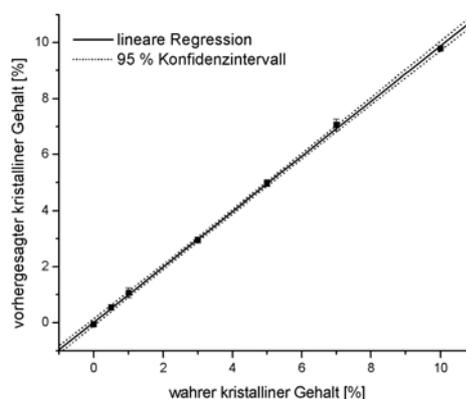


Abb. 4.1.30: Graphische Darstellung der XRPD Ergebnisse nach PLSR und Kreuzvalidierung der 12.4 °2θ Peaks

	XRPD			NIRS
Messzeit [min]	6	30	6	0,5
X-Variablen	Peakfläche 12,4 °2θ	Peakflächen 12,4; 16,4; 18,9; 19,5; 19,9 °2θ	12-13 °2θ (PLSR)	5992 - 5693 cm ⁻¹ (PLSR)
Korr.-koeffizient r Cal	0,999	0,986	0,9996	0,9963
Korr.-koeffizient r Val	n.b.	n.b.	0,9993	0,9904
Steigung Cal	1,001	0,949	0,999	0,993
Steigung Val	n.b.	n.b.	0,986	1,045
Offset Cal	0,009	0,359	0,003	0,027
Offset Val	n.b.	n.b.	0,022	0,266
RMSEC	0,302	0,336	0,099	0,296
RMSEP	n.b.	n.b.	0,136	0,537
SEC	0,305	0,347	0,102	0,303
SEP	n.b.	n.b.	0,136	0,542
Bias Cal	-0,022	-2,73E-06	3,63E-07	1,36E-07
Bias Val	n.b.	n.b.	-0,031	-0,094
PC	n.b.	n.b.	2	2
LOD [%]	0,45	0,48	0,27	0,75
LOQ [%]	1,50	1,60	0,90	2,5

Tab. 4.1.5: Statistische Daten der Kalibrierreihen 1 – 10 % kristalliner Gehalt

Da sowohl die univariate als auch die multivariate Auswertung auf der Evaluation der Peaks basieren, ist eine ausreichend hohe Zählrate für die Minimierung des statistischen Schwankens des analytischen Reflexes vonnöten (6 min Messzeit). Außerdem ermöglicht dies die klarere Trennung des kleinen Peaks (z.B. 0.5 % kristallinen Restgehalts) vom umgebenden Untergrundrauschen. Um Unterschiede in Peakform und -position zwischen den Kalibrierproben und späteren verarbeiteten Proben unbekanntes Kristallinitätsgrades zu vermeiden, wurden alle Proben mit dem Hybridmonochromator vermessen, was aufgrund des Intensitätsverlustes durch den Wegfall der $K_{\alpha 2}$ -Strahlung ebenfalls zu der verlängerten Zählzeiten beitrug.

Für die uni- und multivariate Analyse der XRPD Daten wurde der Reflex an der Position $12.4^\circ 2\theta$ gewählt, da dieser weitgehend texturfrei ist und die meisten Rekristallisationsprodukte der Lactose (bis auf β -Lactose) dort einen Peak aufweisen [77] (Abb. 4.1.31).

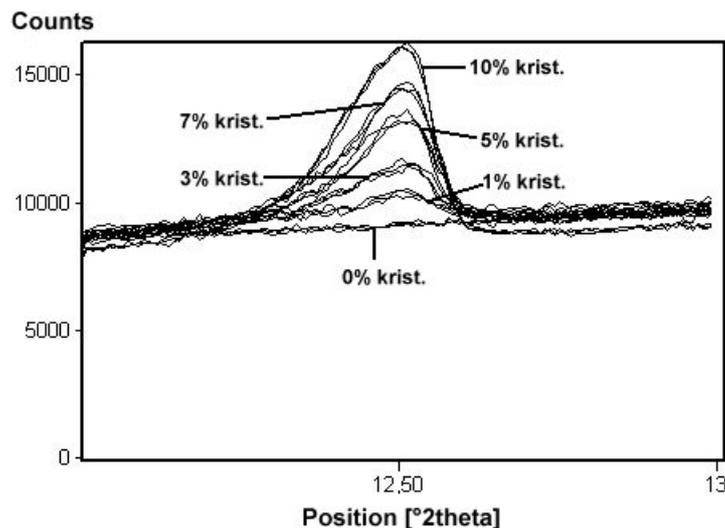


Abb. 4.1.31: Veränderung der Peakhöhe und -fläche des analytischen Reflexes bei $12.4^\circ 2\theta$

Um bei der späteren Vermessung unbekannter, rekristallisierter Proben ein möglicherweise geändertes Intensitätsverhältnis der Peaks untereinander zu berücksichtigen, das z. B. durch ein bevorzugtes Wachstum der Kristalle in eine Richtung bedingt sein könnte, wurde eine zusätzliche Kalibrierreihe auf der Basis von 5 Hauptreflexen ($12.4, 16.4, 18.9, 19.5, 19.9^\circ 2\theta$) geometrisch unterschiedlich angeordneter Netzebenen erstellt und univariat ausgewertet (Tab. 4.1.5).

4.1.5.3.2 NIRS

Für die Quantifizierung geringer kristalliner Anteile wurde aufgrund des hohen Anteils wasserfreier, amorpher Lactose anstelle der OH-Kombinationsschwingung des Kristallwassers eine wasserunabhängigere Region gewählt (Abb. 4.1.32). Auch hier erkennt man immer noch die spektrale Abweichung zwischen den Mischungen und der 100% amorphen Probe, was sich im Score Plot (Abb. 4.1.33) durch die Abseitslage dieser Muster äußert und in den Ergebnissen der Kreuzvalidierung zu dem Offset von 0.27 % führt.

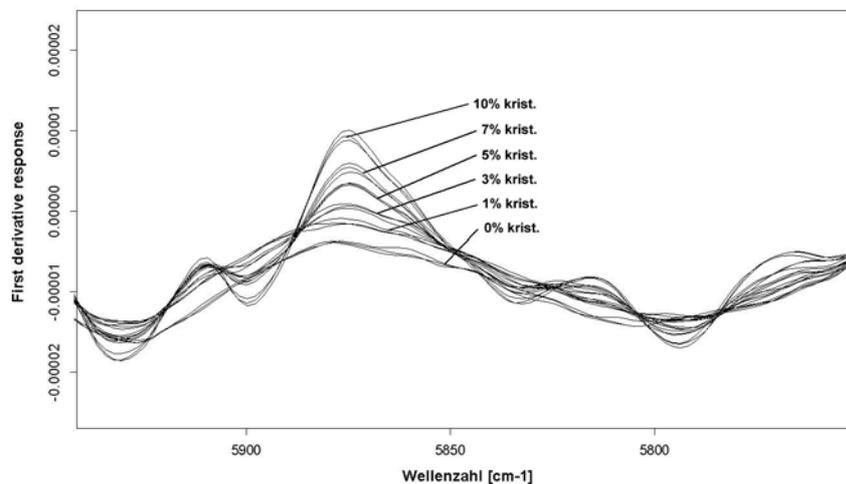


Abb. 4.1.32: Erster Oberton der CH-Schwingung nach MSC und erster Ableitung. Die Zunahme des kristallinen Anteils bewirkt die deutlichere Ausprägung dieser Schwingung

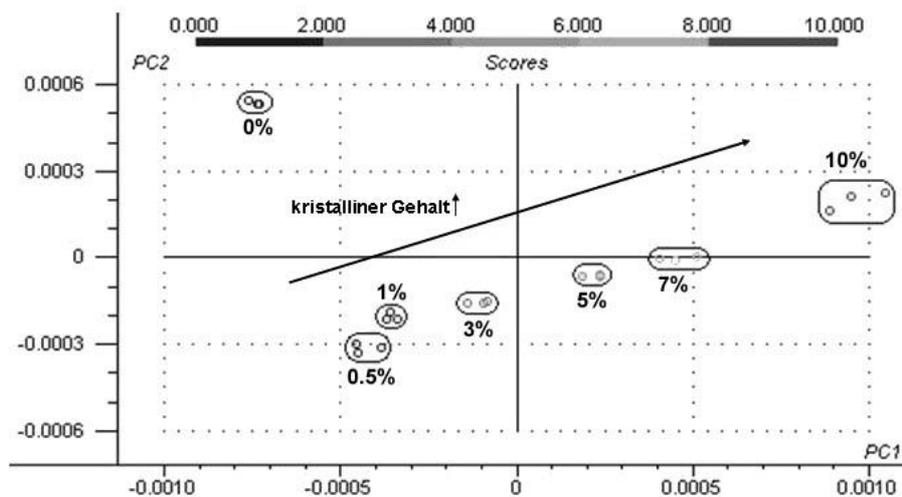


Abb. 4.1.33: Score Plot der NIRS Kalibrierung 0 – 10 % kristalliner Gehalt: die Proben sind mit steigender Kristallinität entlang der 1. und 2. Hauptkomponente angeordnet; die 100% amorphen Proben sind matrixfremd und liegen deutlich abseits

Die Ergebnisse der PLS Regression nach Kreuzvalidierung sind gut (Tab. 4.1.5), verglichen mit den XRPD Daten jedoch ungenauer, was sich im RMSEP von 0.54 % (XRPD: 0.14 %) und im LOD von 0.75 % (XRPD: 0.27 %) und LOQ von 2.5 % (XRPD: 0.9 %) äußert. Die verminderte Vorhersagegenauigkeit zeigt sich auch in den weiter gefassten Konfidenzintervallen der Kreuzvalidierung (Abb. 4.1.34).

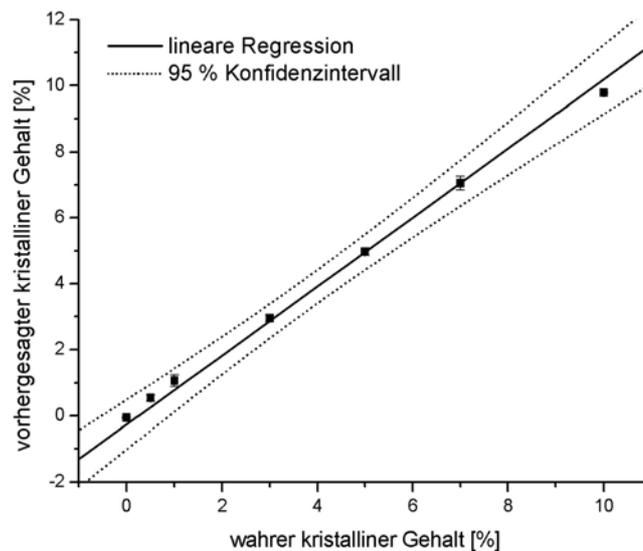


Abb. 4.1.34: Graphische Darstellung der NIR Ergebnisse nach PLS Regression und Kreuzvalidierung, 0 – 10 % kristalliner Gehalt

4.1.5.3.3 Gesamtbewertung

XRPD quantifiziert kristalline Restgehalte mit höherer Genauigkeit, Präzision und Empfindlichkeit als NIRS, was u.a. darauf zurückzuführen ist, dass die rein amorphen Muster besser in die Kalibration eingezogen werden, die spektrale Empfindlichkeit gegenüber Wasser geringer ist und die Diffraktogramme weniger komplex sind als die von NIRS. Mit Hilfe der PLSR kann die Qualität der quantitativen Auswertung weiter verbessert werden. Anhand der XRPD Spektren kann außerdem sofort erkannt werden, ob eine Rekristallisation überhaupt stattgefunden hat und welche Rekristallisationsprodukte in welchem Ausmaß auftreten. Daher ist im Fall eines Rekristallisationsmonitorings XRPD sowohl qualitativ als auch quantitativ der NIRS vorzuziehen.

4.1.5.4 Praktische Anwendungen der Kalibrierungen

Die auf der Basis binärer Mischungen hergestellten Kalibrierungsmuster gehören zu den sog. „Zwei-Phasen-Systemen“, bei denen ein Partikel entweder rein amorph oder rein kristallin vorliegt. Dies entspricht aber selten der Wirklichkeit, da die Gitterdefekte, die bei der Verarbeitung eines Stoffes entstehen, nicht nur einen Partikel betreffen, sondern ungleichmäßig über alle Partikel verteilt sind. Da in diesem Fall ein Teilchen sowohl kristalline als auch amorphe Bereiche auf sich vereint, gehören diese Art von Proben zu den „Ein-Phasen-Systemen“. Sinn der folgenden Versuchreihen war es, zu überprüfen, ob die Kalibrierungen als Zweiphasensystem tatsächlich auf die Analyse eines Einphasensystems angewendet werden können.

4.1.5.4.1 Proben bekannten amorphen / kristallinen Gehaltes

Um die Validität der erstellten Kalibrationsreihen zusätzlich zur Kreuzvalidierung zu überprüfen, wurden zunächst Testproben unterschiedlichen amorphen bzw. kristallinen Gehaltes gefertigt:

- 1.5 %, 4.5 % und 7.5 % amorphe Lactose in der Monohydratmatrix
- 4.0 % und 6.2 % kristalline Lactose in der amorphen Matrix

Die vorhergesagten Ergebnisse sind in Abb. 4.1.35 und 4.1.36 dargestellt:

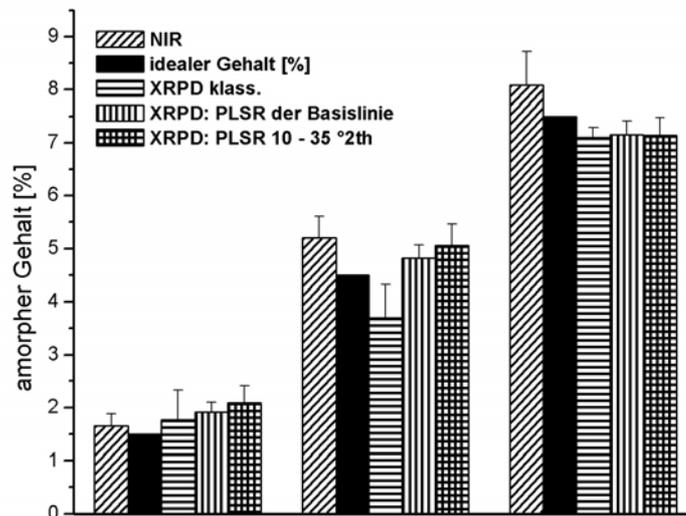


Abb. 4.1.35: Mit NIRS und XRPD vorhergesagter amorpher Gehalt bekannter Mischungen (1.5 %, 4.5 %, 7.5 % amorpher Idealgelhalt; schwarzer Balken; n = 3)

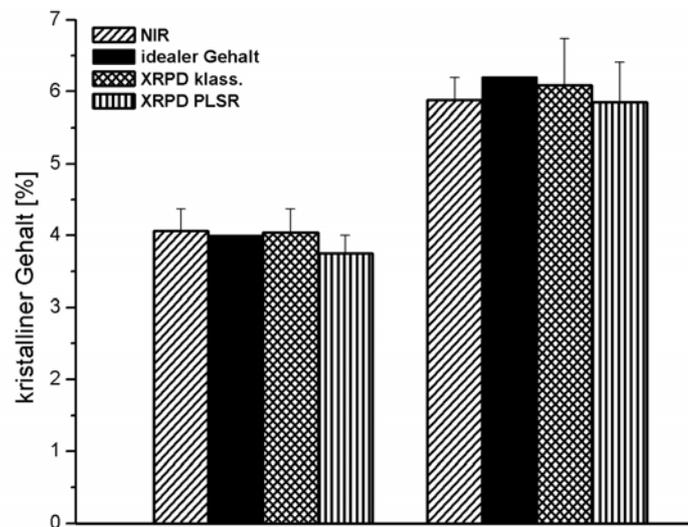


Abb. 4.1.36: Mit NIRS und XRPD vorhergesagter kristalliner Gehalt bekannter Mischungen (4.0 % und 6.2 % kristalliner Idealgehalt; schwarzer Balken; n = 3)

Die Quantifizierung des amorphen Anteils erfolgt mit einer Genauigkeit von ± 0.5 %, wobei die Abweichung vom Idealgehalt vor allem auf die statistische Streuung der Daten und auf eventuelle Inhomogenitäten in den einzelnen Mischungen zurückzuführen ist. Der Idealgehalt liegt bei allen Vorhersagen innerhalb der dreifachen Standardabweichung des jeweilig vorhergesagten Wertes, so dass keine Methode systematische Fehler aufweist. Die Ergebnisse der PLS Regressionen der XRPD Daten auf der Basis des Untergrunds bzw. des gesamten Scans ($10 - 35^\circ 2\theta$) stimmen miteinander überein. Insgesamt ist die Vorhersage als gut zu bezeichnen.

Gering kristalline Bestandteile werden durch beide Methoden problemlos mit hoher Genauigkeit quantifiziert, unabhängig von der gewählten Auswertmethode für XRPD.

4.1.5.4.2 Proben mit unbekanntem amorphen Gehalt

In der Literatur ist vielfach beschrieben, dass die mechanische Belastung einer Substanz, z.B. während des Vermahlens, zu amorphen Teilbereichen führen kann. Durch die Vermahlung von α -Lactosemonohydrat in einer Kugelmühle wurden Proben unbekanntem amorphen Gehaltes hergestellt und anschließend analysiert. Alle Kurven zeigen qualitativ einen ähnlichen Verlauf (Abb. 4.1.37): während eine Mahldauer von ca. 20 min keine nennenswerte Zerstörung des

Kristallgitters hervorruft, sondern die Lactosepartikel unter Sprödbbruch zerkleinert, setzt danach eine Amorphisierung der Partikel ein, die ab ca. 80 Minuten Mahldauer annähernd konstant bleibt.

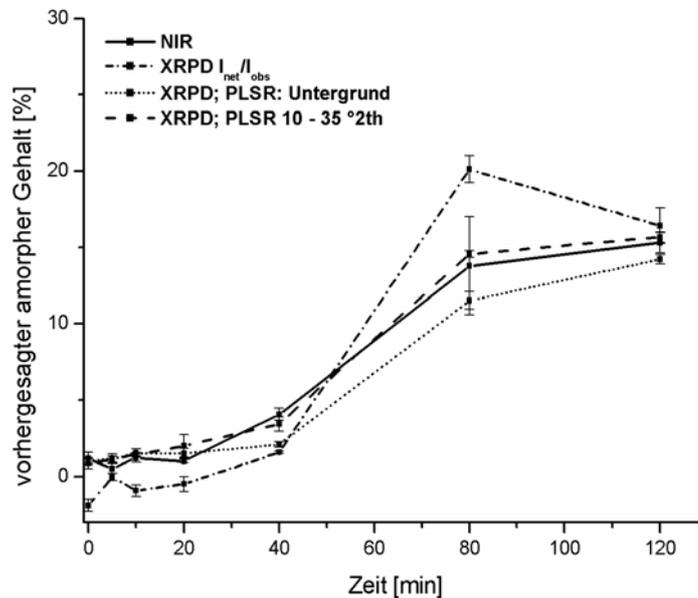


Abb. 4.1.37: Abhängigkeit des amorphen Anteils von der Mahldauer: während die Ergebnisse der PLS Regressionen gut übereinstimmen, weichen die Ergebnisse der klassischen XRPD Auswertung stärker ab ($n = 3$)

Gute Übereinstimmung der quantitativen Ergebnisse zeigen NIRS und XRPD, wenn bei letzterem der gesamte Scan (10 – 35 °2 θ) für die Berechnung des amorphen Anteils herangezogen wird. Dies spricht dafür, dass die Gitterdefekte nicht nur eine Anhebung der Basislinie verursachen, sondern auch die Peaks in Höhe und Form beeinflussen. Da dies bei der PLSR des reflexfreien Untergrundes (XRPD) nicht berücksichtigt wird, ist der vorhergesagte amorphe Anteil insgesamt etwas geringer als bei dem „whole pattern“-Ansatz bzw. NIRS. Die klassische Auswertung der XRPD Daten über das I_{net}/I_{obs} Verhältnis zeigt größere Abweichungen verglichen mit den PLS Regressionen. Dennoch liegen die meisten Unterschiede immer noch innerhalb der zweifachen Standardabweichung und sind demnach nicht signifikant.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass die Kalibrierreihen zum Nachweis geringer amorpher Gehalte erfolgreich eingesetzt werden können.

Unterschiede zwischen den quantitativen Ergebnissen von NIRS und XRPD können auch damit erklärt werden, dass die spektrale Information der beiden Methoden aus unterschiedlichen Bereichen der Probe stammt. Während NIR Strahlung nur einige mm in ein Material eindringt und

damit bei großen Teilchen v.a. Informationen aus der Oberfläche beinhaltet, dringen Röntgenstrahlen aufgrund der geringen Massenabsorptionskoeffizienten organischer Stoffe viel tiefer in die Probe ein und liefern damit Information aus der gesamten Probe. Ist das quantitative Ergebnis einer NIR Messung also numerisch deutlich höher als das von XRPD, so bedeutet dies, dass das amorphe Material vorwiegend auf der Oberfläche der Partikel zu finden ist. Da in dem oben geschilderten Fall die Ausgangsteilchengröße nur maximal 70 μm beträgt und die Teilchen während der Mahlung noch weiter zerkleinert werden, werden beide Methoden zu Bulk-Techniken, die die Eigenschaft der gesamten Probe messen. Daher ist auch NIR nicht in der Lage festzustellen, ob sich die gebildeten amorphen Bereiche überwiegend auf der Oberfläche der Teilchen befinden, was wahrscheinlich ist, oder im Inneren.

4.1.5.4.3 Proben mit unbekanntem kristallinen Gehalt

Als Modell für rekristallisierte, ehemals amorphe Proben dienen sprühgetrocknete und gefriergetrocknete Lactose. Die Bedingungen der Sprüh- und Gefriertrocknung wurden dabei so gewählt, dass auf jeden Fall ein teilkristallines Produkt entsteht [80], d.h es wurde mit einer konzentrierten Lactoselösung gearbeitet, die im Fall der Gefriertrocknung langsam eingefroren wurde. Die Ergebnisse sind in Abb. 4.1.38 dargestellt.

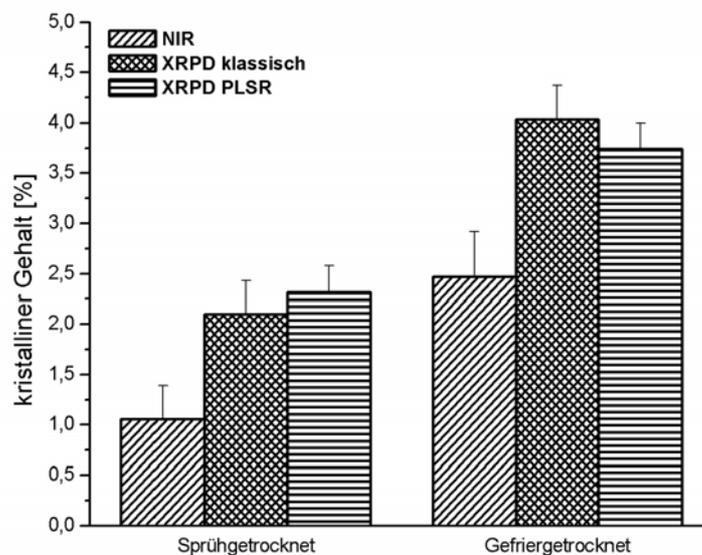


Abb. 4.1.38: Mit NIRS und XRPD vorhergesagter kristalliner Gehalt unbekannter Mischungen (n = 3)

Das sprühgetrocknete Produkt enthält weniger kristalline Substanz als das gefriergetrocknete. Während die Ergebnisse der univariaten und der multivariaten Auswertung von XRPD gut übereinstimmen, ermittelt NIRS einen nur halb so großen kristallinen Gehalt. Eine mögliche Ursache dieser Abweichung könnte bei XRPD ein anderes Texturverhalten der rekristallisierten Substanz im Vergleich zur Standardsubstanz sein, was zu anderen Intensitätsverhältnissen im Diffraktogramm und damit zu falschen quantitativen Ergebnissen führen würde. Um dies auszuschließen, wurde die Fläche von fünf Peaks für die univariate Berechnung zugrundegelegt, die allerdings ähnliche Ergebnisse wie die Auswertung des $12.4^\circ 2\theta$ Reflexes ergaben (s. Anhang).

Eine weitere Ursache für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte ein variierender Wassergehalt oder ein anderer Mutarotationszustand der Probe im Vergleich zu den Kalibriermustern sein, was bei NIR zu spektralen Veränderungen und damit verfälschten Resultaten führen würde. Tatsächlich liegt in dem untersuchten System auch ein anderes Mutarotationsgleichgewicht vor, da aufgrund eines zusätzlichen Reflexes im XRPD Spektrum ein β -Lactose Gehalt von 0.51 % für das sprühgetrocknete und von 1.62 % für das gefriergetrocknete Produkt festgestellt werden konnte (Abb. 4.1.39 und 4.1.40, das Röntgenspektrum reiner β -Lactose ist im Anhang zu finden). Die Berechnung erfolgte dabei über die Additionsmethode.

Je nach Anzahl der möglichen Kristallisationsprodukte oder Zustandsänderungen im System während der Lagerung bzw. Herstellung kann sich die Quantifizierung eines kristallinen Restgehaltes also als schwierig erweisen. Da ein Röntgendiffraktogramm neue, nicht in der Kalibration eingeschlossene Kristallisationsprodukte klar erkennen lässt, und diese aufgrund ihrer Peakhöhe oder –fläche gut auswertbar sind, ist XRPD in diesem Fall Methode der Wahl.

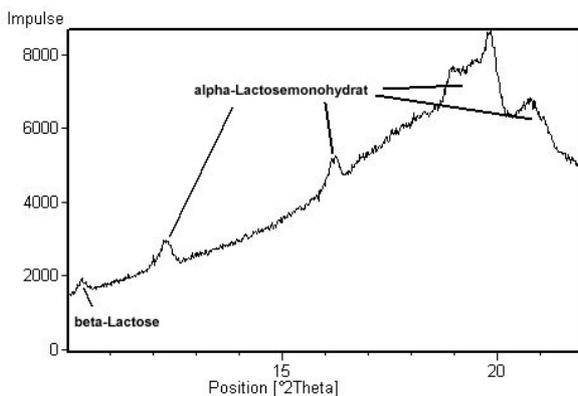


Abb. 4.1.39: In flüssigem Stickstoff eingefrorene, teilkristalline Probe mit β -Lactoseanteil

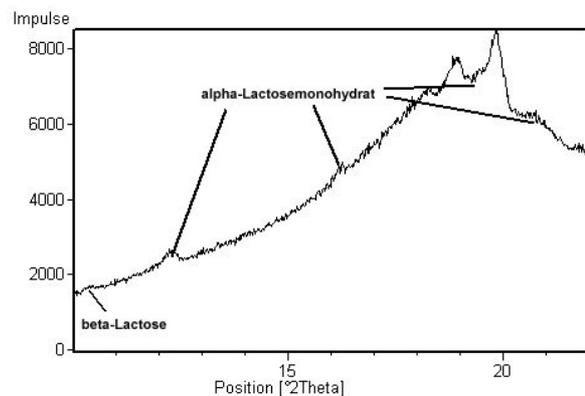


Abb. 4.1.40: Sprühgetrocknete, teilkristalline Lactoseprobe mit β -Lactoseanteil

4.1.5.4.4 Proben unbekanntem amorphen Gehalts bei unterschiedlicher Partikelgröße /-form

Um die Anwendbarkeit der Kalibrierkurven auf Proben mit unterschiedlicher Partikelgröße und –form zu testen, wurden alle Lactosen der Meggle Produktpalette (Kap. 3.1.1) auf ihren amorphen Restgehalt überprüft (Abb. 4.1.41 – 4.1.44).

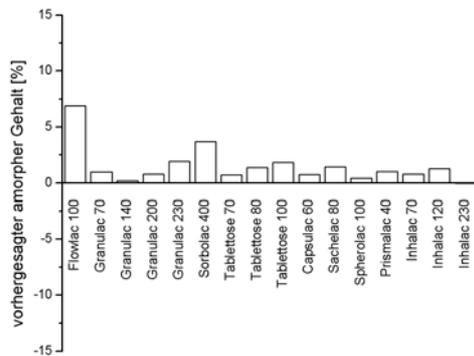


Abb. 4.1.41: Vorhersageergebnisse der NIRS nach PLSR von 5342 – 4865 cm⁻¹

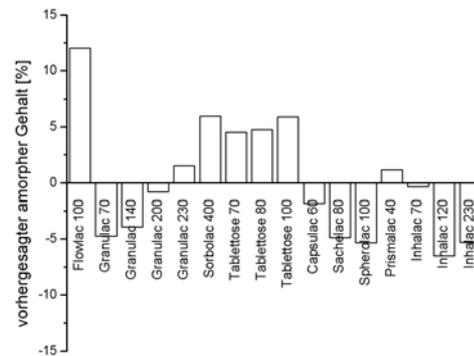


Abb. 4.1.42: Vorhersageergebnisse von XRPD aufgrund des I_{net}/I_{obs} Verhältnisses

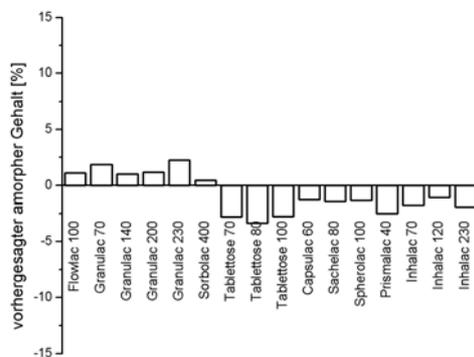


Abb. 4.1.43: Vorhersageergebnisse von XRPD nach PLSR des reflexfreien Untergrundes

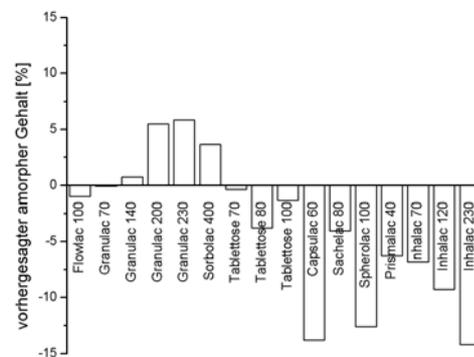


Abb. 4.1.44: Vorhersage von XRPD nach PLSR des Winkelbereiches 10 – 35 °2θ

Die einzig sinnvollen Ergebnisse ergab die NIR Spektroskopie, bei der die meisten störenden Einflüsse infolge variierender Teilchengröße oder –form durch eine geeignete Datenvorbehandlung (MSC und erste Ableitung) herausgerechnet werden können.

Flowlac zeigt erwartungsgemäß den größten amorphen Anteil, der jedoch unter dem theoretischen Wert von 10 – 12 % [28] liegt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Substanz nicht vollständig wasserdicht verpackt war, und daher bereits eine Rekristallisation stattgefunden hat.

Mit zunehmenden Vermahlungsgrad steigt der amorphe Anteil in den Lactosetypen Granulac bzw. Sorbolac. Die Tablettosen können aufgrund des Granulationsprozesses ebenfalls etwas amorphes Material enthalten.

Der amorphe Anteil bei den gesiebten Lactosen deutet auf die mit der Vorhersage verbundene Unsicherheit hin, da bei ihnen - als rein kristalline und technologisch unbehandelte Produkte - eigentlich keine amorphen Reste in dem Ausmaß (1-2 %) gefunden werden dürften.

Eine Datenvorbehandlung zur Eliminierung störender Variation ist bei XRPD nicht möglich, da eine Ableitung oder MSC die gesamte Information des (amorphen) Untergrundes vernichten würde. Die unterschiedlich stark ausgeprägte Textur der Lactosepartikel führt im Röntgendiffraktogramm zu jeweilig veränderten relativen Intensitäten verglichen mit der Standardsubstanz der Kalibrierung. Keine der drei möglichen Auswertungsmethoden wird dadurch anwendbar.

Die klassische Auswertung der XRPD Daten ergibt falsche Absolutergebnisse, die in ihrer Relation untereinander jedoch stimmen: so enthält Flowlac ebenfalls den größten amorphen Anteil. Mit steigendem Vermahlungsgrad von Lactose nimmt auch hier der vorhergesagte amorphe Gehalt zu, und auch bei den Tablettosen werden erwartungsgemäß amorphe Anteile detektiert. Die gesiebten Produkte zeigen dagegen eine hohe Kristallinität (negative Werte).

Die PLS Regression des Untergrundes versagt bei der Vorhersage, da die Information aus der Höhe und Breite der Peaks fehlt, während die PLS Regression über den Winkelbereich von 10 bis 35 °2 θ aufgrund der starken Vorzugsorientierung der Partikel katastrophale Ergebnisse liefert.

4.1.5.4.5 Gesamtbewertung

Prinzipiell können die erstellten Kalibrierkurven auf die Analyse unbekannter Proben angewendet werden, sofern diese sich nicht signifikant von den Standardsubstanzen unterscheiden. Variiert die Partikelgröße oder -form der zu untersuchenden Substanz stark, so können mit XRPD keine sinnvollen Ergebnisse mehr erzielt werden, es sei denn, alle möglichen Variationen hinsichtlich der Teilchengröße und -form wurden zuvor einkalibriert oder die Textur rechnerisch als Variable miteinbezogen (Rietveldanalyse o.ä.). Daher sind die Resultate von NIRS vorzuziehen.

Umgekehrt verhält es sich bei dem Monitoring eines Rekristallisationsprozesses: Art und Anzahl von Kristallisationsprodukten können mit XRPD problemlos festgestellt und quantifiziert werden, während dies bei NIRS nicht unbedingt möglich ist, es sei denn, alle möglichen Rekristallisationsprodukte wären in der Kalibration berücksichtigt. Bei NIRS muss zudem noch der Wassergehalt der Probe und der Bindungszustand des Wassers beachtet werden, da auch dies zu Veränderungen im Spektrum führt.

4.1.5.5 Fehlerabschätzung XRPD und NIRS

Durch die folgende Untersuchung sollen geräte-, methoden- und probenpräparationsbedingte Fehler festgestellt und quantifiziert werden (Tab. 4.1.6).

Der gerätebedingte Fehler beruht vor allem auf Intensitätsfluktuationen der Strahlenquelle oder Unregelmäßigkeiten bei der Detektion der Strahlung und wird durch 10 faches Vermessen von 100 % kristalliner Lactose erfasst, ohne diese aus dem Gerät zu entfernen. Er ist bei XRPD größer als bei NIRS, was darauf zurückgeführt werden kann, dass die Probe bei XRPD kontinuierlich gedreht wird, um die Partikelstatistik zu verbessern.

Probenpräparationsbedingte Fehler spielen vor allem bei XRPD eine Rolle, da durch eine unregelmäßige Oberfläche oder Textur der Probe Schwankungen in den Peakintensitäten und –positionen auftreten können, die das Ergebnis einer Vorhersage beeinflussen. Bei NIR werden solche Einflüsse (variierende Probenschichtdicke etc.) durch entsprechende Datenvorbehandlung eliminiert. Der Fehler läßt sich durch die wiederholte Vermessung einer jeweils neu präparierten Lactoseprobe abschätzen und ist bei XRPD erwartungsgemäß höher als bei NIRS.

Tagesbedingte Schwankungen durch veränderte klimatische Bedingungen werden dadurch erfasst, dass eine Mischung aus amorpher (4 %) und kristalliner (96 %) Lactose an vier aufeinander folgenden Tagen auf ihren Gehalt analysiert und die dabei auftretende Streuung festgehalten wird. Es lässt sich dabei kein deutlicher Unterschied zwischen XRPD und NIRS feststellen.

Der Methodenfehler berechnet sich aus der Standardabweichung der Vorhersageergebnisse einer Mischung, die sechsmal hintereinander neu präpariert und vermessen wurde. Der berechnete Wert enthält auch den Fehler, der durch die mögliche Inhomogenität der Mischung eingeführt wird, und ist daher in der Regel größer als die anderen. Da dies bei den ermittelten Ergebnissen nicht der Fall ist, d.h. der Fehler in derselben Größenordnung liegt wie die anderen, scheint die Mischung in sich homogen zu sein.

	XRPD			NIRS sd [%]	n
	(1) sd [%]	(2) sd [%]	(3) sd [%]		
Gerätoreproduzierbarkeit	0,31	0,14	0,13	0,03	10
Probenpräparation	0,57	0,27	0,54	0,22	10
Tagesreproduzierbarkeit	0,44	0,3	0,18	0,37	6
Methodenfehler (0-10 % am.)	0,38	0,3	0,2	0,3	6
Methodenfehler (0-10 % krist.)	0,15	--	0,23	0,3	3

Tab. 4.1.6: (1): XRPD klassisch; (2): XRPD: PLSR vom reflexfreien Untergrund;
(3) XRPD: PLSR von den Peaks und dem Untergrund

4.2 Quantitative Bestimmung von Indomethacin in der intakten Tablette

Die korrekte und einheitliche Dosierung eines Wirkstoffs ist für die Wirksamkeit und Unbedenklichkeit eines Arzneimittels von großer Bedeutung. Daher wird bei bestimmten Arzneiformen die Gleichförmigkeit des Gehalts geprüft, wobei der Einzelgehalt lt. Arzneibuch (PhEur. 1997) innerhalb von 85 und 115 % des Durchschnittgehaltes liegen muss.

4.2.1 Stand der Forschung

Da es sich bei der quantitativen Wirkstoffbestimmung um eine Routinemessung im Rahmen der Qualitätskontrolle eines Arzneimittels handelt, wurde bereits mehrfach untersucht, inwiefern sich die etablierte Methode der HPLC-UV durch ein ebenso genaues, aber schneller und zerstörungsfrei arbeitendes Verfahren ersetzen lässt.

Die Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) wurde dabei von verschiedenen Gruppen als geeignetes Verfahren zur Quantifizierung ein oder mehrerer Wirkstoffe in der unzerstörten Tablette beschrieben [81 - 83], wobei der relative Vorhersagefehler für Messungen in diffuser Reflexion bei ≤ 2.5 %, für Transmissionsmessungen bei ≤ 3.75 % [82] lag. Ähnliches traf auf die Gehaltsbestimmung eines Wirkstoffs im Filmüberzug einer intakten Tablette zu [84].

Mit Hilfe der MIR- [85] oder Ramanspektroskopie [81, 86] konnte ein Wirkstoffgehalt von ≥ 1 %, mit SS-NMR [87] von ≥ 5 % nachgewiesen werden.

Die quantitativen, röntgenographischen Untersuchungen an Tabletten wurden bisher entweder destruktiv mit oder ohne Zusatz eines internen Standards [88, 89], oder zerstörungsfrei unter Hinzunahme einer reinen Wirkstofftablette als externen Standard [90, 91] durchgeführt. Als Modellwirkstoff wurde Carbamazepin verwendet. Die Auswertung erfolgte über das Peakflächenverhältnis ein bis mehrerer analytischer Peaks zu einem oder mehreren Reflexen des internen oder externen Standards. Der Nachteil bei letzterem bestand in dem störenden Einfluß des abweichenden Absorptionsverhaltens der Hilfsstoffmatrix im Vergleich zum reinen Wirkstoff, was den linearen Verlauf der Kalibriergeraden beeinträchtigte. Außerdem führte der Verzicht auf einen internen Standard bei Wirkstoffgehalten ≤ 40 % zu einer reduzierten Genauigkeit [91, 92]. Vorteilhaft war hingegen der Zeitgewinn durch den fehlenden Zerkleinerungs- und Mischprozess und den damit möglicherweise induzierten Phasentransformationen. In der intakten Tablette ließen sich Gehaltsunterschiede von 3 % [90] feststellen. Die relative Standardabweichung betrug in der Regel unter 10 %. Um Fehler durch Textur, Extinktion oder Mikroabsorption zu minimieren, wurde

mikronisierter Wirkstoff ($< 10 \mu\text{m}$) eingesetzt. Die Tablettenoberfläche war stets plan, um die Fokussierungsbedingung (Kap. 2.2) zu erfüllen.

Die Anwendung eines parallelisierten Röntgenstrahls ermöglichte auch die Messung gewölbter Tabletten [93], was Intensitäts- und Symmetrieabweichungen im Diffraktogramm infolge der fehlenden Fokussierung winkelnunabhängig reduzierte bzw. eliminierte. Durch Vermessung der Tabletten in Transmission wurde versucht, die durch den Kompaktiervorgang verstärkte Textur teilweise auszugleichen bzw. besser zu berücksichtigen. Untersucht wurde dabei ein binäres, zur Tablette komprimiertes Gemisch zweier Polymorphe (Form A in Form C, 10 % Intervalle) ohne jeglichen Hilfsstoffzusatz. Es wurden gute Kalibrationsergebnisse (Korrelation > 0.96) erreicht, indem das Peakflächenverhältnis von Form C zu Form A gegen das entsprechende Konzentrationsverhältnis aufgetragen wurde.

4.2.2 Versuchsplan

Ziel dieser Versuchsreihe ist es, den Wirkstoffgehalt einer Tablette mittels XRPD zerstörungsfrei mit hoher Genauigkeit zu bestimmen. Zu diesem Zweck werden Kalibrierchargen mit dem Modellwirkstoff Indomethacin hergestellt, die sich in ihrem Wirkstoffgehalt um je 0.5 % unterscheiden. Es wird untersucht, inwiefern das Röntgendiffraktometer in der Lage ist, diese Gehaltsunterschiede unabhängig von der Tablettenform (biplan vs. gewölbt) und Partikelgröße des eingesetzten Wirkstoffs zu quantifizieren.

Um zunächst nur den möglichen Einfluß der Tablettenform auf die Richtigkeit und Präzision des Ergebnisses abzuschätzen, wird für die Herstellung der Tabletten mikronisierter Wirkstoff verwendet, wodurch textur-, mikroabsorptions- und extinktionsbedingte Intensitätsschwankungen im Diffraktogramm minimiert werden. Die Basisrezeptur einer Tablette lautet:

- | | |
|------------------------------|---|
| 1. Indomethacin | 50 mg (12.5 m/m %) |
| 2. Granulac [®] 200 | 305 mg (76.25 m/m %) |
| 3. Maisstärke | 30 mg (7.5 m/m %) |
| 4. Kollidon [®] 25 | 15 mg (3.75 m/m %) |
| 5. Mg-Stearat | q.s. (0.5 % bezogen auf 100 % innere Phase) |

Substanzen 1 – 4 werden im Bohle Minigranulator gemischt und mit Wasser granuliert, anschließend getrocknet und durch ein 0.5 mm Sieb geschlagen. Die Tablettierung erfolgt nach Zugabe des Schmiermittels auf einer hydraulischen Presse (Flexitab, Fa. Röltgen) mit einer durchschnittlichen Presskraft von 15 kN (sd: 0.183 kN; n = 15) für biplane und von 14.3 kN (sd: 0.288 kN; n = 15) für gewölbte Tabletten. Der Tablettendurchmesser beträgt 13 mm.

Der Anteil an Indomethacin und Lactose wird nun so variiert, dass insgesamt 11 verschiedene Wirkstoffkonzentrationen (m/m %) in den Tabletten erhalten werden:

- | | | | |
|----------|----------|----------|--------|
| ▪ 9 % | ▪ 11 % | ▪ 12.5 % | ▪ 14 % |
| ▪ 10 % | ▪ 11.5 % | ▪ 13 % | ▪ 15 % |
| ▪ 10.5 % | ▪ 12 % | ▪ 13.5 % | |

Alle Tabletten werden in Reflexion vermessen, die biplanen unter fokussierenden, die gewölbten unter nicht fokussierenden Bedingungen.

Die Auswertung der aufgenommenen Röntgendiffraktogramme erfolgt einerseits klassisch über die Peakfläche des $21.8^\circ 2\theta$ Reflexes von Indomethacin, andererseits chemometrisch mittel PLS Regression. Als Referenzanalytik dient die UV Spektroskopie.

Der Einfluß der Partikelgröße des Wirkstoffs auf die Qualität des röntgenographischen Ergebnisses wird durch die quantitative Gehaltsbestimmung von Indomethacin in biplanen und gewölbten Tabletten ermittelt, die den Wirkstoff entweder in mikronisierter oder grobkörniger Form enthalten.

Die Herstellung der Tabletten erfolgte analog der oben beschriebenen Rezeptur mit dem Unterschied, dass die äußere Phase zusätzlich zum Mg-stearat noch Kollidon CL und Aerosil 200 enthielt. Die Verpressung der Tabletten erfolgte bei 6 kN mit biplanen oder gewölbten Stempeln (10 mm Durchmesser) auf der Exzenterpresse Fette E1.

Die Basisrezeptur einer Tablette ist im Folgenden aufgeführt:

1. Indomethacin	50 mg (13.5 m/m %)
2. Granulac [®] 200	255 mg (68.7 m/m %)
3. Maisstärke	30 mg (8.1 m/m %)
4. Kollidon [®] 25	15 mg (4 % m/m %)
5. Kollidon [®] CL	17.5 mg (4.7 m/m %)
6. Aerosil [®] 200	1.75 mg (0.5 m/m %)
7. Mg-Stearat	1.75 mg (0.5 m/m %)

Auch hier wird der Indomethacin- und Lactoseanteil so variiert, dass sieben verschiedene Wirkstoffkonzentrationen im Bereich von 12 % bis 15 % in 0.5 % Schritten erreicht werden.

Die Aufnahme der Röntgendiffraktogramme erfolgt analog zu den obigen Untersuchungen in Reflexion, wobei für die Vermessung der gewölbten Tabletten ein oder zwei Spiegeloptiken in den einfallenden bzw. in den einfallenden und den gebeugten Strahl eingebracht werden.

Die Daten werden für die Tabletten mit mikronisiertem Wirkstoff über die Peakfläche des $21.8^\circ 2\theta$ Reflexes ausgewertet, für die Tabletten mit grobkörnigerem Wirkstoff mittels quantitativer Rietveldanalyse. Als Referenzanalysemethode wird auch hier die UV Spektroskopie gewählt.

Abschließend erfolgt eine Reproduzierbarkeitsuntersuchung (Instrumenten-, Probenpräparations- und Tagesreproduzierbarkeit), um die mit der Methode verknüpften Fehler abzuschätzen.

4.2.3 Substanzcharakterisierung

Bei der Herstellung der Kalibriermuster wurde der Wirkstoff Indomethacin in zwei verschiedenen Teilchengrößen eingesetzt, deren Dichte- und Summenverteilung in Abb. 4.2.1 und 4.2.2 zu sehen ist:

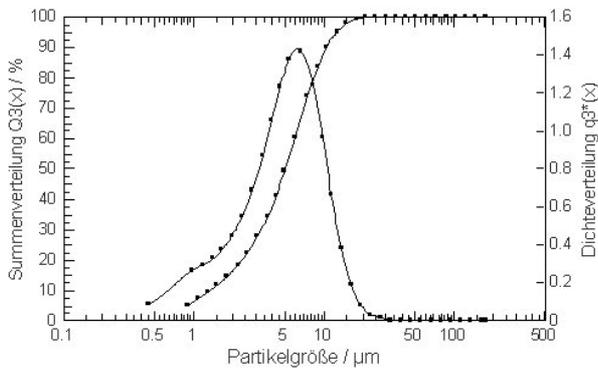


Abb. 4.2.1: Teilchengrößenverteilung von mikronisiertem Indomethacin; x_{10} : 1.38 μm , x_{50} : 5.07 μm , x_{90} : 10.76 μm

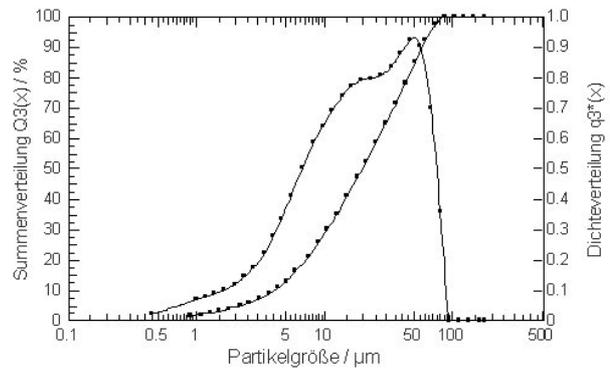


Abb. 4.2.2: Teilchengrößenverteilung von unzerkleinertem Indomethacin; x_{10} : 4.31 μm , x_{50} : 21 μm , x_{90} : 80.57 μm

Indomethacin existiert in mehreren Modifikationen, wovon die α - und die γ -Form als gesichert gelten. Um eine mögliche Phasentransformation während der Tablettierung zu vermeiden, wurde die stabilere γ -Form als Modellwirkstoff gewählt. Ihr Röntgendiffraktogramm und das dazugehörige theoretische Spektrum aus der PDF-2 Datenbank sind in Abb. 4.2.3 und 4.2.4 dargestellt. Beim Vergleich der relativen Intensitäten ist eine deutliche Vorzugsorientierung in der Pulverprobe feststellbar.

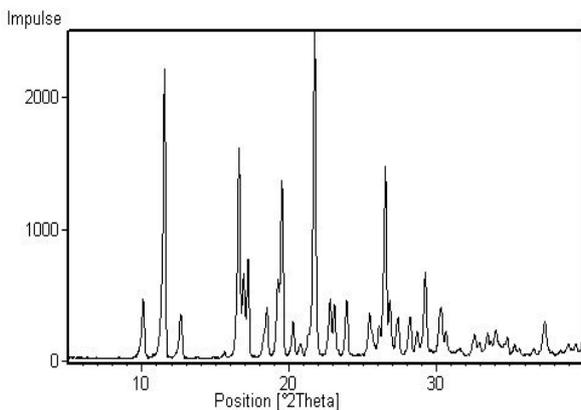


Abb. 4.2.3: Röntgendiffraktogramm von γ -Indomethacin

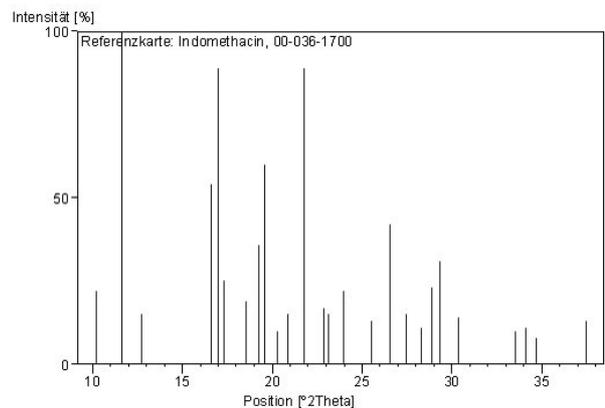


Abb. 4.2.4: theoretisches Strichdiffraktogramm von γ -Indomethacin

Die Bestandteile der Hilfsstoffmatrix sind bis auf Granulac 200 (α -Lactose-Monohydrat) alle amorph und tragen damit nur zu Erhöhung des allgemeinen Untergrundrauschens bei. Das Spektrum einer Placebotablette ist in Abb. 4.2.5 dargestellt:

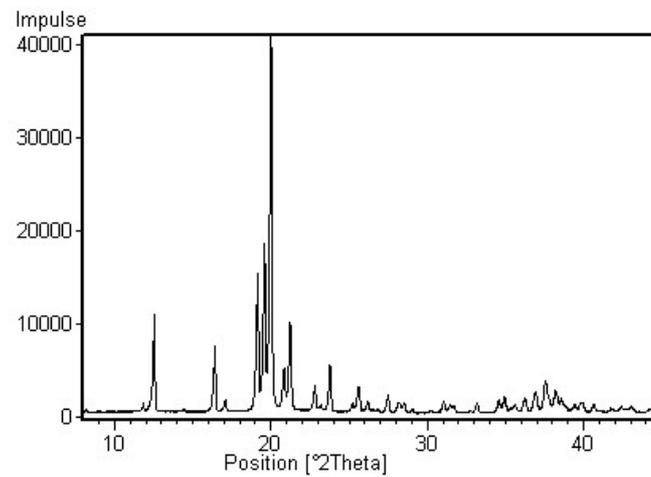


Abb. 4.2.5: Röntgenspektrum einer Placebotablette aus Granulac 200 (88 %), Maisstärke (7.5 %), Kollidon 25 (4 %) und Mg-Stearat (0.5 %)

4.2.4 Quantitative Wirkstoffbestimmung in Abhängigkeit von der Tablettenform

4.2.5.1 Biplane Tabletten

Die Vermessung der biplanen Tabletten erfolgt in der parafokussierenden Bragg Brentano Reflexionsgeometrie, die genauen Messbedingungen sind in Kap. 3.2.1.1 und 3.2.1.2 zu finden.

In Abb. 4.2.6 ist das Röntgendiffraktogramm einer Tablette dargestellt, die 15 (m/m) % Indomethacin enthält. Aufgrund des hohen Anteils kristalliner Lactose kommt es vor allem im hinteren Winkelbereich zu zahlreichen Überlappungen zwischen den Wirk- und Hilfsstoffpeaks, während im vorderen Bereich noch einige einzelstehende, klar zuzuordnende Reflexe zu finden sind. Für die quantitative Wirkstoffbestimmung wird der Peak bei 21.8 °2θ gewählt, da er freistehend und nahezu normalverteilt ist, was das Ergebnis der Profilanpassung verbessert.

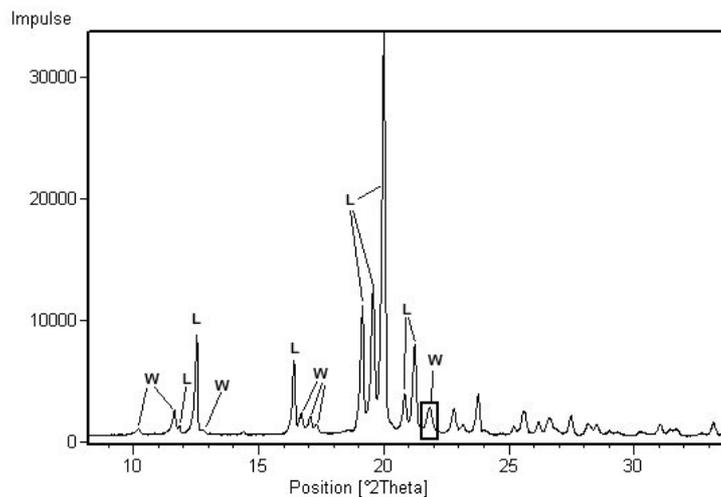


Abb. 4.2.6: Röntgendiffraktogramm einer biplanen Tablette mit 15 % Indomethacinanteil; W: Wirkstoff-, L: Lactosereflex

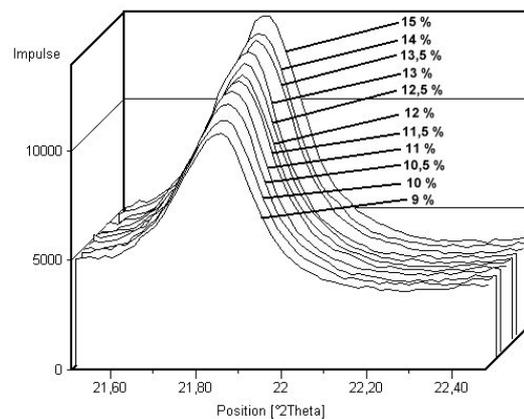


Abb. 4.2.7: Zunahme von Peakhöhe und –fläche (21.8 °2θ) mit steigender Indomethacinkonzentration; biplane Tablette

Von jeder Kalibriercharge werden mindestens drei Tabletten vermessen, die anschließend für die UV Messung beiseite gelegt werden.

Bereits in Abb. 4.2.7 ist klar erkennbar, dass mit steigender Indomethacinkonzentration Peakhöhe bzw. –fläche des $21.8^\circ 2\theta$ Reflexes linear zunehmen. Dementsprechend gut ist das Ergebnis der klassischen Kalibrierung über die Peakfläche (Abb. 4.2.8; Tab. 4.2.1): der Offset der Kalibrationsgeraden ist null, die Steigung 1 und der Korrelationskoeffizient 0.997. Es liegt keine systematische Abweichung vor (Bias: 0.006 %), und die Präzision der Methode, die durch den SEC (standard error of calibration) repräsentiert wird, ist mit 0.23 % hoch. Dementsprechend wird der durch den RMSEC beschriebene Methodenfehler nur durch zufällige Abweichungen verursacht und liegt analog zum SEC bei 0.23 %.

Die obige Kalibrierung wurde gegen den theoretischen, laut Einwaage erwarteten Indomethacingehalt in der Tablette durchgeführt. Werden die Ergebnisse gegen die durch die UV Spektroskopie ermittelten Indomethacingehalte aufgetragen (Abb. 4.2.9), so verschlechtert sich das Ergebnis der Kalibration. Trotz eines guten Korrelationskoeffizienten von 0.993 zeigt die Kalibrationsgerade einen deutlichen Offset von -0.48, einen erhöhten systematischen und zufälligen Fehler und damit einen insgesamt verschlechterten Methodenfehler (0.26 %).

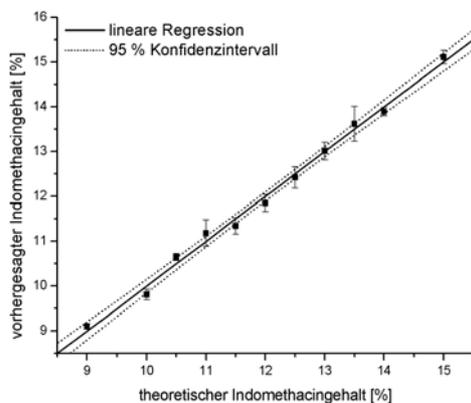


Abb. 4.2.8: Vorhersage des Indomethacingehalts über die Peakfläche des $21.8^\circ 2\theta$ Reflexes (XRPD, biplane Tabl.) in Abhängigkeit von dem theoretischen Gehalt

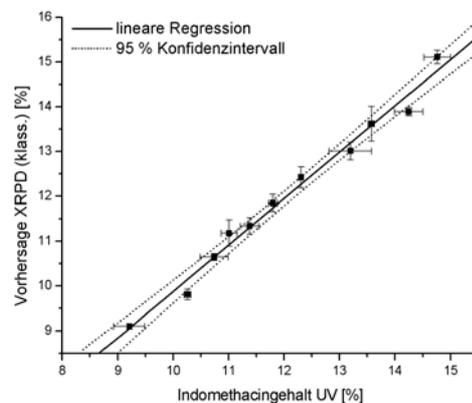


Abb. 4.2.9: Vorhersage des Indomethacingehaltes über die Peakfläche des $21.8^\circ 2\theta$ Reflexes in Abhängigkeit vom UV-metrisch ermitteltem Gehalt; biplane Tabl.

Verursacht wird dies durch die UV Spektroskopie, deren Ergebnisse ebenfalls einen starken Offset, erhöhten Bias und eine verminderte Präzision zeigen (Abb.4.2.10). Mögliche Gründe für diese

Abweichungen können Verdünnungsfehler während der Probenpräparation oder unterschiedlich mitgeschleppte Bestandteile der Hilfsstoffmatrix sein. Die auf einer Placebotablette beruhende Blindprobe sowie die Proben der Kalibriermuster wurden in reinem Methanol dispergiert, wobei sich das Indomethacin löst, während die Hilfsstoffe (v.a. Lactose) im Sediment zurückbleiben. Es ist möglich, dass ein Teil des gelösten Wirkstoffs am Niederschlag absorbiert und dadurch bei den weiteren Verdünnungsschritten nicht erfasst wird, was die schlechtere Ergebnisstatistik der UV Kalibration erklären würde.

Die mangelnde Qualität der Kalibriermuster als Ursache für die Diskrepanz zwischen dem theoretischen und dem UV-metrisch ermittelten Gehalt anzusehen, ist aufgrund der XRPD Ergebnisse, die einen hervorragenden Zusammenhang zwischen erwarteter und gemessener Konzentration beschreiben, eher unwahrscheinlich.

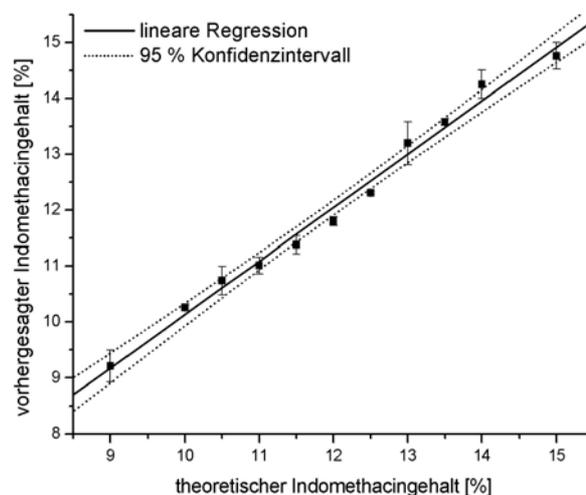


Abb. 4.2.10: Auftragung des durch die UV Spektroskopie vorhergesagten Indomethacingehaltes gegen den theoretischen Gehalt in den biplanen Tabletten: zur Bestimmung der (m/m %) Konzentration von Indomethacin wurde der in der Untersuchungslösung gefundene absolute Gehalt über die Tablettenmasse in die Konzentration umgerechnet

Zusätzlich zu der klassischen, univariaten Auswertung der XRPD Daten wird durch einen chemometrischen, multivariaten Ansatz versucht, die Qualität der Kalibration weiter zu verbessern.

Als X-Variable der inversen Kalibration wurde die erste Ableitung des Winkelbereichs von 21.5 bis 22.5 °2 θ gewählt, auf dessen Basis die Vorhersage der Indomethacinkonzentrationen der Kalibriermuster stattfindet. Als Y-Variable dienen entweder der theoretische Gehalt der Tabletten oder der durch die UV Spektroskopie gefundene. Die Validierung der Ergebnisse erfolgt durch die Kreuzvalidierung.

Im Vergleich zu der klassischen Auswertung sind Linearität, Offset und Steigung etwas verschlechtert, die Methodenpräzision dagegen verbessert: der RMSEC beträgt 0.18 %, der $RMSEP_{(CV)}$ 0.21 % (Abb. 4.2.11, Tab. 4.2.1).

Werden die UV Ergebnisse als Referenz für die Erstellung des Kalibrationsmodells genommen, so erhöht sich der Methodenfehler auf ca. 0.25 % für die Kalibration und auf 0.28 % für die Vorhersage unbekannter Proben. Im Vergleich zu dem klassischen Modell, das die XRPD- mit den UV-Daten korreliert, sind jedoch Offset und Bias deutlich verringert, was bedeutet, dass das chemometrische Modell den Zusammenhang zwischen XRPD und UV besser und richtiger beschreibt, da es die XRPD Vorhersage in Abhängigkeit vom UV Ergebnis neu berechnet.

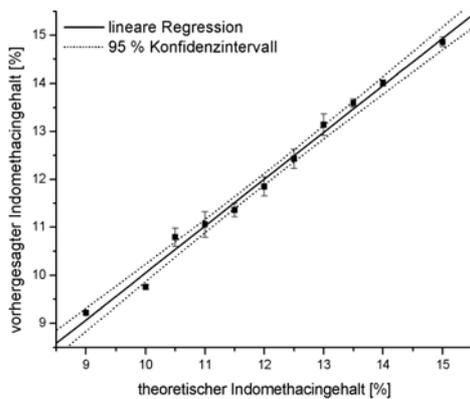


Abb. 4.2.11: Chemometrische Vorhersage des Indomethacin-gehaltes aufgrund der XRPD Daten in Abhängigkeit vom theoretischen Gehalt (biplane Tabl.)

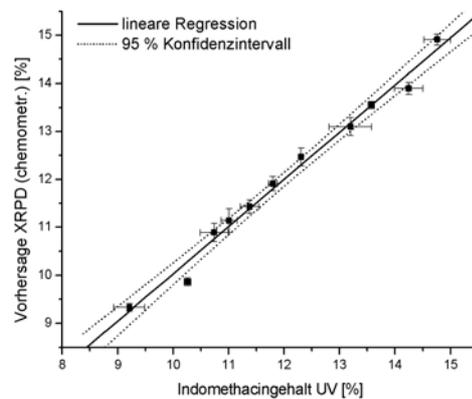


Abb. 4.2.12: Chemometrische Vorhersage des Indomethacin-gehaltes aufgrund der XRPD Daten in Abhängigkeit vom UV-metrisch ermittelten Gehalt (biplane Tabl.)

	XRPD				UV
	klassisch		chemometrisch		klassisch
	Fläche 21.8 °2th; Ref.: Sollgehalt	Fläche 21.8 °2th; Ref.: UV	1. Abl. 21.8 °2th; Ref.: Sollgehalt	1. Abl. 21.8 °2th; Ref.: UV	Absorption
Korr.-koeffizient r Cal	0,9971	0,9926	0,9947	0,9884	0,9944
Korr.-koeffizient r Val	n.b.	n.b.	0,9927	0,9855	n.b.
Steigung Cal	1,001	1,036	0,9896	0,977	0,956
Steigung Val	n.b.	n.b.	0,9774	0,975	n.b.
Offset Cal	-0,0073	-0,4813	0,125	0,277	0,575
Offset Val	n.b.	n.b.	0,276	0,302	n.b.
RMSEC	0,229	0,282	0,177	0,2534	0,258
RMSEP	n.b.	n.b.	0,209	0,2838	n.b.
SEC	0,232	0,284	0,18	0,2574	0,258
SEP	n.b.	n.b.	0,212	0,288	n.b.
Bias Cal	0,006	-0,029	0,00	1,73E-07	0,046
Bias Val	n.b.	n.b.	0,006	-0,001	n.b.
PC	n.b.	n.b.	2	2	n.b.

Tab. 4.2.1: Statistische Daten zu den Ergebnissen der linearen Regressionen von XRPD und UV; biplane Tabletten

	XRPD				UV
	klassisch		chemometrisch		klassisch
	Fläche 21.8 °2th; Ref.: Sollgehalt	Fläche 21.8 °2th; Ref.: UV	Peak 21.8 °2th; Ref.: Sollgehalt	Peak 21.8 °2th; Ref.: UV	Absorption
Korr.-koeffizient r Cal	0,9973	0,9989	0,992	0,982	0,9969
Korr.-koeffizient r Val	n.b.	n.b.	0,988	0,978	n.b.
Steigung Cal	0,9996	1,002	0,983	0,964	0,996
Steigung Val	n.b.	n.b.	0,968	0,978	n.b.
Offset Cal	0,0036	0,053	0,202	0,431	-0,033
Offset Val	n.b.	n.b.	0,388	0,577	n.b.
RMSEC	0,2656	0,373	0,225	0,331	0,259
RMSEP	n.b.	n.b.	0,265	0,368	n.b.
SEC	0,2692	0,342	0,228	0,336	0,251
SEP	n.b.	n.b.	0,269	0,373	n.b.
Bias Cal	0,006	0,160	5,78E-08	-2,89E-07	-0,077
Bias Val	n.b.	n.b.	0,0067	0,019	n.b.
PC	n.b.	n.b.	1	1	n.b.

Tab. 4.2.2: Statistische Daten zu den Ergebnissen der linearen Regressionen von XRPD und UV; gewölbte Tabletten

4.2.5.2 Gewölbte Tabletten

Die Vermessung der gewölbten Tabletten erfolgt analog zu den biplanen Tabletten in der Bragg Brentano Reflexionsgeometrie mit dem Unterschied, dass der einfallende Röntgenstrahl durch das Einbringen eines Spiegels parallelisiert wird. Dadurch wird das Vermessen der von den Fokussierungsbedingungen abweichenden, gewölbten Tablettenoberfläche ermöglicht.

Da es sich bei der in dieser Arbeit verwendeten Optik um einen Hybridmonochromator handelt, der zusätzlich zur Parallelisierung der einfallenden Röntgenstrahlung auch die K_{β} - und $K_{\alpha 2}$ -Strahlung eliminiert, ist die Peakintensität insgesamt herabgesetzt. Dadurch verschlechtert sich die Zählstatistik, was sich im zufälligen Fehler (SEC bzw. $SEP_{(CV)}$) der späteren Kalibrierungen zeigt. Außerdem reduziert der Parallelstrahl die Auflösung des Diffraktogramms (Abb. 4.2.13).

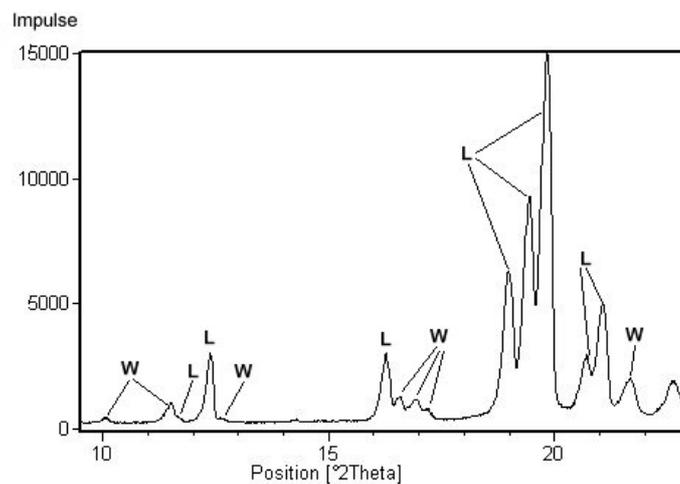


Abb. 4.2.13: Röntgendiffraktogramm einer gewölbten Tablette mit einem Indomethacingehalt von 15 (m/m) %; die Peakintensität und Auflösung sind verglichen mit der fokussierenden Aufnahme der biplanen Tablette schlechter; W: Wirkstoff, L: Lactose

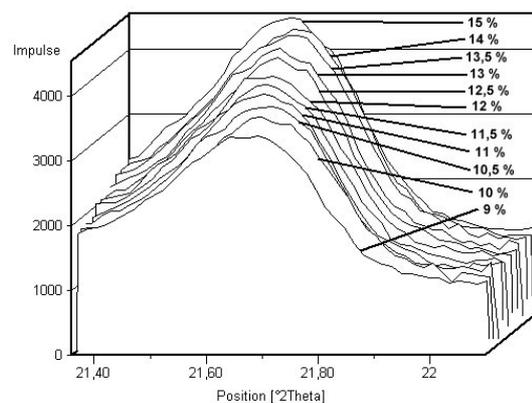


Abb. 4.2.14: Zunahme von Peakhöhe und -fläche ($21,8^{\circ}2\theta$) bei zunehmender Indomethacinkonzentration; gewölbte Tablette

Anhand von Abb. 4.2.14 ist zu erkennen, dass die Peakfläche des Reflexes bei $21.8^\circ 2\theta$ proportional zur theoretischen Wirkstoffkonzentration zunimmt. Analog zu dem Ergebnis der biplanen Tabletten zeigt die Kalibrationsgerade einen Offset von null, eine Steigung von eins und einen Korrelationskoeffizienten von 0.997 (Abb. 4.2.15). Der Bias ist nahezu null, der SEC beträgt 0.27 %. Dieser - im Vergleich zu den biplanen Tabletten höhere - Wert wird durch die geringere Peakintensität und den damit erhöhten Einfluß von Peakschwankungen auf die statistische Genauigkeit verursacht und ist damit nicht auf die gewölbte Oberfläche zurückzuführen. Würde statt eines Hydridmonochromators eine reine Spiegeloptik verwendet, so fiel der Intensitätsverlust durch die Monochromatisierung weg, und die statistische Genauigkeit wäre entsprechend besser.

Betrachtet man die Abhängigkeit des UV spektroskopischen Ergebnisses von dem theoretischen Wirkstoffgehalt (Abb. 4.2.17, Tab. 4.2.2), so lässt sich auch hier ein linearer Zusammenhang mit einem hohen Korrelationskoeffizienten feststellen, wobei der Methodenfehler der Kalibration in der gleichen Größenordnung wie der der XRPD Kalibration liegt.

Die Korrelation der XRPD und der UV Vorhersage ist ebenfalls linear (Abb. 4.2.16), es existiert jedoch eine systematische Abweichung zwischen beiden Methoden, die sich in dem Bias von 0.16 % äußert. Der zufällige Fehler ist mit 0.34 % erhöht, der Gesamtmethodenfehler (RMSEC: 0.37 %) ebenfalls.

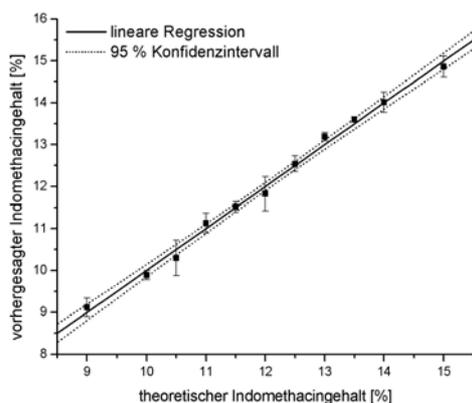


Abb. 4.2.15: Vorhersage des Indomethacingehalts über die Peakfläche des $21.8^\circ 2\theta$ Reflexes (XRPD, gewölbte Tabl.) in Abhängigkeit von dem theoretischen Gehalt

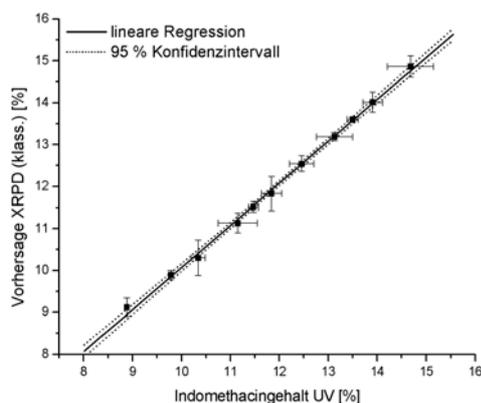


Abb. 4.2.16: Vorhersage des Indomethacingehaltes über die Peakfläche des $21.8^\circ 2\theta$ Reflexes in Abhängigkeit vom UV-metrisch ermitteltem Gehalt (gewölbte Tabl.)

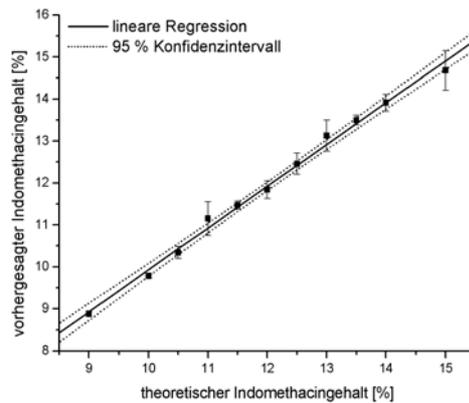


Abb. 4.2.17: Auftragung des durch die UV Spektroskopie vorhergesagten Indomethacingehaltes gegen den theoretischen Gehalt in den gewölbten Tabletten: zur Bestimmung der (m/m %)

Die chemometrische Auswertung der XRPD Daten (Abb. 4.2.18, Tab. 4.2.2) verschlechtert die Korrelation der Daten mit dem Idealgelt geringfügig, verbessert aber dafür die Präzision und damit den Methodenfehler: der RMSEC kann auf 0.23 % gesenkt werden (vgl. mit der klassischen Analyse: 0.27 %), der $RMSEP_{(CV)}$ beträgt 0.26 %. Im Gegensatz zu den Daten der biplanen Tabletten wurden die Spektren der gewölbten Proben nicht vorbehandelt

Werden die Ergebnisse der UV Analyse für die XRPD Vorhersage benutzt (Abb. 4.2.19), wird das Modell so angepasst, dass die Richtigkeit der Methode maximiert und damit der Bias im Vergleich zur klassischen Korrelation, d.h. der Erstellung des graphischen Zusammenhangs zwischen den bereits berechneten XRPD- und den UV-Daten, minimiert wird. Der Methodenfehler (RMSEC: 0.33 %, $RMSEP_{(CV)}$: 0.37 %) verbleibt jedoch auf erhöhtem Niveau.

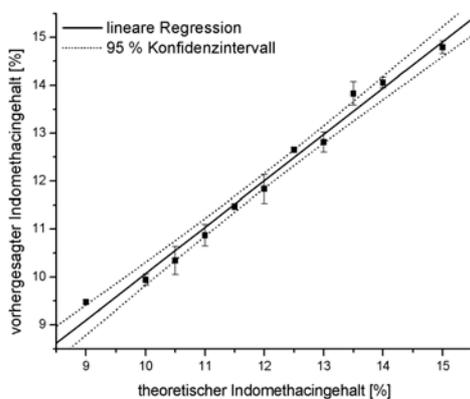


Abb. 4.2.18: Chemometrische Vorhersage des Indomethacingehaltes aufgrund der XRPD Daten in Abhängigkeit vom theoretischen Gehalt (gewölbte Tabl.)

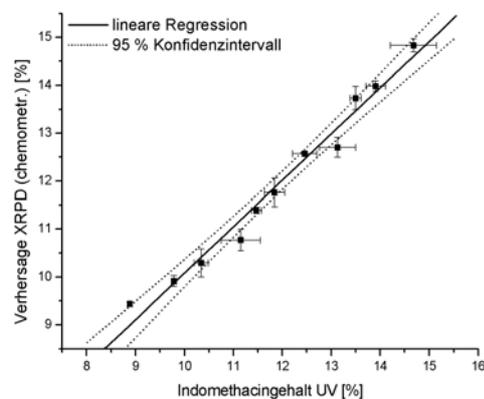


Abb. 4.2.19: Chemometrische Vorhersage des Indomethacingehaltes aufgrund der XRPD Daten in Abhängigkeit vom UV-metrisch ermittelten Gehalt (biplane Tabl.)

4.2.5.3 Gesamtbewertung

Mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie können Tabletten unabhängig von ihrer Form vermessen und Gehaltsunterschiede von 0.5 (m/m) % mit hoher Genauigkeit festgestellt werden.

Die verringerte Präzision der Kalibrationsergebnisse gewölbter Tabletten ist vor allem auf die geringere Intensität der Peaks und damit auf den erhöhten Einfluß statistischen Schwankens in der Zählrate zurückzuführen. Der Ersatz des Hybridmonochromators durch eine reine Spiegeloptik kann dieses Problem lösen.

Die Messzeit variiert je nach eingesetzter Optik und vermessenem Winkelbereich zwischen 3 und 6 Minuten bei der Präzisionsmessung auf dem Einzelpeak bei $21.8^\circ 2\theta$. Die längeren Zählzeiten sind bei der Verwendung des Hybridmonochromators vonnöten (Intensitätsverlust durch Monochromatisierung) und können durch den Einsatz eines einfachen Spiegels (s.o.) verkürzt werden.

Die chemometrische Auswertung verbessert die Präzision der Messung und – im Fall der Vorhersage der XRPD Ergebnisse auf der Grundlage der UV Daten – auch den Bias.

Der Vergleich der XRPD- und UV-Ergebnisse zeigt, dass die Röntgendiffraktometrie hinsichtlich Messgenauigkeit und –präzision der UV Spektroskopie vergleichbar, teilweise sogar überlegen ist. Durch den geringeren Aufwand bei der Probenpräparation, die zügige Messzeit und die Unversehrtheit der Tablette nach erfolgter Messung stellt sie eine Alternative zur UV Detektion dar. Außerdem enthält das XRPD Spektrum wertvolle Kristallstrukturinformationen (z.B. über polymorphe Phasenumwandlungen während der Tablettierung), die durch die Anwendung der UV Spektroskopie verloren gehen würden.

4.2.5 Quantitative Wirkstoffbestimmung in Abhängigkeit von der Partikelgröße*

4.2.5.1 Wirkstoffpartikel < 10 μm

Analog zu den Ergebnissen aus Kap. 4.2.4 bereitet die quantitative, röntgenographische Wirkstoffbestimmung komplex zusammengesetzter, unzerstörter Tabletten, die den Wirkstoff in mikronisierter Form (< 10 μm) enthalten, keine Schwierigkeiten. Der Indomethacingehalt läßt sich über die Peakfläche des 21.8 °2 θ Reflexes bestimmen, wobei die Ergebnisse der konventionellen Bragg Brentano Geometrie (PDS- bzw. Mirror – RTMS) den Idealgehalt der Tabletten am besten annähern (Abb. 4.2.21 und 4.2.22).

Eine bessere Korrelation zwischen den theoretischen und gemessenen Daten wird bei gewölbten Tabletten durch eine Spiegel – Spiegel Anordnung erreicht, bei der je ein Spiegel in den einfallenden und in den gebeugten Strahl eingebracht wird (Abb. 4.2.20). Tabletten jeglicher Form können so ohne Verschlechterung der Auflösung oder Verfälschung der Peakposition vermessen werden. Allerdings ist auf eine gleich bleibende Probenhöhe zu achten, da durch sie die Intensität des gebeugten Strahls und damit das quantitative Ergebnis beeinflusst werden [15].

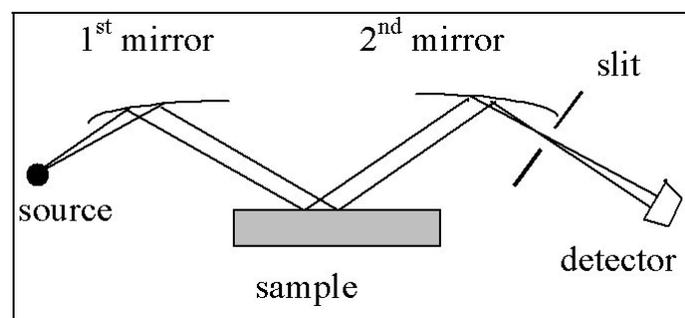


Abb. 4.2.20: Schematische Darstellung der Anordnung der beiden Spiegeloptiken im Strahlengang des Röntgendiffraktometers

Die Ergebnisse der UV Spektroskopie zeigen auch eine lineare Abhängigkeit vom Indomethacingehalt, liegen numerisch aber teilweise unterhalb des theoretischen Gehalts. Die Korrelation ist mit der röntgenographisch erhaltenen qualitativ vergleichbar.

* Diese Untersuchungen wurden in Kooperation mit PANalytical durchgeführt

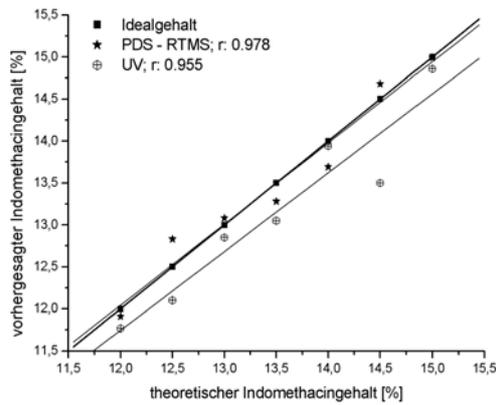


Abb. 4.2.21: Quantitative Gehaltsbestimmung von Indomethacin in biplanen Tabletten (n = 1); Teichengröße des Wirkstoffs: <math>< 10 \mu\text{m}</math>

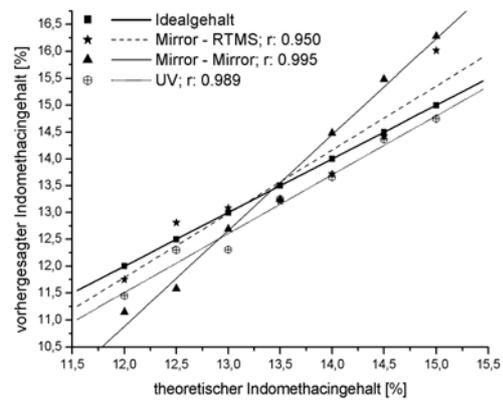


Abb. 4.2.22: Quantitative Gehaltsbestimmung von Indomethacin in gewölbten Tabletten (n = 1); Teilchengröße des Wirkstoffs: <math>< 10 \mu\text{m}</math>

4.2.5.2 Wirkstoffpartikel > 10 μm

Die Vermessung von Tabletten, die den Wirkstoff in größerer Form enthalten, ist deutlich schwieriger. Durch die größeren Partikel tritt verstärkt Textur, aber auch Mikroabsorption und Extinktion auf [4], was zu nicht reproduzierbaren Intensitätsschwankungen im Spektrum führt. Eine quantitative Auswertung auf der Basis eines einzelnen Peaks ist daher nicht mehr möglich. Aufgrund dessen wird das gesamte Spektrum für die Gehaltsbestimmung benutzt, was durch die Anwendung der quantitativen Rietveldanalyse geschieht. Dabei werden anhand der Kristallstrukturdaten von Indomethacin und α -Lactosemonohydrat die theoretischen Spektren der beiden Substanzen so lange miteinander kombiniert und verfeinert, bis das gemessene Spektrum optimal beschrieben wird (Abb. 4.2.23). Die Vorzugsorientierung der Partikel wird in der Berechnung so gut es geht berücksichtigt.

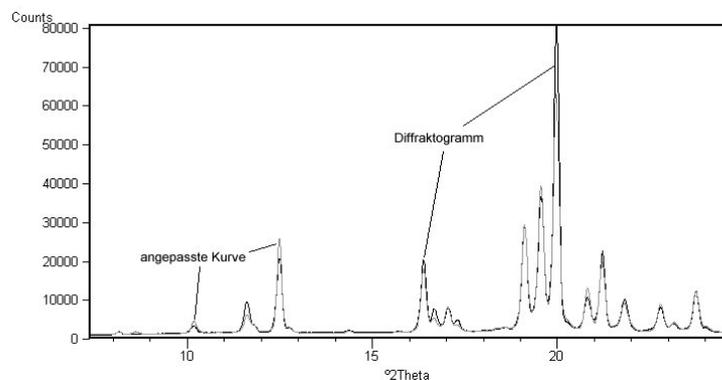


Abb. 4.2.23: Vergrößerter Ausschnitt aus einem nach Rietveld verfeinerten Diffraktogramm; schwarze Kurve: gemessenes Spektrum; graue Kurve: berechnetes (angepasstes) Spektrum

Abb. 4.2.24 und 4.2.25 zeigen, dass zwischen den Daten der Rietveldanalyse und dem theoretischen Gehalt an Indomethacin prinzipiell ein linearer Zusammenhang besteht (bei den biplanen Tabletten ein besserer als bei den gewölbten), allerdings weicht der Absolutwert des Ergebnisses sowohl bei den biplanen als auch bei den gewölbten Tabletten weit vom Sollwert ab.

Die Resultate der UV Spektroskopie belegen jedoch, dass sich der tatsächliche Indomethacingehalt in der Nähe des Sollgehalts befindet.

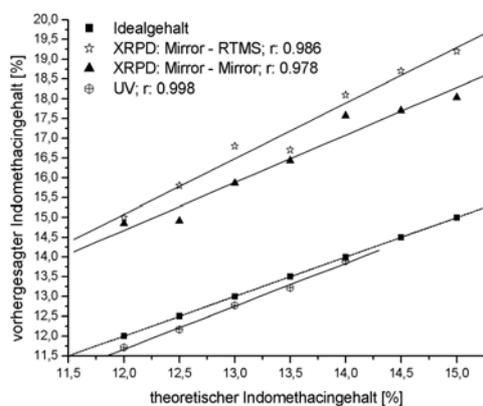


Abb. 4.2.24: Quantitative Gehaltsbestimmung von Indomethacin in biplanen Tabletten ($n = 1$); Teilchengröße des Wirkstoffs: $> 10 \mu\text{m}$

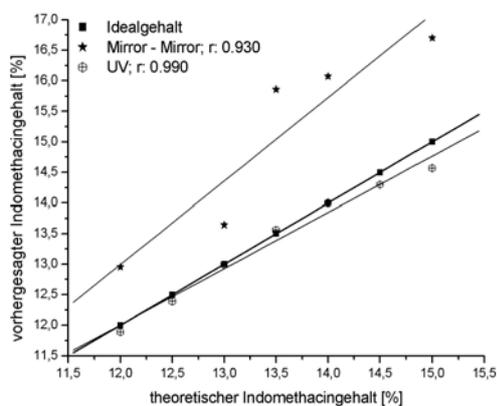


Abb. 4.2.25: Quantitative Gehaltsbestimmung von Indomethacin in gewölbten Tabletten ($n = 1$); Teilchengröße des Wirkstoffs: $> 10 \mu\text{m}$

Die Ursachen für die beobachteten Abweichungen der XRPD Ergebnisse können vielfältiger Natur sein.

Zum einen ist es möglich, dass das Rietveldmodell die Konzentrationsverhältnisse in der Tablette aufgrund des störenden Einflusses der amorphen Bestandteile oder der starken Textur nicht adäquat beschreibt. Da die Tabletten in Reflexion gemessen werden, wobei sich die Eindringtiefe des Röntgenstrahls in die Materie mit dem Beugungswinkel ändert, wird nicht die gesamte Kristallorientierung erfasst. Diese ändert sich aber graduell in der Tablette, weil während des Pressvorgangs am Exzenter ein Kraftunterschied zwischen Ober- und Unterstempel besteht. Abhilfe könnte eine Transmissionsmessung schaffen, die auf unserem Gerät nicht möglich ist.

Zum anderen können auch Mikroabsorptions- und Extinktionseffekte aufgrund der großen Wirkstoffpartikel eine mögliche Ursache für das Abweichen der XRPD Ergebnisse darstellen.

Außerdem hätte das Vermessen einer größeren Anzahl von Tabletten pro Charge zwar nicht den Bias, wohl aber die Präzision der Kalibrierungen verbessert.

4.2.5.3 Gesamtbewertung

Die Quantifizierung eines Wirkstoffs in der unzerstörten Tablette, der die Teilchengröße von 10 μm überschreitet, ist aufgrund der starken Vorzugsorientierung der Partikel nicht über die Peakfläche, und nur eingeschränkt über die Rietveldanalyse möglich. Es lässt sich zwar ein linearer Zusammenhang zwischen Wirkstoff- und Sollgehalt erstellen, dieser weist jedoch einen starken systematischen Fehler auf. Da nicht eindeutig geklärt ist, woher dieser Fehler kommt und ob er immer im gleichen Ausmaß auftritt, ist die UV spektroskopische Gehaltsbestimmung der röntgendiffraktometrischen vorzuziehen.

4.2.6 Fehlerabschätzung XRPD

In diesem Kapitel sollen geräte- und probenpräparationsbedingte Fehler sowie die Abhängigkeit des quantitativen Ergebnisses vom Zeitpunkt der Messung untersucht werden.

Fehler in der quantitativen Auswertung, die durch das Röntgendiffraktometer selbst verursacht werden (kurzfristige Intensitätsschwankungen in der Röhre etc.), werden durch 10-faches Vermessen einer Tablette mit 15 % Wirkstoffgehalt bestimmt, ohne die Probe aus dem Gerät zu entfernen. Die dabei auftretende Streuung ist sowohl bei der klassischen als auch bei der chemometrischen Auswertung sehr gering (Tab. 4.2.3). Da der Gerätefehler unabhängig von der Form der untersuchten Tablette ist, wurde er nur an einer biplanen Probe bestimmt.

Die Reproduzierbarkeit der Probenpräparation ist bei gewölbten Tabletten schlechter als bei biplanen, weil sich die Fixierung auf dem Knetgummi und die Angleichung der Tablettenhöhe an die Referenzhöhe des Probenträgers aufgrund der Wölbung schwieriger gestaltet. Da die Spiegeloptik zwar hinsichtlich Peakform und -position, nicht aber hinsichtlich der gemessenen Intensität unempfindlich gegenüber der Oberflächenbeschaffenheit der Probe reagiert, ist die Streuung der ermittelten Indomethacinkonzentration entsprechend höher. Die chemometrische Auswertung der Daten scheint die Variabilität der Probenpräparation besser auszugleichen.

Die Tagesreproduzierbarkeit wurde durch dreifaches Vermessen gewölbter Tabletten, die 15 % Indomethacin enthalten, an vier aufeinanderfolgenden Tagen bestimmt. Während die Werte der klassischen Auswertung vorwiegend durch die Variabilität der Probenpräparation bestimmt sind, zeigt die chemometrische Auswertung eine doppelt so große Streuung. Dies ist dadurch zu erklären, dass durch die fehlende Spektrenvorbehandlung der gewölbten Tabletten leichte Basislinien-

verschiebungen im gesamten Diffraktogramm, die nicht in den Regressionskoeffizienten der multivariaten Kalibration enthalten sind, eine Abweichung im quantitativen Ergebnis verursachen. Die Peakfläche und damit die klassische Auswertung werden durch diesen Offset dagegen nicht beeinflusst.

	biplan				gewölbt				n
	klass.		chemometr.		klass.		chemometr.		
	sd [%]	rsd [%]	sd [%]	rsd [%]	sd [%]	rsd [%]	sd [%]	rsd [%]	
Gerätereproduzierbarkeit	0,13	0,84	0,18	1,2	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	10
Probenpräparation	0,24	1,64	0,1	0,71	0,41	2,69	0,28	1,84	6 bis 10
Tagesreproduzierbarkeit	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	0,31	2,18	0,63	4,47	4d x 3

Tab. 4.2.3: Abschätzung der Fehler, die das quantitative Ergebnis einer Gehaltsbestimmung in der unzerstörten Tablette beeinflussen können; sie wurden an biplanen oder gewölbten Tabletten mit 13 mm Durchmesser ermittelt, die 15 % mikronisiertes Indomethacin enthielten.

4.3 In situ Stabilitätsuntersuchungen in der Temperatur - Feuchte Kammer (THC)

4.3.1 Bedeutung der Stabilität

Unter Instabilität versteht man die unerwünschte Wechselwirkung einer oder mehrerer Substanzen im fertigen Arzneimittel, deren Ursache chemischer, physikalisch-chemischer oder physikalischer Natur sein kann. Sie führen zu einer verminderten Qualität des Produkts wie Verfärbungen, verlangsamter Wirkstofffreisetzung oder Phasentrennungen. Auslöser sind entweder eine larvierte, während der Entwicklung und Herstellung des Arzneimittels unentdeckt gebliebene Inkompatibilität oder ungünstige bzw. falsche Lagerbedingungen hinsichtlich Temperatur, Feuchte, Licht, Sauerstoff oder Mikroorganismen. Da Arzneimittel häufig im metastabilen Zustand vorliegen und daher zu Umwandlungen in die stabile Form tendieren, ist ein entsprechendes Monitoring der Wirkstoffstabilität unerlässlich. Besonders bei hoher Feuchte kann sich die wasserfreie Form eines Wirkstoffs leicht in das Hydrat umwandeln, das in der Regel ein schlechteres Auflösungsvermögen und damit eine schlechtere Bioverfügbarkeit als das Anhydrat besitzt. Außerdem besteht bei der Verarbeitung eines An-/ Hydrats immer die Möglichkeit, dass unter bestimmten klimatischen Bedingungen das Hydratwasser des Wirkstoffs auf den Hilfsstoff übergeht und umgekehrt. Stabilitätsbestimmende Veränderungen, die die Kristallstruktur betreffen, wie Pseudo- bzw. Polymorphieumwandlungen oder Zersetzungen, können als *real time* Studie in der Temperatur-Feuchte-Kammer (THC) des Röntgendiffraktometers durchgeführt werden.

Als Modellsubstanzen für die Phasentransformations- und Inkompatibilitätsuntersuchungen wurden die Wirkstoffe Theophyllinmonohydrat (TM) und Theophyllinanhydrat (TA), sowie die Hilfsstoffe Emcompressanhydrat (DCPA) und -dihydrat (DCPD) gewählt.

4.3.2 Stand der Forschung

Theophyllin existiert als Mono- und Anhydrat, wobei sich die wasserfreie Form in eine Hoch- und Niedrigtemperatur- (stabil) sowie eine metastabile, polymorphe Form untergliedert (s. Kap. 3.1.2). Je nach Verarbeitung oder Lagerung können sich die Formen ineinander umwandeln.

Es wurden bereits zahlreiche Studien über den Einfluß von Mahldauer, Presskraft sowie von Feuchtgranulierung und -pelletierung auf die Festphasentransformation von Theophyllin

durchgeführt [35, 36, 39]. Durch die mechanische Belastung beim Vermahlen oder Tablettieren wird die Dehydratation des Monohydrates induziert [39].

Der umgekehrte Prozess, d.h. die Aufnahme von Hydratwasser, findet während der Feuchtgranulierung von Theophyllinhydrat statt. Dieses wird zwar im darauffolgenden Trocknungsprozess wieder rückgebildet [35], dabei bildet sich jedoch neben der stabilen auch die metastabile wasserfreie Form [38].

Die Kinetik der Umwandlung Monohydrat \rightarrow Anhydrat und umgekehrt wurde bisher am Pulver oder an der reinen Wirkstofftablette mit überwiegend thermischen Methoden wie IR-Waage oder TGA untersucht, bei denen unter isothermen Bedingungen der Gewichtsverlust der Probe in Abhängigkeit von der Zeit verfolgt wurde [40, 94, 95]. Zwei weitere Gruppen verwendeten isotherme Mikrokalorimetrie [96] bzw. XRPD [97].

Die kinetischen Ergebnisse der Dehydration des pulverförmigen Monohydrats variieren je nach Arbeitsgruppe, folgen aber im Allgemeinen einem Mechanismus nach Avrami Erofeev zweiter, dritter oder vierter Ordnung (Tab. 4.3.2). Nur XRPD weicht mit einer Kinetik nullter Ordnung deutlich ab. Die De- bzw. Hydratation der Tablette folgt je nach Porosität und Oberfläche einer 2D- oder 3D-Phasengrenzreaktion oder einer 1D-Diffusion [40, 94, 98].

Tab. 4.3.1 und 4.3.2 geben einen Überblick über die möglichen kinetischen Modelle einer Festphasenumwandlung und die bisher erreichten Ergebnisse mit Theophyllin.

Symbol	Gleichung	Mechanismus
P1	$\ln \frac{x}{1-x} = kt$	Zufällige Keimbildung (Prout-Tompkins Gleichung)
A2	$[-\ln(1-x)]^{1/2} = kt$	2-dimensionales Keimwachstum (Avrami Erofeev, $n = 1/2$)
A3*	$[\ln(1-x)]^{1/3} = kt$	3-dimensionales Keimwachstum (Avrami Erofeev, $n = 1/3$)
F1	$-\ln(1-x) = kt$	Zufällige Keimbildung; Mechanismus 1. Ordnung
R1	$1-x = kt$	1-dimensionale Phasengrenzenreaktion; Mechanismus 0. Ordnung
R2	$1-(1-x)^{1/2} = kt$	2-dimensionale Phasengrenzenreaktion (zylindrische Symmetrie)
R3	$1-(1-x)^{1/3} = kt$	3-dimensionale Phasengrenzenreaktion (sphärische Symmetrie)
D1	$x^2 = kt$	1-dimensionale Diffusion
D2	$(1-x) \ln(1-x) + x = kt$	2-dimensionale Diffusion
D3	$[1-(1-x)^{1/2}]^2 = kt$	3-dimensionale Diffusion (Jander Gleichung)
D4	$1-(2/3)x - (1-x)^{2/3} = kt$	3-dimensionale Diffusion (Ginstling-Brounshtein Gleichung)

* Die Avrami Erofeev Gleichung gilt auch mit $n = 1/4$, $n = 2/3$ und $n = 1$

Tab. 4.3.1: Übersicht der kinetischen Gleichungen für Festphasentransformationen [99]

Untersuchung	Probe		Analytik	Kinetik	E _a	[Lit.]
					[kJ/mol]	
Dehydratation von TM	Pulver		IR-Waage	A2	84,1	[94]
	gemahlene Pulver		IR-Waage	A3	96,3	[94]
	unfrakt. Pulver	17 mg	TGA (isotherm.)	A4	76,3	[95]
	Pulver > 500 µm	17 mg	TGA (isotherm.)	A4	75,7	[95]
	Pulver < 150 µm	17 mg	TGA (isotherm.)	R2	73,2	[95]
	unfrakt. Pulver	6 mg	TGA (isotherm.)	A4	95,4	[95]
	Pulver < 150 µm	6 mg	TGA (isotherm.)	A4	90,0	[95]
	Pulver		TGA (isotherm.)	A2	120,0	[33]
	Pulver		XRPD	R1	140,0	[97]
	Pulver		IMC	A4	n.b.	[96]
	Tabletten	2 cm; 49 MPa	IR-Waage	R2	61,5	[40]
	Tabletten	2 cm; 98 MPa	IR-Waage	R3	48,1	[40]
	Tabletten	2 cm; 196 MPa	IR-Waage	R3	56,1	[40]
Tabletten	1 cm; 98 MPa	IR-Waage	D1	48,1	[40]	
Hydratation von TA	Tabletten	Lagerung bei	IR-Waage	R3	n.b.	[98]
Hydratation von TX	Tabletten	95 % rF	IR-Waage	R2	n.b.	[98]

Tab. 4.3.2: Übersicht der bisherigen kinetischen Untersuchungsergebnissen zur De-/ Hydratation von Theophyllin; TM: Theophyllinmonohydrat, TA: stabiles Theophyllinhydrat, TX: metastabiles Theophyllinhydrat

4.3.3 Versuchsplan

In den folgenden Versuchsreihen werden mit Hilfe der THC des Röntgendiffraktometers die Phasentransformationen von Theophyllin qualitativ und quantitativ in Abhängigkeit von Feuchte und Temperatur erfasst, die Kinetik und Aktivierungsenergie der Dehydratation von Theophyllinmonohydrat in Vergleich zu den oben aufgeführten Ergebnissen bestimmt und mögliche Inkompatibilitäten mit dem Hilfsstoff Emcompressanhydrat und -dihydrat untersucht. Außerdem sollen die klimatischen Bedingungen für das Auftreten der metastabilen Form von Theophyllinanhydrat festgestellt werden. Es erfolgt ein Vergleich mit den klassischen Stabilitätsuntersuchungen aus dem Klimaschrank.

Erstellen von Kalibrierreihen

- THC: 0, 10, 25, 50, 75, 90, 100 % Theophyllinmonohydrat in stabilem Anhydrat
- Sample spinner: 0, 10, 25, 50, 75, 90, 100 % Theophyllinmonohydrat in stabilem Anhydrat

Da die metastabile Form des Anhydrats nicht rein gewinnbar ist, konnten keine entsprechenden Kalibrierreihen erstellt werden.

Untersuchungen an Theophyllinmonohydrat

- Phasentransformation in Abhängigkeit von der Temperatur:
 - 40 °C, 45 °C, 50 °C, 55 °C, 60 °C
 - Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k
 - Erstellen des Arrheniusdiagramms
 - Ermittlung der Aktivierungsenergie E_a
- Phasentransformation in Abhängigkeit von der relativen Feuchte:
 - 40 °C / 10 % rF
 - 40 °C / 30 % rF
 - 40 °C / 50 % rF
- Phasentransformation in Abhängigkeit von Temperatur und relativer Feuchte
 - 25 °C / 10 % rF vs. 40 °C / 10 % rF
 - 25 °C / 30 % rF vs. 40 °C / 30 % rF
 - 25 °C / 50 % rF vs. 40 °C / 50 % rF

- Ergebnisse Klimaschrank
 - 25 °C / 2 % rF
 - 25 °C / 60 % rF
 - 40 °C / 75 % rF

Untersuchungen an Theophyllinhydrat

- Hydratation bei 25 °C und 95 % rF → Kinetik der Umwandlung

Inkompatibilitätsstudien

- Theophyllinhydrat + Emcompressdihydrat (DPCD) (1:1)

→ da Emcompressdihydrat v.a. unter höheren Feuchten dehydratisiert [29, 45, 100], wurden diese Mischungen zusammen mit den jeweiligen Reinsubstanzen eingelagert unter:

- 25 °C / 2 % rF
- 25 °C / 60 % rF
- 25 °C / 75 % rF
- 25 °C / 90 % rF
- 40 °C / 75 % rF
- 40 °C / 90 % rF

- Theophyllinmonohydrat + Emcompressanhydrat (1:1)
- Theophyllinmonohydrat + Fujicalin (1:1)

→ die Einlagerung dieser Mischungen erfolgte zusammen mit den Reinsubstanzen bei:

- 25 °C / 2 % rF
- 25 °C / 60 % rF
- 40 °C / 75 % rF

Als Einlagerungsgefäße für den Klimaschrank dienten offene Bechergläser, um die Substanzen direkt der eingestellten relativen Feuchte auszusetzen.

4.3.4 Substanzcharakterisierung

4.3.4.1 Theophyllinhydrat (TA)

Als eine der Ausgangssubstanzen für die Untersuchungen dient mikronisiertes Theophyllinhydrat von BASF. Die Dichte- und Summenverteilung der Teilchengröße sind in Abb. 4.3.1 dargestellt.

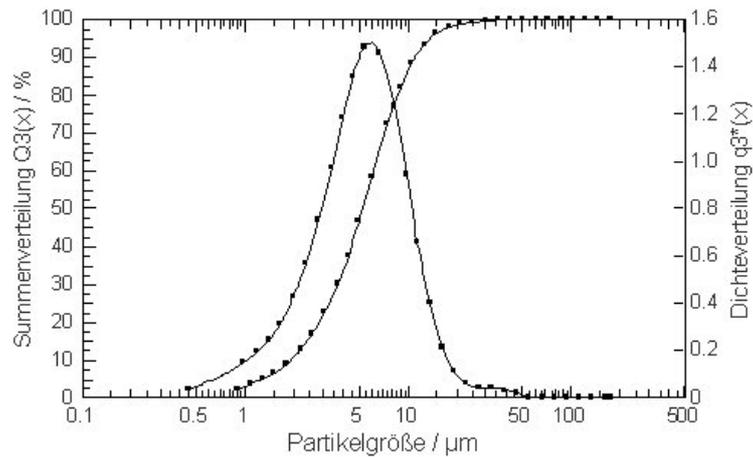


Abb. 4.3.1: Partikelgrößenverteilung von mikronisiertem Theophyllinhydrat BASF;
 x_{10} : 1,97 μm , x_{50} : 5,33 μm , x_{90} : 11,13 μm

Es liegt eine monomodale, gaußförmige Verteilung vor, wobei der Großteil der Teilchen kleiner als 10 μm ist (x_{10} : 1,97 μm , x_{50} : 5,33 μm , x_{90} : 11,13 μm). Dies bedeutet, dass es trotz Frontloadings des Probenträgers zu keinen oder nur geringfügigen Texturproblemen kommt.

Die thermischen Untersuchungen von TA zeigen die einsetzende Schmelze bei ca. 270 $^{\circ}\text{C}$, was sich bei der TGA als Massenabnahme und in der DSC als endothermer Schmelzpeak äußert. Ein Kristallwasserverlust wie beim Monohydrat (s.u.) wird erwartungsgemäß nicht beobachtet.

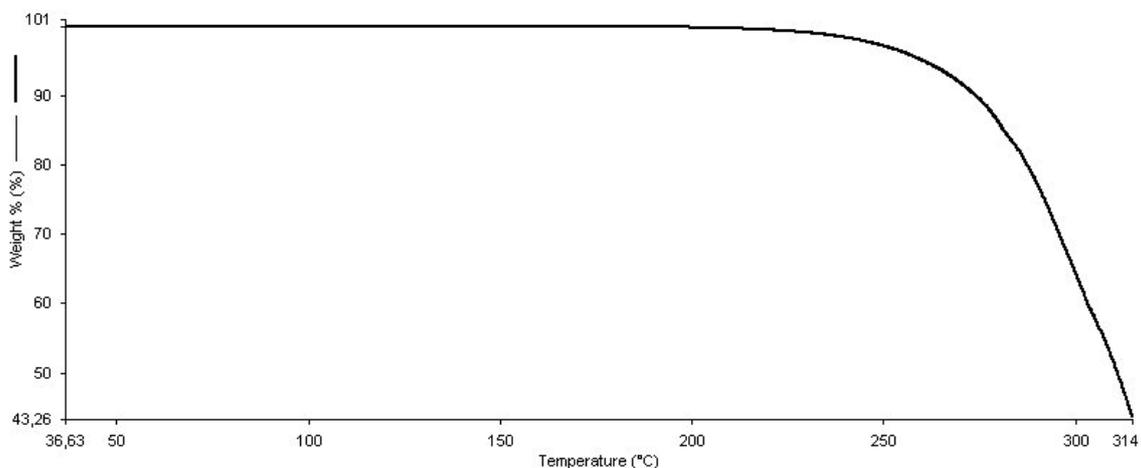


Abb. 4.3.2: TGA Thermogramm von wasserfreiem, stabilem Theophyllin

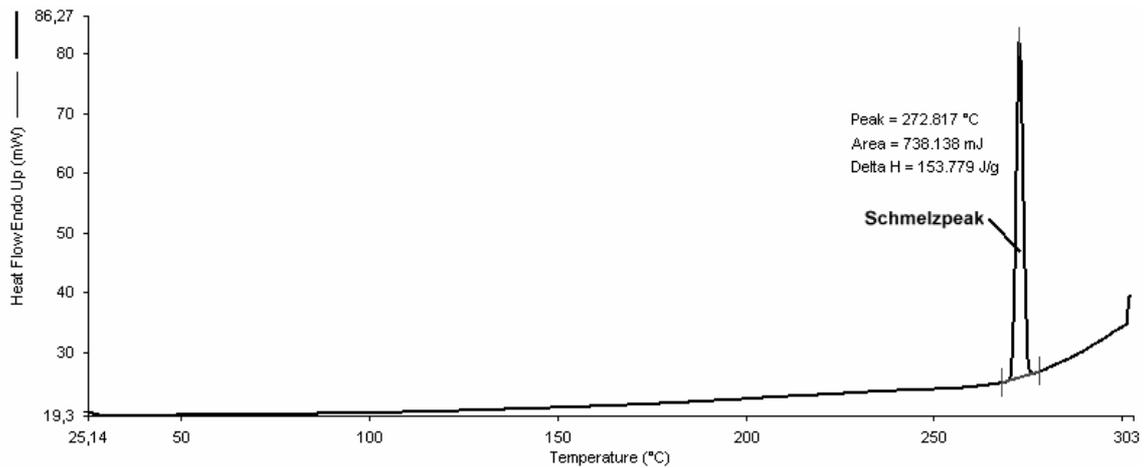


Abb. 4.3.3: DSC Thermogramm von wasserfreiem, stabilen Theophyllin

Das Röntgendiffraktogramm zeigt charakteristische, scharfe Reflexe mit einzelstehenden Peaks bei 7.1, 12.6 und 14.3 °2θ. Der Spektrenvergleich des Strichmuster von TA aus der PDF-2 Datenbank und einer Probe aus der THC ergibt, dass das Diffraktogramm trotz der geringen Partikelgröße eine leichte Veränderung der relativen Peakintensitäten zeigt, was auf Textureffekte schließen läßt (Abb. 4.3.4 und 4.3.5). Diese werden hauptsächlich durch das front loading und die fehlende Drehung des Probentellers verursacht, da eine durch back loading präparierte Pulverprobe in der Konfiguration des sample spinners oder eine Kapillarmessung bessere Ergebnisse liefern (Tab. 4.3.3).

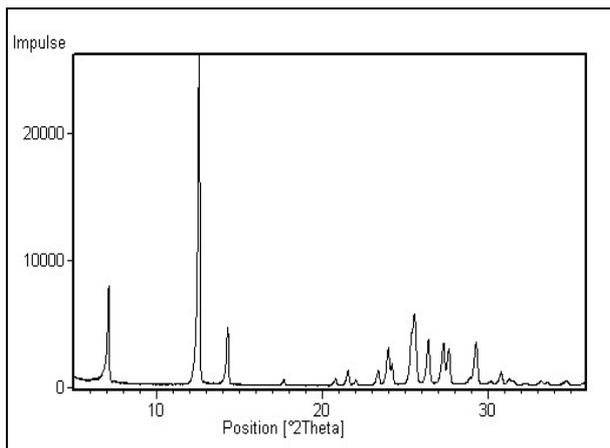


Abb. 4.3.4: Röntgendiffraktogramm von TA; Messung in der THC

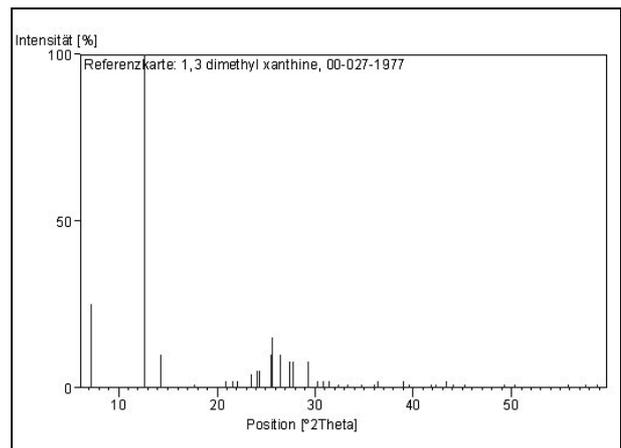


Abb. 4.3.5: Strichmuster von TA

Relative Intensität bei	Theorie (PDF-2)	Kapillare	THC	Sample spinner
7.1 °2θ (020)	25 %	18.49 %	27.3 % (sd: 0.35 %)	25.52 % (sd: 1.58 %)
12.6 °2θ (120)	100 %	100 %	100 % (sd: 0 %)	100% (sd: 0%)
14.3 °2θ (040)	10 %	10.38 %	17.34 % (sd: 1.4 %)	13.06 % (sd: 0.78 %)

Tab. 4.3.3: Relative Intensitäten der Leitpeaks von TA in der Konfiguration des Capillary spinners, der THC und des Sample spinners, verglichen mit der Theorie (PDF-2)

Die TA Partikel sind nadelförmig mit glatter Oberfläche und geschichteter, innerer Struktur.

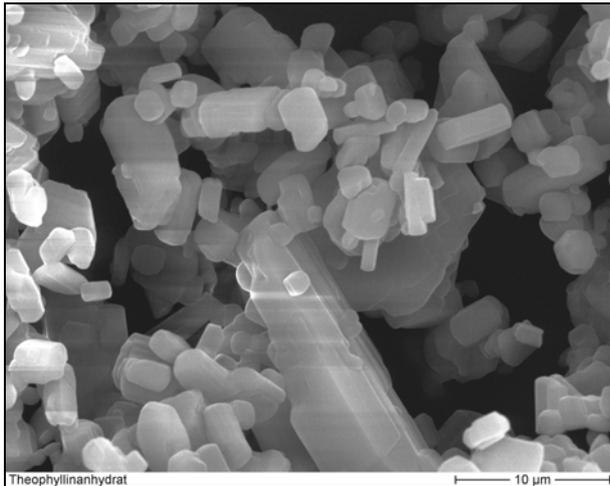


Abb. 4.3.6: REM Aufnahme von TA

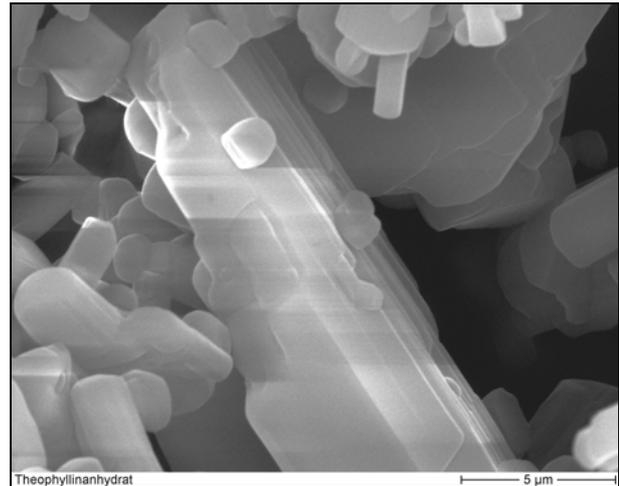


Abb. 4.3.7: REM Aufnahme von TA

4.3.4.2 Theophyllinmonohydrat (TM)

Theophyllinmonohydrat weist ein breiteres und gröberes Partikelgrößenspektrum als das Anhydrat auf (Abb. 4.3.8), so dass Textureffekte wahrscheinlicher werden. Dennoch ähneln sich beide Verteilungen genug, um homogene Mischungen für die späteren Kalibrierungen zu bekommen.

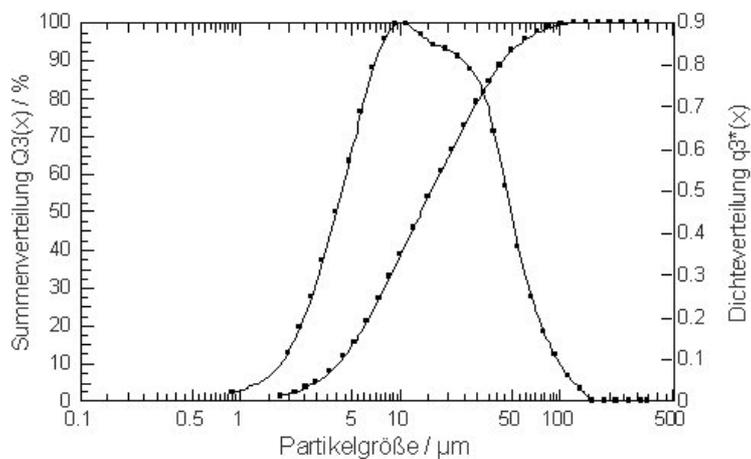


Abb. 4.3.8: Partikelgrößenverteilung von TM; x_{10} : 4.04 µm, x_{50} : 13.2 µm, x_{90} : 41.5 µm

Die Thermogramme von TM unterscheiden sich von denen des Anhydrats durch den Verlust von ca. 8.7 % Kristallwasser (PhEur: 8 – 9.5 %), das der TGA zufolge in einem zweistufigen Prozess abgegeben wird: der erste Teil entweicht bei ca. 80 °C (ca. 2.3 %), das restliche Wasser bei ca. 105 °C (Abb. 4.3.9). Die Abgabe erfolgt parallel der c-Achse des Kristalls entlang derer sich die Kanäle des gebundenen Wassers anordnen. [51, 96]. In der DSC zeigt sich der Kristallwasserverlust durch einen endothermen Peak bei ca. 87 °C (Abb. 4.3.10). Während der Dehydratation bildet sich u.a. metastabiles TA, das sich in einem exothermen Prozess bei ca. 193 °C in die stabile Form umlagert, die anschließend bei 274 °C schmilzt.

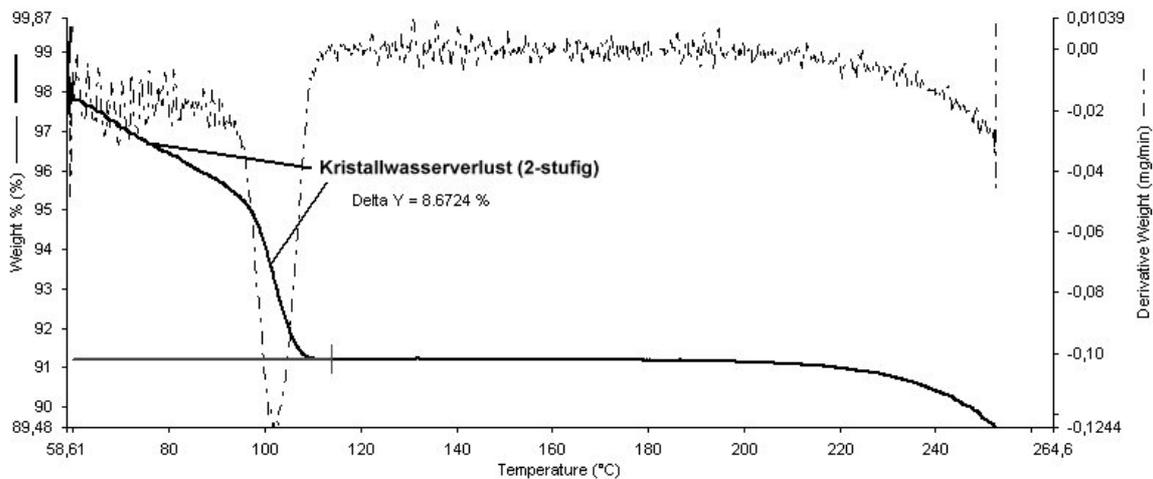


Abb. 4.3.9: TGA Thermogramm von TM mit zweistufigem Kristallwasserverlust bei 80 und 105 °C

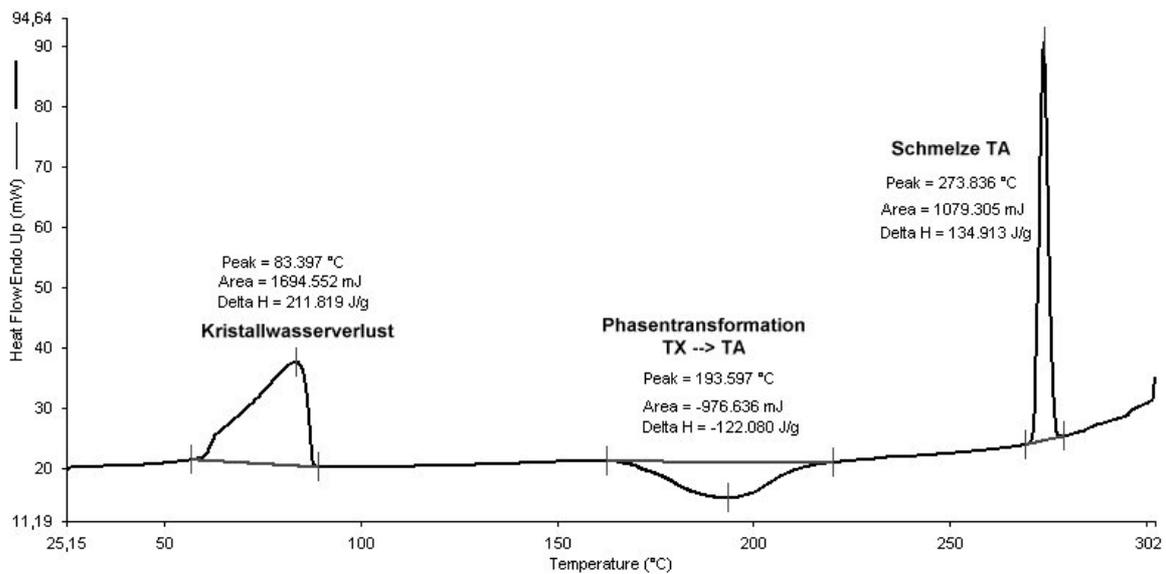


Abb. 4.3.10: DSC Thermogramm von TM: Kristallwasserverlust bei ca. 87 °C, Phasentransformation vom metastabilen (TX) zum stabilen Anhydrat (TA) bei 193 °C und Schmelze der stabilen, wasserfreien Form bei 274 °C

Das Röntgendiffraktogramm zeigt scharfe Beugungsreflexe mit vier Leitpeaks bei 8.8, 11.4, 13.3 und 14.6 °2θ. Aufgrund der größeren Partikel zeigt sich eine deutlichere Textur als bei TA, was sich auch in der erhöhten Streuung der relativen Intensität eines Peaks widerspiegelt (Tab. 4.3.4). Die geringste Variation zeigt dabei der Peak bei 8.8 °2θ, der auch für die quantitative Auswertung gewählt wurde. Ein Vergleich mit den relativen Intensitäten aus der PDF-2 Datenbank (Nr. 00-026-1893) zeigt, dass die experimentell ermittelten Werte für den 14.6 °2θ Reflex deutlich vom theoretischen Wert abweichen, was das Vorliegen einer Vorzugsorientierung (auch in der Kapillare) unterstreicht.

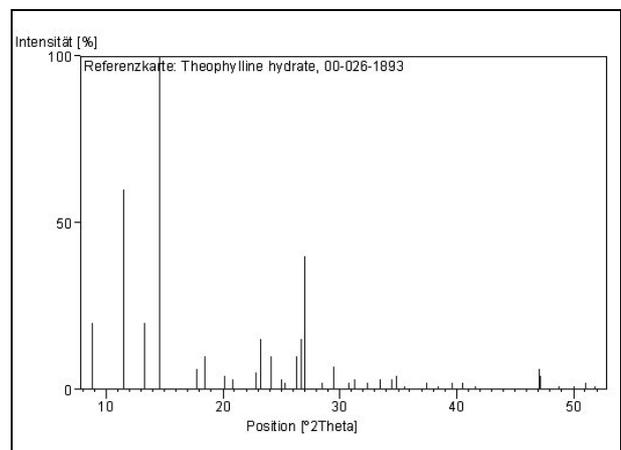
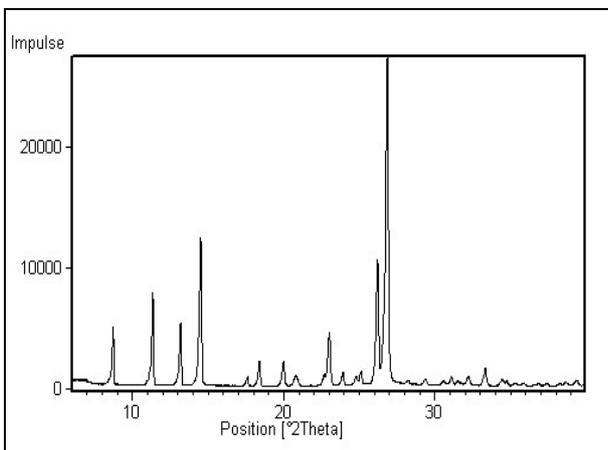


Abb. 4.3.11: Röntgendiffraktogramm von TM, Messung in der THC

Abb. 4.3.12: Strichmuster von TM (PDF-2 Daten)

Relative Intensität bei	Theorie (PDF-2)	Kapillare	THC	Sample spinner
8.8 °2θ (-110)	20 %	22.72 %	18.52 % (sd: 0.72 %)	30.14 % (sd: 1.96 %)
11.4 °2θ (020)	60 %	50.20 %	30.83 % (sd: 4.32 %)	41.59 % (sd: 5.66 %)
13.3 °2θ (120)	20 %	30.79 %	21.16 % (sd: 3 %)	28.75 % (sd: 2.15 %)
14.6 °2θ (210)	100 %	57.58 %	49.85 % (sd: 6.2 %)	66.15 % (sd: 3.58 %)

Tab. 4.3.4: Relative Intensitäten der Leitpeaks von TM in der Konfiguration des Capillary spinners, der THC und des Sample spinners verglichen mit der Theorie (PDF-2)

Die Primärpartikel von TM bestehen aus vielen kleinen Nadeln, die die Oberfläche der Teilchen unregelmäßig geschuppt aussehen lassen (Abb. 4.3.13 und 4.3.14).

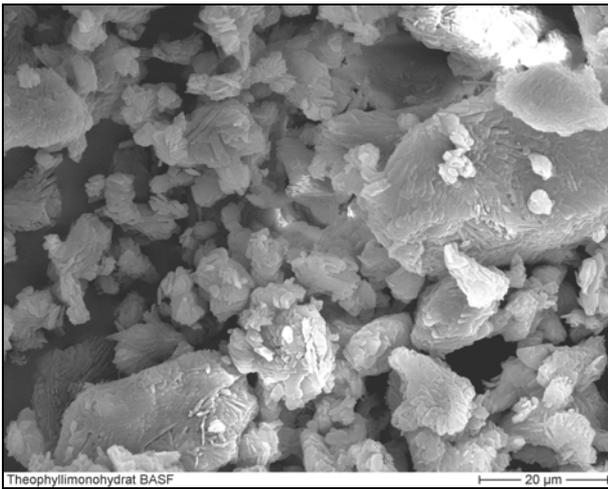


Abb. 4.3.13: REM Aufnahme von TM

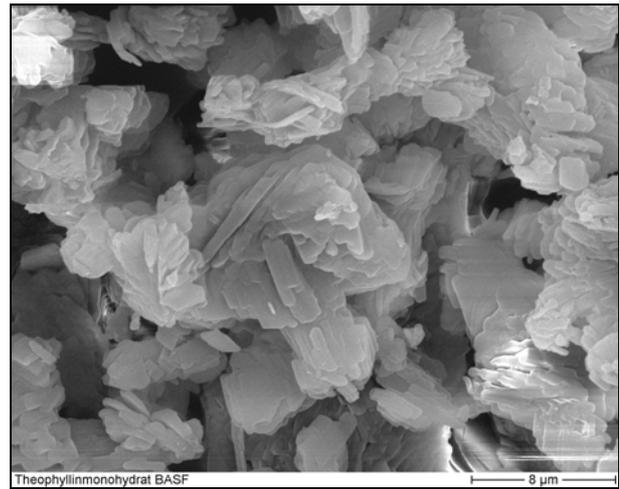


Abb. 4.3.14: REM Aufnahme von TM

4.3.4.3 Emcompressdihydrat ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$), DPCD

Bei dem verwendeten Calciumhydrogenphosphatdihydrat handelt es sich um die direkt verpressbare Form, die zwecks optimaler Fließeigenschaften eine entsprechend grobe Teilchengröße aufweist. Die Partikelgrößenverteilung ist relativ eng mit einem Maximum bei ca. 200 µm, weist aber einen zusätzlichen Feinanteil unterhalb von 10 µm auf, wodurch der x_{10} Wert nur 6.34 µm beträgt.

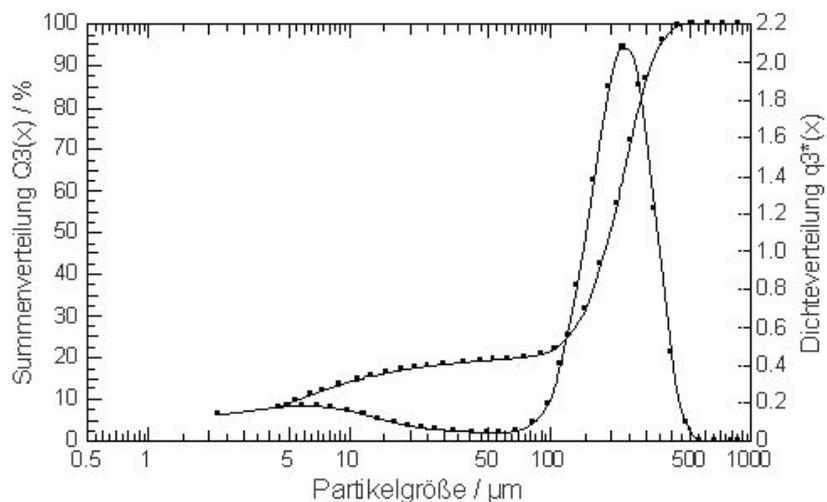


Abb. 4.3.15: Partikelgrößenverteilung von DPCD; x_{10} : 6.34 µm, x_{50} : 205.58 µm, x_{90} : 355.13 µm

Das TGA Thermogramm von DPCD (Abb. 4.3.16) zeigt, dass die Substanz in trockener Stickstoffatmosphäre ihr Hydratwasser in einem dreistufigen Prozess verliert und zwar bei ca. 135, 155 und 195 °C. Der festgestellte Massenverlust beträgt insgesamt 19.8 % und entspricht somit dem Verlust von 2 mol Kristallwasser (theoretischer Wert: 20.2 %). Laut Rabatin [100] ist die erste

Stufe dem Verlust von 0.5 mol Kristallwasser zuzuschreiben, das bei 155 °C verdampft. Die restlichen 1.5 mol entweichen bei 195 °C. Im DSC Thermogramm (Abb. 4.3.17) verschmelzen die Endotherme bei 135 und 155 °C miteinander und ergeben einen breiten Peak bei ca. 144 °C. Der endotherme Peak bei ca. 89 °C geht dagegen auf den Verlust von Sorptionswasser zurück [44].

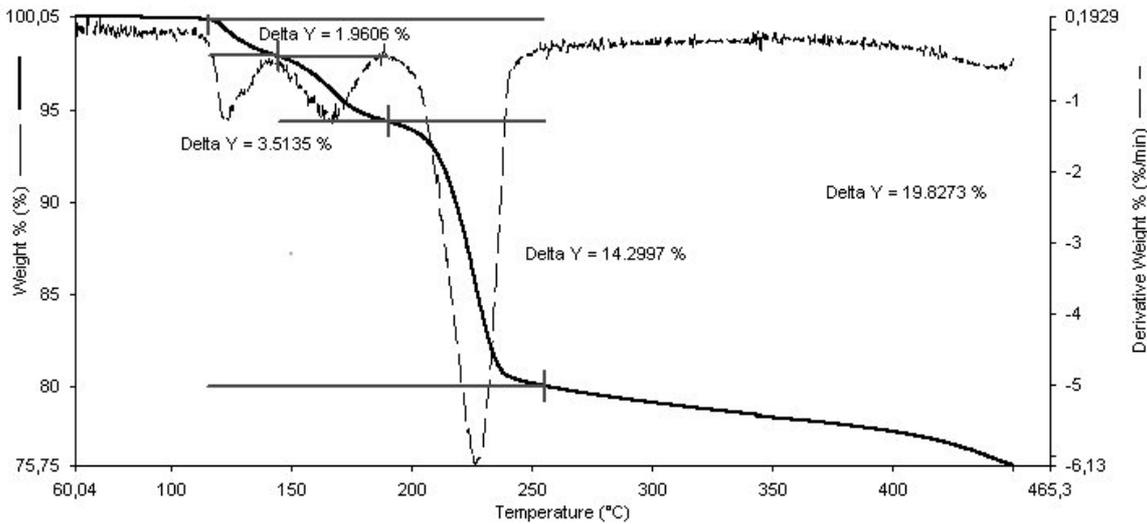


Abb. 4.3.16: TGA Thermogramm von DPCD: das Kristallwasser wird in trockener Atmosphäre in einem dreistufigen Prozess verloren

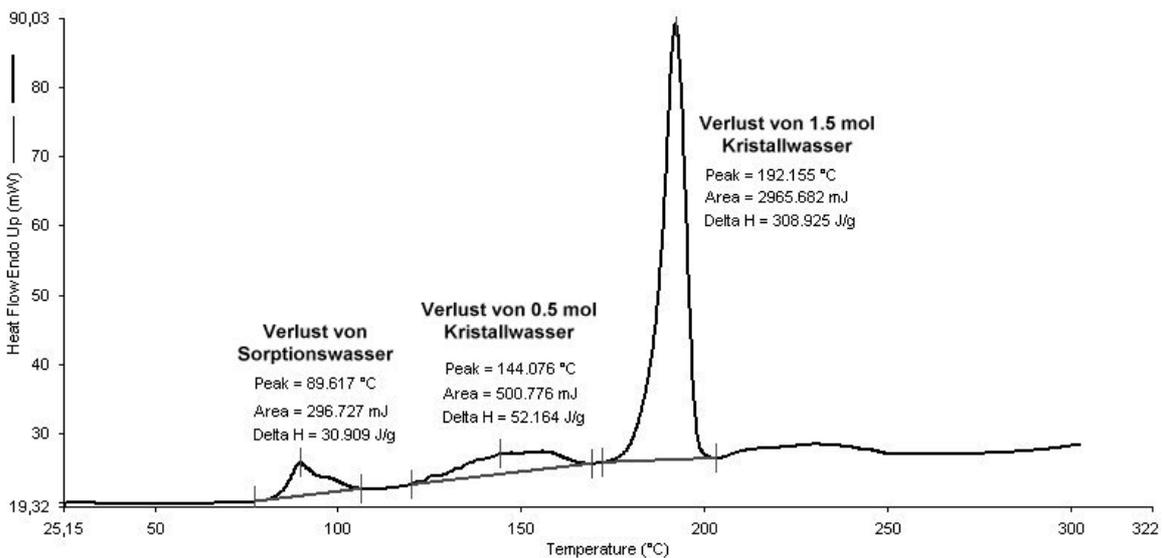


Abb. 4.3.17: DSC Thermogramm von DPCD: bei 89 °C Verlust von Sorptionswasser, danach in einem dreistufigen Prozess das Kristallwasser, wobei Stufe 1 und 2 zu einem breiten Peak bei 144 °C verschmelzen

Das Röntgendiffraktogramm von DPCD zeigt scharfe Peaks mit einem Leitpeak bei 11.7 °2θ (Abb. 4.3.18). Die relativen Reflexintensitäten unterscheiden sich besonders bei der THC stark von den theoretischen Werten, was auf Textur-, Mikroabsorptions- und Extinktionseffekte infolge der großen Partikel zurückzuführen ist.

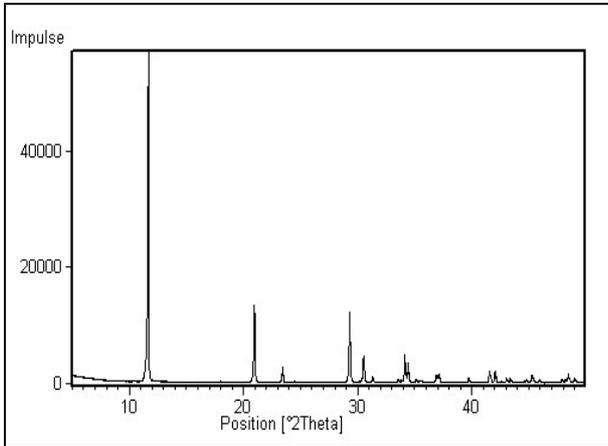


Abb. 4.3.18: Röntgendiffraktogramm von DPCD

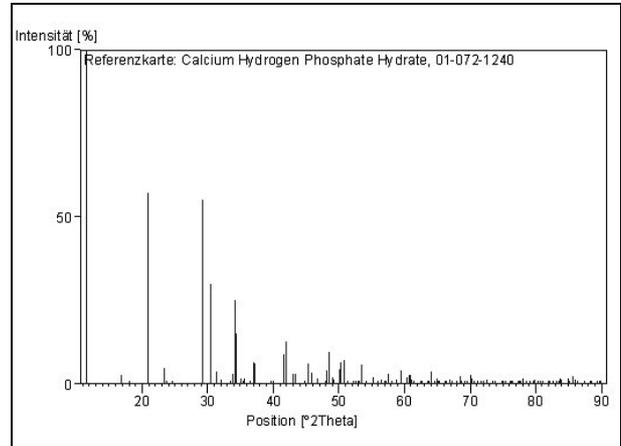


Abb. 4.3.19: Strichmuster von DPCD

Relative Intensität bei	Theorie (PDF-2)	THC	Sample spinner
11.65°2θ (020)	100 %	61.84 %	100 % (sd: 0 %)
20.95 °2θ (-121)	57.3 %	86.25 %	21.87 % (sd: 3.06 %)
34.44 °2θ (200)	15 %	-	4.68 % (sd: 0.99 %)

Tab. 4.3.5: Relative Intensitäten von Reflexen unterschiedlicher Netzebenen: deutliche Textur sichtbar; die sd fehlt bei der THC, da die Muster zur Inkompatibilitätsprüfung vorwiegend im Klimaschrank gelagert und über den sample spinner vermessen wurden (Langzeitstudien)

Die REM Aufnahme von DPCD zeigt kugelförmige Agglomerate kleinerer Bruchstücke.

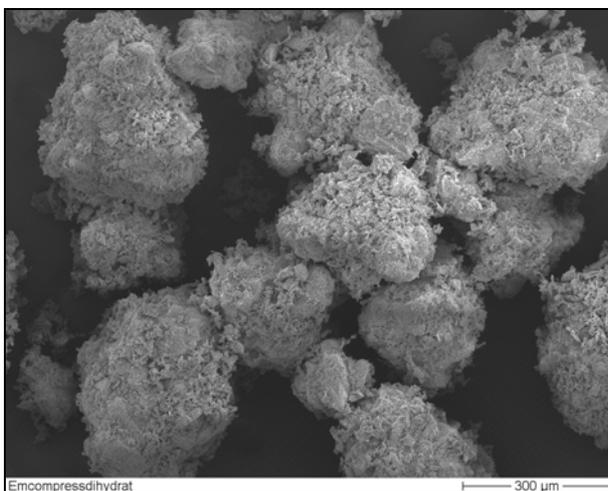


Abb. 4.3.20: REM Aufnahme DPCD

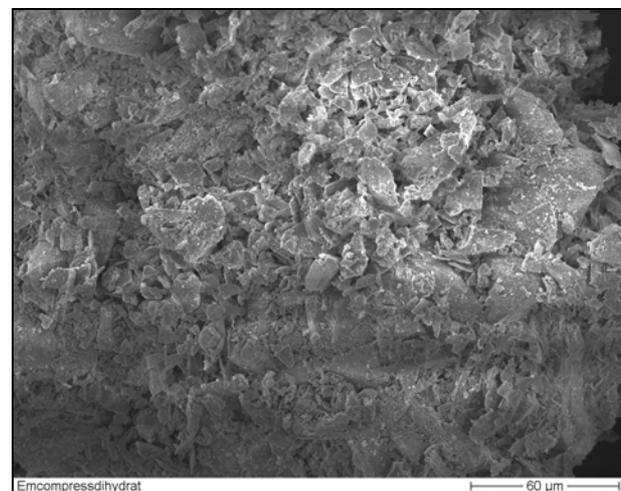


Abb. 4.3.21: REM Aufnahme DPCD

Der oben erwähnte Kristallwasserverlust von DPCD stellt einen hochkomplizierten, bei hohen Feuchten autokatalytisch verlaufenden Prozess dar, bei dem unterschiedliche Dehydratationsprodukte beobachtet werden, die entweder das gleiche Kristallgitter wie das Dihydrat oder eine vollständig neue atomare Anordnung zeigen.

Rabatin et al. [100] beobachteten das Entstehen einer amorphen Phase, was sich im Röntgendiffraktogramm nur durch eine leichte Peakverbreiterung im ursprünglichen Spektrum von DPCD zu erkennen gab. Außerdem wurde von dem Auftreten niederer Hydrate unbekannter Zusammensetzung, von Mischkristallen aus Di- und Anhydrat [46, 47] und von der vollständigen Dehydratation zum Anhydrat [45] berichtet.

Um das Dehydrationsverhalten von dem in dieser Arbeit verwendeten DPCD festzustellen, wurde die Substanz bei 100, 170 und 220 °C für jeweils 1 h im Trockenschrank gelagert und anschließend röntgenographisch untersucht (Abb. 4.3.22). Bereits bei 100 °C treten Peaks von DPCA auf, bei 170 °C stellt es den Hauptanteil neben einem Restgehalt von DPCD dar, und bei 220 °C ist kein DPCD mehr nachweisbar. Trotz Bildung der neuen kristallinen Phase (DPCA) geht mit der Abnahme an DPCD auch eine Reduktion der Peakintensität im gesamten Diffraktogramm einher, was für eine mögliche Amorphisierung des Materials spricht. Allerdings zeigt das Spektrum kommerziell gelieferten DPCAs die gleichen geringen Reflexintensitäten, was entweder daran liegt, dass das Anhydrat generell einen geringeren Ordnungsgrad aufweist oder aus einem ähnlichen Trocknungsprozess entstanden ist.

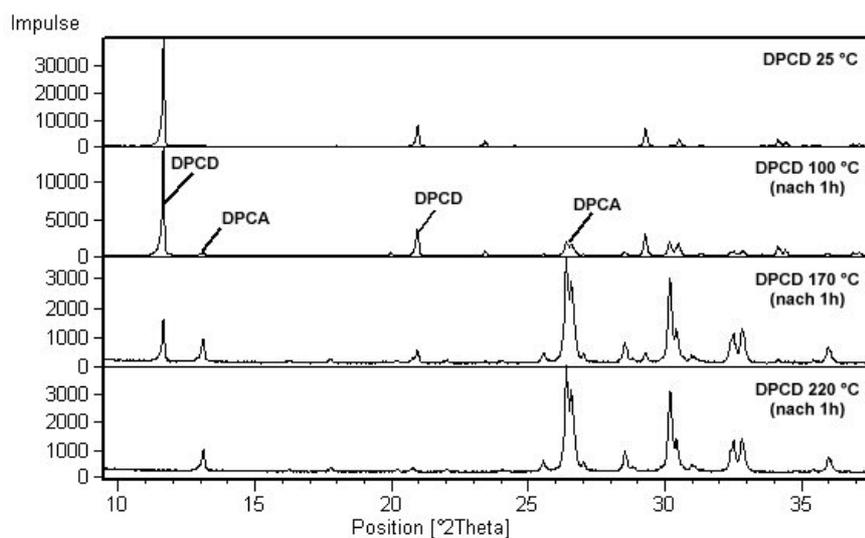


Abb. 4.3.22: Einlagerung von DPCD für je 1 h bei 100, 170 und 220 °C: mit steigender Temperatur dehydriert es zunehmend zu DPCA

4.3.4.4 Emcompressanhydrat (CaHPO_4), DPCA

DPCA liegt ebenfalls in grobkörniger zur Direkttablettierung geeigneter Form vor und weist eine enge Korngrößenverteilung mit einem Maximum bei ca. 200 μm auf, allerdings ohne den bei DPCD vorhandenen Feinanteil (Abb. 4.3.23).

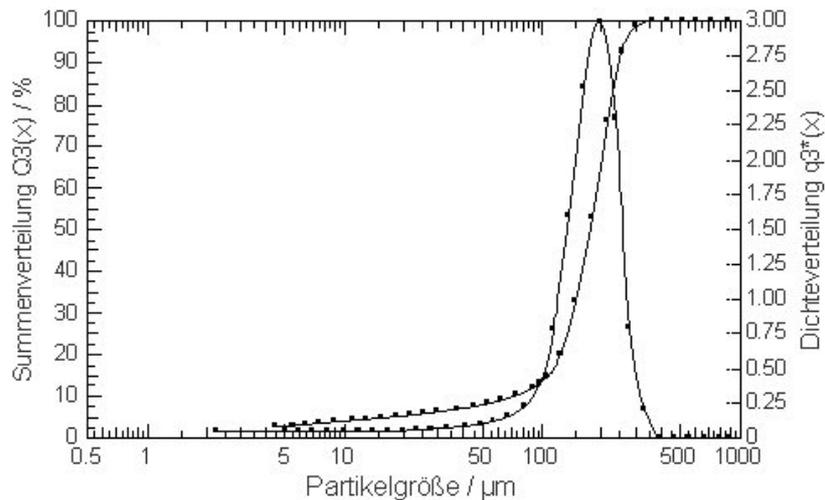


Abb. 4.3.23: Partikelgrößenverteilung von DPCA; x_{10} : 82.8 μm , x_{50} : 177.64 μm , x_{90} : 263.93 μm

Wie erwartet tritt bei DPCA kein Kristallwasserverlust auf, die Massenabnahme beträgt bis 200 $^{\circ}\text{C}$ nur 0.4 % und entspricht daher der Spezifikation [29].

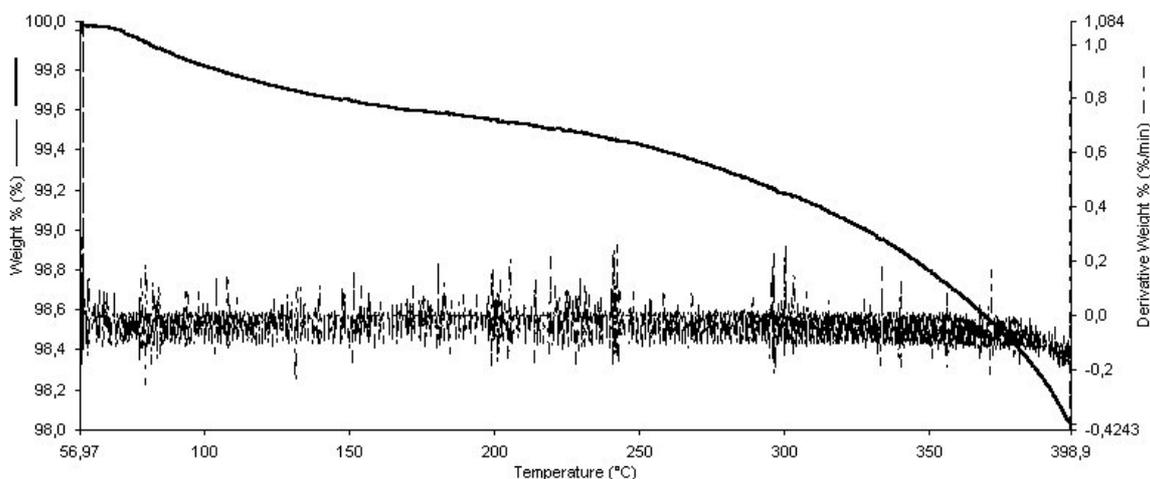


Abb. 4.3.24: TGA Thermogramm von DPCA

Bei der DSC (Abb. 4.3.25) zeigt sich auch bei wiederholter Messung ein exothermer Peak bei ca. 197 $^{\circ}\text{C}$, was möglicherweise auf die Umkristallisation eines Synthesenebenproduktes,

Calciumdihydrogenphosphat, zurückzuführen ist, das ab ca. 180 °C unter Wasserabgabe Calciummeta- und -diphosphat bildet [48].

Eine weitere Erklärung für den exotherme Vorgang wäre die Kristallisation eines amorphen Anteils. DPCA kann laut Carstensen [44] auf zwei Arten hergestellt werden, entweder durch Fällung ($\text{H}_3\text{PO}_4 + \text{Ca}(\text{OH})_2$) oder durch Dehydratation des Dihydrats bei höheren Temperaturen. Bei letzterem kann neben dem Anhydrat auch amorphes Material entstehen [100]. Da das Röntgendiffraktogramm (Abb. 4.3.26) im Vergleich zum DPCD tatsächlich relativ intensitätsarme Reflexe zeigt, wäre dies ein möglicher Erklärungsansatz.

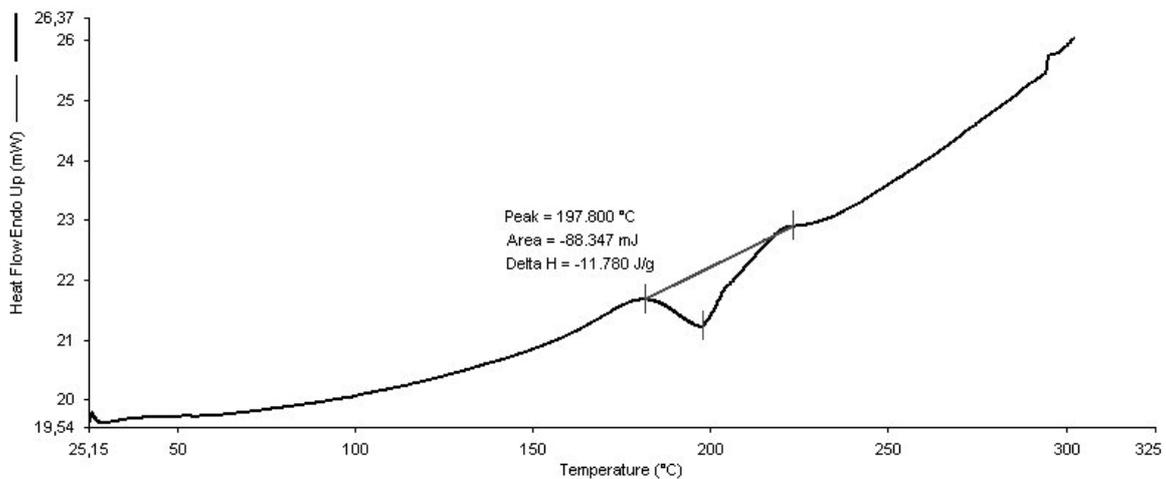


Abb. 4.3.25: DSC Thermogramm von DPCA

Das Röntgendiffraktogramm von DPCA zeigt im Vergleich zum Strichmuster der PDF-Datenbank eine deutliche Textur: einige kleinere Peaks sind gar nicht oder nur schwach zu sehen, andere sind in ihren relativen Intensitäten verändert. Allerdings ist die Vorzugsorientierung bei wiederholter Probenpräparation immer gleich ausgeprägt (kleine Standardabweichungen, Tab. 4.3.6).

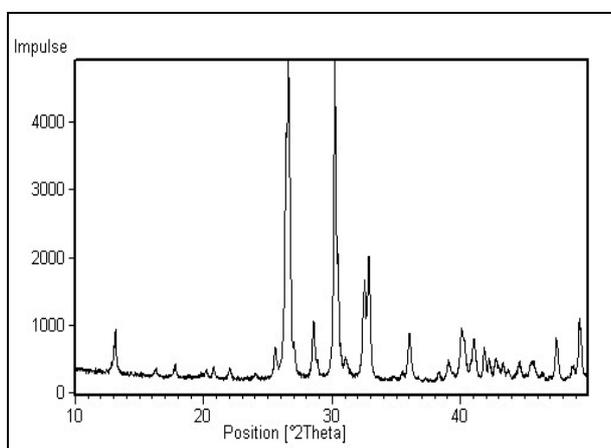


Abb. 4.3.26: Röntgendiffraktogramm von DPCA

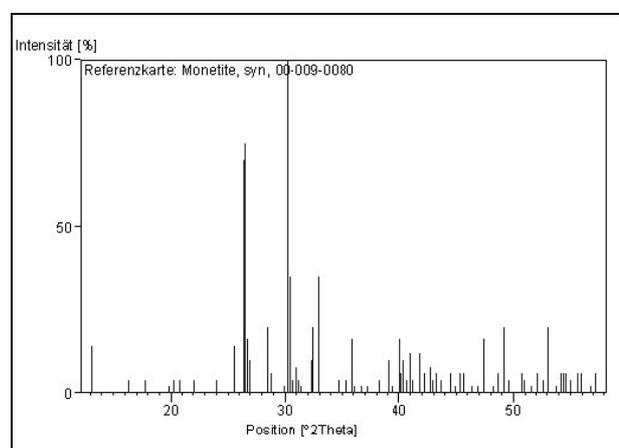


Abb. 4.3.27: Strichmuster von DPCA

Relative Intensität bei	Theorie (PDF-2)	THC	Sample spinner
13.1 °2θ (001)	20.7 %	4.56 %	13.3 % (sd: 0.61 %)
25.53 °2θ (111)	41.1 %	8.28 %	9.3 % (sd: 0.48 %)
27.05°2θ (020)	10 %	9.22 %	11.04 % (sd: 0.63 %)

Tab. 4.3.6: Relative Intensitäten von Reflexen unterschiedlicher Netzebenen: deutliche Textur sichtbar, v.a. bei der THC; die sd fehlt bei der THC, da die Muster zur Inkompatibilitätsprüfung vorwiegend im Klimaschrank gelagert und über den sample changer vermessen wurden (Langzeitstudien)

Das REM Bild zeigt im Vergleich zum Dihydrat auch annähernd kugelförmige Primärpartikel, die allerdings aus größeren Einzelteilchen aufgebaut sind. (Abb. 4.3.28 und 4.3.29)

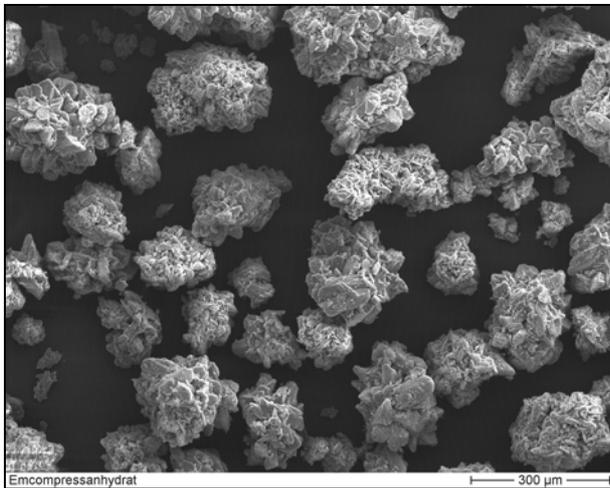


Abb. 4.3.28: REM Aufnahme von DPCA

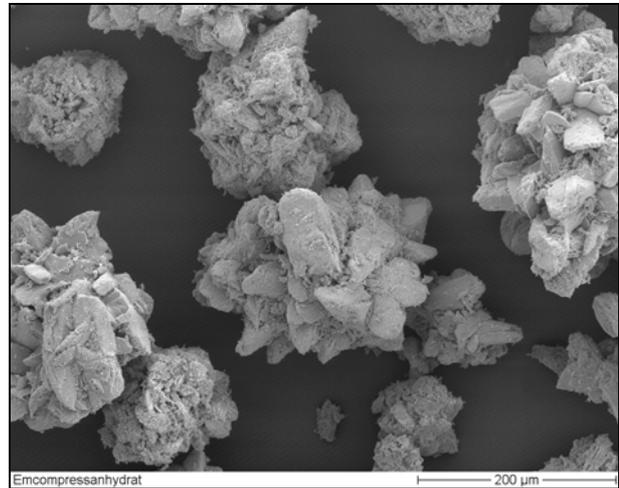


Abb. 4.3.29: REM Aufnahme von DPCA

4.3.5 Kalibrierungen

Um die temperatur- oder feuchteinduzierten Phasenumwandlungen von Theophyllin quantitativ erfassen zu können, werden mittels binärer Mischungen aus TM und TA Kalibrierkurven in einem Bereich von 0 – 100 % erstellt. Vermessen werden die Standardproben sowohl in der THC als auch in der üblichen Konfiguration des Probenwechslers, um auch eingelagerte Muster aus dem Klimaschrank auswerten zu können.

Proben, bei denen während der Phasentransformation von TM zu TA auch das metastabile Anhydrat, TX, auftritt, werden aufgrund der starken Reflexüberlappungen über die Peakhöhe charakteristischer Leitpeaks (Tab. 4.3.7) ausgewertet: der Gehalt an TA wird über die Reflexe an den Positionen 7.1 und 12.6 °2θ, der Gehalt von TM über die Peaks bei 8.7 und 13.2 °2θ bestimmt. TX wird anschließend über die Massenbilanzgleichung ($TM + TA + TX = 1$) berechnet. Daher sind zwei Kalibrierkurven, eine für TA und eine für TM, vonnöten (Abb. 4.3.30 – 4.3.33). Eine eigenständige Kalibrierung des TX Gehaltes ist nicht möglich, da TX nicht rein gewinnbar ist.

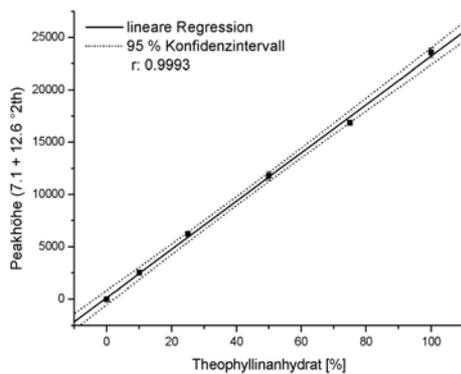


Abb. 4.3.30: Kalibrierkurve von TA über die Peakhöhen (7.1 und 12.6 °2θ), THC

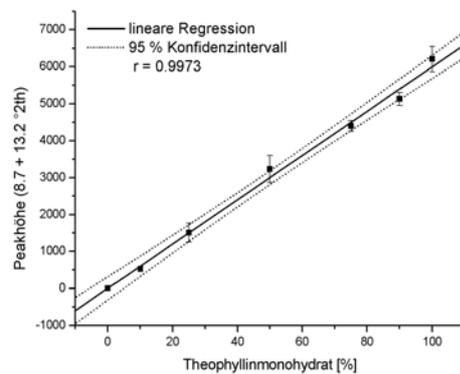


Abb. 4.3.31: Kalibrierkurve von TM über die Peakhöhen (8.7 und 13.2 °2θ), THC

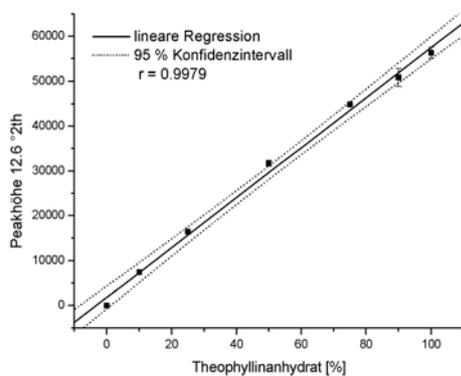


Abb. 4.3.32: Kalibrierkurve von TA über die Peakhöhe (12.6 °2θ), Sample changer

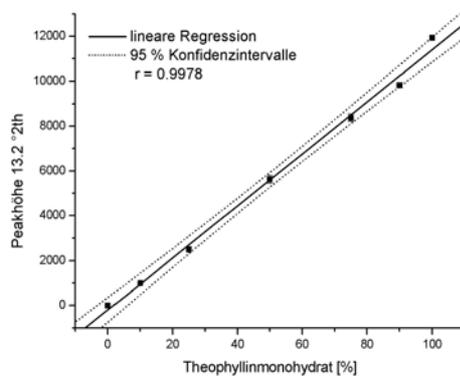


Abb. 4.3.33: Kalibrierkurve von TM über die Peakhöhe (13.2 °2θ), Sample changer

Nur bei sehr guter Auflösung der Peaks oder beim Fehlen von TX kann über die Peakfläche ausgewertet werden, was prinzipiell einer Evaluation über die Peakhöhe vorzuziehen ist, aber aufgrund oben erwähnter Überlappungen selten funktioniert (Abbildungen, s. Anhang).

Leitpeaks TA [°2θ]	7.1					12.6			14.4		
Leitpeaks TM [°2θ]		8.7			11.4			13.2		14.5	
Leitpeaks TX [°2θ]			9.3	11.1		12.3			13.5		15.2

Tab. 4.3.7: Leitpeaks von TA, TM und TX in der Reihenfolge ihrer Lage im Diffraktogramm

Eine weitere Alternative stellt die Auswertung über das Autoflushing (Kap. 2.3.2.6) dar, bei dem Störeffekte infolge unterschiedlicher Massenabsorptionskoeffizienten der Mischungskomponenten wegfallen. Voraussetzung dafür ist jedoch, dass zu jedem Zeitpunkt ein Zweiphasengemisch aus TM und TA vorliegt, was bei einigen Umwandlungen der Fall ist. Dazu muss zunächst die Kalibrationskonstante k_1/k_2 ermittelt werden, die sich aus der Steigung der Geraden ergibt, wenn das Intensitätsverhältnis eines jeweilig freistehenden TM und TA Reflexes gegen das Mengenverhältnis von TM und TA aufgetragen wird. Über die Gleichung

$$x_1 = \frac{1}{1 + \frac{k_1}{k_2} \cdot \frac{I_2}{I_1}}$$

lässt sich dann der Mengenanteil von TM berechnen, aus dem sich der von TA über die Massenbilanzgleichung ($x_1 + x_2 = 1$) ergibt. Die Regressionsgeraden zur Ermittlung von k_1/k_2 sind in Abb. 4.3.34 und 4.3.35 dargestellt. Für die Konstante ergibt sich ein Wert von 0.1123 für die THC und von 0.1224 für den Sample Changer.

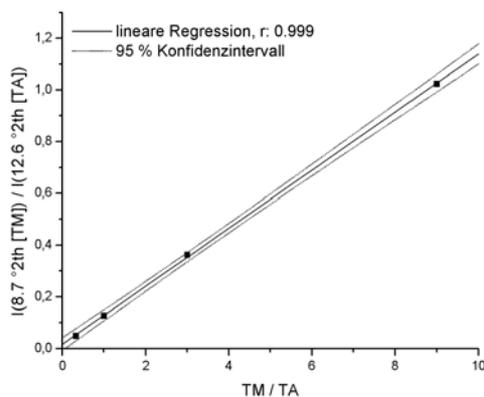


Abb. 4.3.34: Bestimmung der Konstanten des Autoflushings (THC):
 $y = 0.1123x + 0.016$

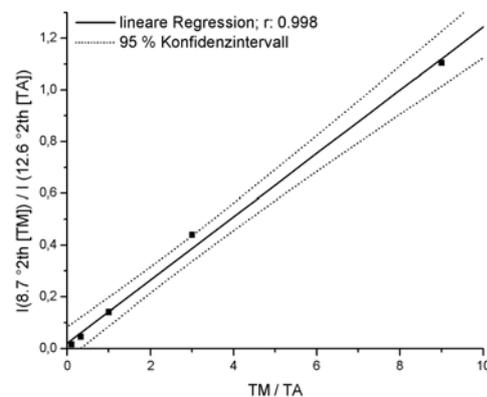


Abb. 4.3.35: Bestimmung der Konstanten des Autoflushings (Sample Changer):
 $y = 0.1224x + 0.023$

4.3.6 Untersuchungen an Theophyllinmonohydrat

4.3.6.1 Phasentransformation in Abhängigkeit von der Temperatur

Theophyllinmonohydrat (TM) verliert bei erhöhter Umgebungstemperatur sein Kristallwasser, wobei metastabiles oder stabiles, wasserfreies Theophyllin entsteht.

Mit Hilfe eines Temperaturscans (25 – 120 °C, 10 °C Schritte) in der THC des Röntgendiffraktometers wurde zunächst die Initialtemperatur bestimmt, bei der die Dehydratation beginnt. Sie liegt zwischen 40 und 50 °C. In welchem Ausmaß dabei die metastabile Form des Anhydrats entsteht, hängt von der Temperaturhaltezeit ab: wird die geforderte Temperatur nur während der Aufnahme des Diffraktogramms gehalten und danach direkt auf die nächste Einstellung geändert, entstehen deutliche Mengen an metastabilem Anhydrat verglichen mit längeren Wartezeiten, bei denen der Substanz Zeit gegeben wird, sich in die stabile Form des Anhydrats umzulagern (Abb. 4.3.36 und 4.3.37).

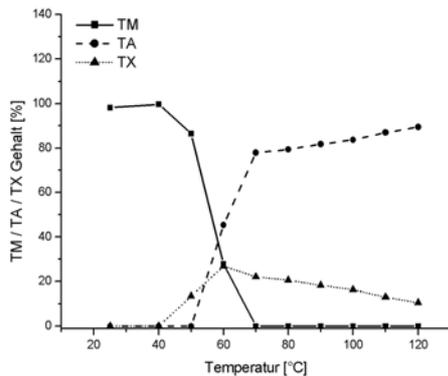


Abb. 4.3.36: Ergebnis der Phasentransformation bei erhöhter Temperatur; ohne zusätzliche Wartezeit

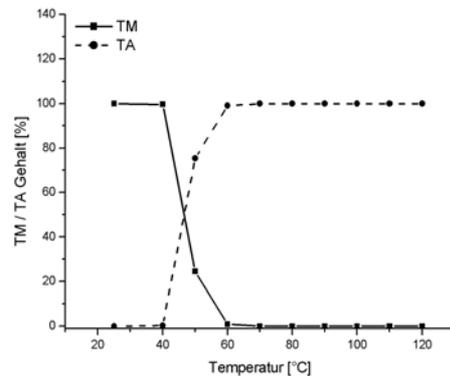


Abb. 4.3.37: Ergebnis der Phasentransformation bei erhöhter Temperatur; 15 min Temperaturhaltezeit

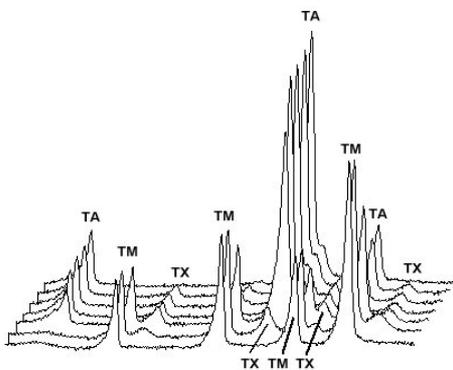


Abb. 4.3.38: XRD Aufnahmen zu Abb. 4.3.36

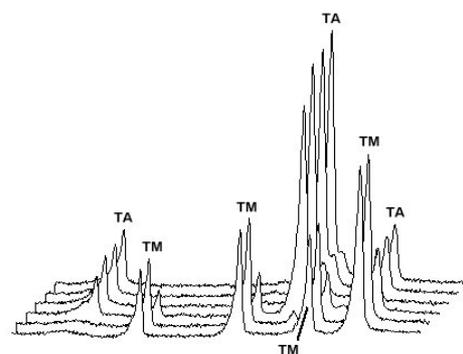


Abb. 4.3.39: XRD Aufnahmen zu Abb. 4.3.37

An dem Kurvenverlauf in Abb. 4.3.36 ist erkennbar, dass sich - nach erfolgter Phasentransformation von TM in stabiles und metastabiles TA - die metastabile Form bei steigender Temperatur linear in die stabile Form umwandelt.

Um die Kinetik der Phasentransformation $TM \rightarrow TA$ zu erfassen, wird die Umwandlung unter isothermen Bedingungen verfolgt und die Restmenge von TM gegen die Zeit aufgetragen. Die Auswertung der Daten zeigt einen sigmoidalen Kurvenverlauf (Abb. 4.3.40 und 4.3.41), der einer Kinetik nach Avrami Erofeev 4. Ordnung folgt, was bedeutet, dass die Dehydratation mehrdimensional von zufälligen Startzentren ausgehend verläuft [33].

$$[-\ln(1-x)]^{0.25} = kt$$

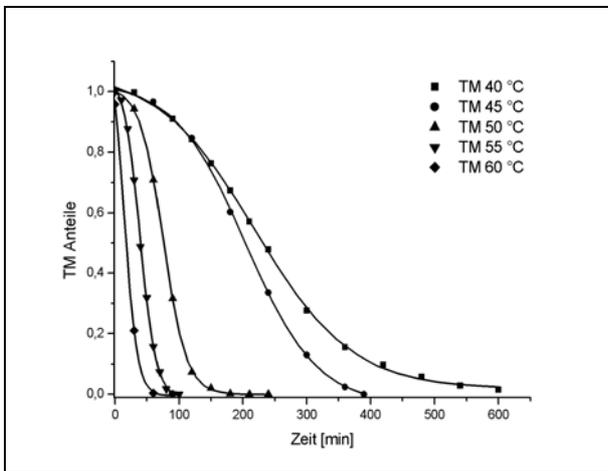


Abb. 4.3.40: Anteilmäßige Abnahme von TM in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit

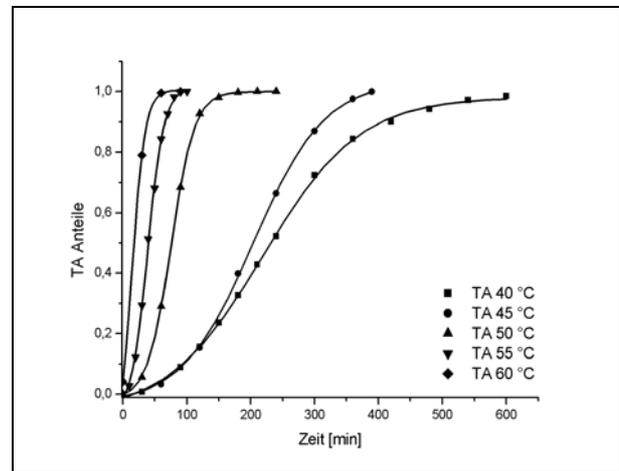


Abb. 4.3.41: Zu TM komplementäre Zunahme von TA in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit

Beobachtet man diese Umwandlung bei mehreren Temperaturen (40, 45, 50, 55, 60 °C) und konstanter relativer Feuchte (60 % rF) und linearisiert sie nach Avrami Erofeev ($n = 1/4$) (Abb. 4.3.42), so ergeben sich die Geschwindigkeitskonstanten k der Reaktion aus der Steigung der Geraden (Tab. 4.3.8). Über die logarithmierte Arrhenius Gleichung lässt sich ein linearer Zusammenhang zwischen der Temperatur und der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten darstellen (Abb. 4.3.43).

$$k = A \cdot e^{\frac{-E_A}{RT}} \quad \ln k = \ln A - \frac{E_A}{RT}$$

Über die Steigung erhält man nach Herausrechnen der allgemeinen Gaskonstante die Aktivierungsenergie E_A , über den y-Achsenabschnitt den sog. Stoßfaktor A der Reaktion, d.h. die

Geschwindigkeitskonstante k bei $T \rightarrow \infty$. Die Ergebnisse für TM sind in Tab. 4.3.8 zusammengestellt. Die Aktivierungsenergie beträgt 94,93 kJ/mol und der Stoßfaktor 1.61×10^{13} min und entspricht damit – im Gegensatz zu den XRPD Ergebnissen von Shefter et al. [97] - den Ergebnissen der thermischen Methoden. (Lit.: $E_A = 73.2 - 120$ kJ/mol, bei ausschließlicher Berücksichtigung von Kinetiken nach Avrami Erofeev 4. Ordnung [95]: $E_A = 75.7 - 95.4$; Stoßfaktor [94]: $1.47 \times 10^{12} - 7.66 \times 10^{13}$ min).

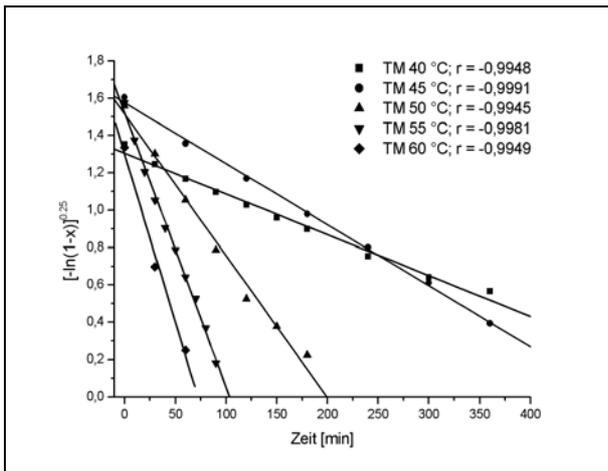


Abb.4.3.42 : Linearisierung der TM Dehydratation durch Avrami Erofeev 4. Ordnung bei 40, 45, 50, 55, 60 °C

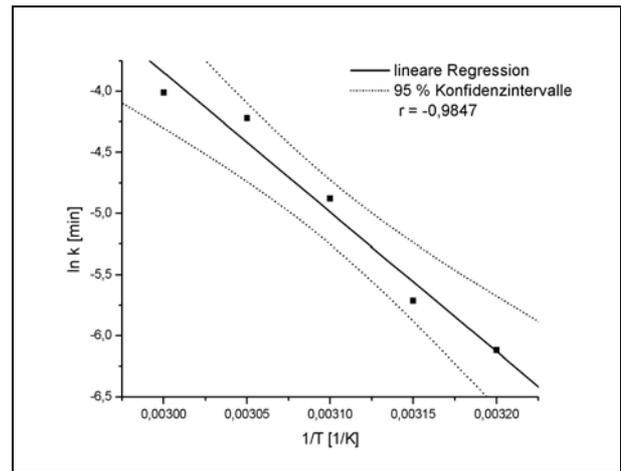


Abb. 4.3.43: Arrhenius Diagramm der Dehydratation von TM

Plot	Geradengleichung
40 °C	$y = -0.0022x + 1.3052$
45 °C	$y = -0.0033x + 1.5763$
50 °C	$y = -0.0076x + 1.5159$
55 °C	$y = -0.0147x + 1.5246$
60 °C	$y = -0.0181x + 1.3033$
Arrhenius	$\ln k = -11417.67 1/T + 30.41$

Tab. 4.3.8: Geradengleichungen der Linearisierung durch Avrami Erofeev 4. Ordnung und vom Arrhenius Diagramm. Die Steigung bei Plot „40 – 60 °C“ entspricht den Geschwindigkeitskonstanten, die Steigung bei Arrhenius dem Quotienten aus E_A/R , der y-Achsenabschnitt dem logarithmierten Stoßfaktor $\ln A$

4.3.6.2 Phasentransformation in Abhängigkeit von der relativen Feuchte

Die Dehydratation von TM kann außer durch erhöhte Temperatur auch durch geringe relative Luftfeuchte induziert werden.

Um einen Überblick zu gewinnen, unter welchen Bedingungen der Hydratwasserverlust einsetzt und welche Form des Anhydrats sich dabei bildet, wird TM zunächst einem Feuchtegradienten ausgesetzt. Beginnend bei einer relativen Feuchte von 90 % wird diese schrittweise alle zwei Stunden um jeweils 10 % reduziert, bis der Endwert von 10% rF erreicht ist. Die Einstellung der Feuchte geschieht in einem an das Röntgendiffraktometer angeschlossenen Feuchtegenerator, der über eine Taupunktmessung an einem Metallspiegel einen trockenen und wasserdampfgesättigten Gasstrom so kombiniert, dass die gewünschte Feuchte erreicht wird. Dieser optimal feuchtigkeitsbeladene Gasstrom wird dann kontinuierlich über die in der abgeschlossenen Kammer der THC befindliche Probe geleitet.

Aus Abb. 4.3.44 geht hervor, dass die Dehydratation bei einer relativen Luftfeuchte von 30 % unter Bildung der metastabilen, wasserfreien Form beginnt und bei noch geringerer Feuchte deutlich fortschreitet. Dabei bildet sich hauptsächlich die metastabile Form, das stabile Anhydrat ist nur ansatzweise bei 10 % rF erkennbar. Der Ordnungsgrad des metastabilen Anhydrats ist durch den Kollaps des Hydratgerüsts relativ gering (viele Gitterfehlstellen), was an der Breite der TX-Peaks zu erkennen ist (Abb. 4.3.45).

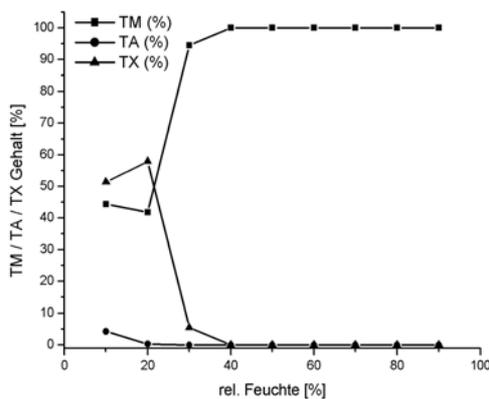


Abb. 4.3.44: Feuchtegradient 90 → 10 % rF von TM: ab 30 % rF beginnt die Dehydratisierung unter Bildung von TX und geringfügig TA

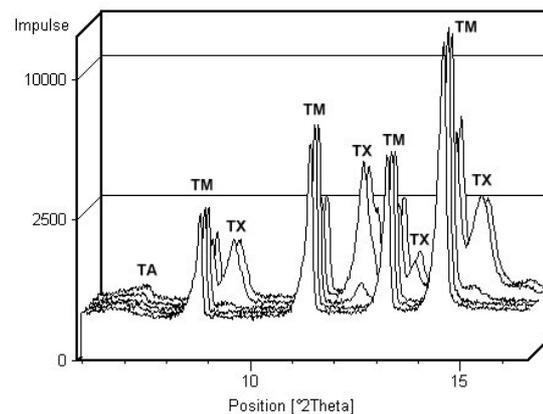


Abb. 4.3.45: Röntgendiffraktogramme von der TM Umwandlung im Feuchtegradienten (die rF nimmt von vorne nach hinten ab)

Um den Einfluß einer konstanten, länger anhaltenden relativen Feuchte auf die entstehenden Dehydratationsprodukte abzuschätzen, wird das Monohydrat 10 %, 30 % und 50 % relativer

In geringer Umgebungsfeuchte ($\leq 30\%$ rF) verläuft die Dehydratation von TM beinahe linear und ist nach ca. 80 min abgeschlossen. Demgegenüber folgt sie bei einer relativen Feuchte von 50% wieder einer Kinetik nach Avrami Erofeev (sigmoidaler Kurvenverlauf), und die Zeit bis zur vollständigen Dehydratation beträgt ungefähr 3 h. Dieses Verhalten wäre eine Erklärung für den Unterschied zwischen den Ergebnissen der Kinetikstudie von Shefter et al [97] und dieser Arbeit (Kap. 4.3.6.1). Während in dieser Arbeit bei der isothermen Dehydratation von TM eine konstant hohe Feuchte von 60 % rF eingehalten wurde, fand die Untersuchung von Shefter et al möglicherweise bei Umgebungsfeuchten $< 30\%$ rF statt, bei denen die Dehydratation von TM eher einer Reaktion nullter Ordnung folgt.

Auch Art und Menge der gebildeten Dehydratationsprodukte, TA und TX, hängen von der relativen Feuchte ab: je geringer sie ist, desto mehr TX wird anteilmäßig gebildet. Bei 10% rF entsteht initial bis zu 57 %, bei 30 % rF bis zu 40 % und bei 50 % rF nur noch 0.5 % TX bei leicht zeitverzögerter Bildung von TA. Diese Zeitverzögerung deutet darauf hin, dass die Dehydratationsreaktion bei geringer Feuchte kinetisch kontrolliert zugunsten der metastabilen Form abläuft. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass sich die Gitterstrukturen von TM und TX ähneln, so dass sich TX bei der Dehydratation von TM schneller und einfacher bildet als TA. TA entsteht dann durch Umlagerung von TX. Bei höherer Feuchte (50 %) ändert sich die kinetische zu einer thermodynamischen Kontrolle der Reaktion, da nun bevorzugt das stabile Anhydrat entsteht. Dies kann auf den insgesamt langsameren Ablauf des gesamten Dehydratationsprozesses zurückgeführt werden (geringerer Feuchtegradient zwischen Kristallinnerem und Umgebung), der die ebenfalls langsamere Bildung des thermodynamisch stabileren Anhydratgerüsts ermöglicht.

Ist TM vollständig zu TX und TA dehydriert, so wandelt sich das gebildete TX in der Folgezeit langsam in die thermodynamisch stabilere Form (TA) um. Der lineare Abfall der TX bzw. der lineare Anstieg der TA Kurve (Abb. 4.3.46 und 4.3.48) deuten auf einen Mechanismus nullter Ordnung hin.

4.3.6.3 Phasentransformation in Abhängigkeit von Temperatur und Feuchte

Die obigen Ergebnisse beruhen auf Feuchtemessungen bei 40 °C, d.h auf Stressbedingungen. Im Folgenden soll der Einfluß von 10 %, 30 % und 50% iger Feuchte bei Raumtemperatur, d.h. 25 °C, auf Dehydratationsgeschwindigkeit und –produkte von TM untersucht werden. Um neben dem Feuchte- auch den Temperatureffekt deutlich zu machen, sind in den Abbildungen 4.3.52 bis 4.3.57 sowohl die Ergebnisse der Messungen bei 25 °C als auch die bei 40 °C dargestellt. Die unterschiedliche Skalierung auf der Zeitachse (x-Achse) der Ergebnisse bei 25 °C und bei 40 °C ist zu beachten.

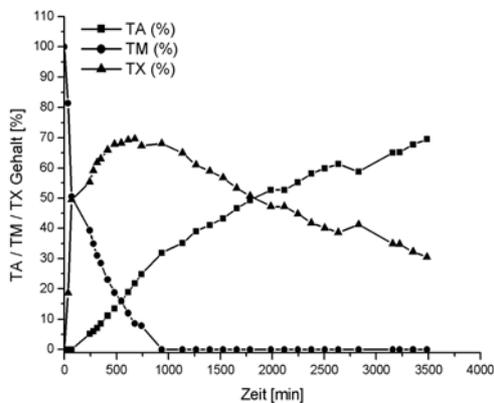


Abb. 4.3.52: Dehydratation von TM bei 25 °C/ 10 % rF zu TX und TA

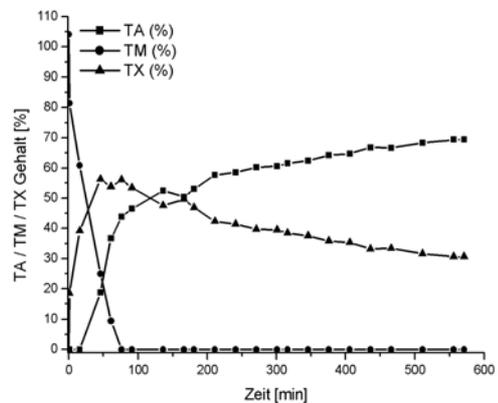


Abb. 4.3.53: Dehydratation von TM bei 40 °C und 10 % rF zu TX und TA

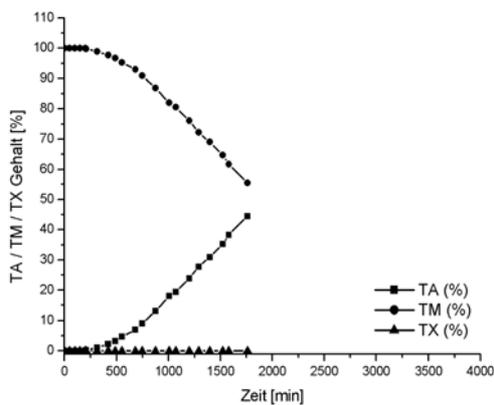


Abb. 4.3.54: Dehydratation von TM bei 25 °C/ 30 % rF zu TA

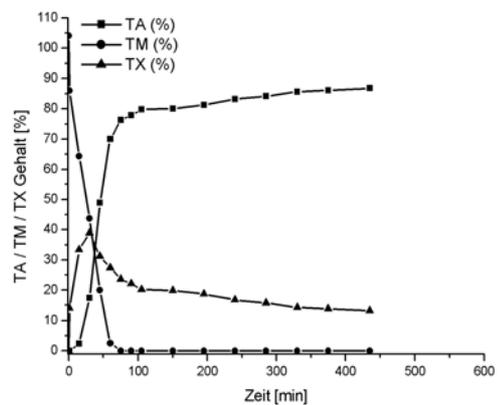


Abb. 4.3.55: Dehydratation von TM bei 40 °C/ 30 % rF zu TX und TA

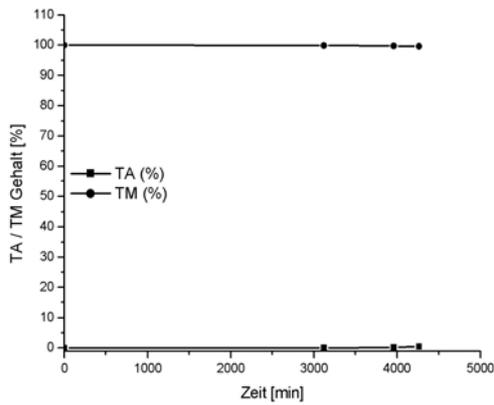


Abb. 4.3.56: Beginnende Dehydratation von TM bei 25 °C/ 50 % rF zu TA

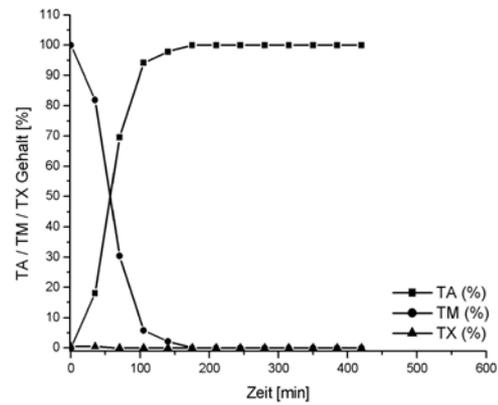


Abb. 4.3.57: Dehydratation von TM bei 40 °C/ 50 % rF zu TA

Die Dehydratationsgeschwindigkeit ist bei 25 °C merklich herabgesetzt: bei 10 % rF dauert es 15,5 h bis der Kristallwasserverlust abgeschlossen ist (vgl. 40 °C: 80 min), bei 30 % rF ist erst nach 25 h die Hälfte von TM dehydratisiert, während sich bei 50 % rF die Dehydratation erst nach 3 Tagen andeutet.

Abgesehen von der Reaktionsgeschwindigkeit unterscheidet sich der Reaktionsverlauf bei 25 °C in zwei Dingen von dem bei 40 °C. TX tritt erst bei Feuchten \ll 30 % rF auf, dann aber in größeren Mengen und – wie bei 40 °C – deutlich schneller als TA (kinetische Kontrolle). Bereits 30 min nach dem Versuchsbeginn bei 25 °C und 10 % rF lässt sich TX zu 18 % in der Probe nachweisen und erreicht im Folgenden einen Anteil von 70 %. Dieser Anteil wird bis zum Zeitpunkt der vollständigen Dehydratation von TM unter Bildung von TA beibehalten. TA entsteht durch die Umlagerung von TM, d.h. die Reaktionsfolge ist $TM \rightarrow TX \rightarrow TA$. Nach Beendigung der Dehydratation wird kein TX aus TM mehr nachgebildet, so dass dieses linear unter weiterer TA-Bildung abnimmt (Reaktion nullter Ordnung, s. Kap. 4.3.6.2).

Bei 25 °C und 30 % rF überwiegt im Gegensatz zu 40 °C / 30 % rF die thermodynamische Kontrolle der Reaktion, so dass ausschließlich TA aus TM gebildet wird, und bei 25 °C/ 50 % rF ist die Reaktion so stark verlangsamt, dass erst nach 3 Tagen 0,5 % TA nachweisbar sind. Da 25 °C/ 50 % rF aber den üblichen klimatischen Bedingungen entspricht, ergibt sich aus dem Ergebnis die Konsequenz, dass TM zur Stabilisierung möglichst feucht gelagert werden sollte (mindestens 60% rF, s. Ergebnisse Klimaschrank), um einen zumindest teilweisen Kristallwasserverlust zu verhindern.

Um die Reversibilität der Dehydratation von TM zu überprüfen, wurde die unter 25 °C/ 10 % rF dehydratisierte Probe einer relativen Feuchte von 90 % ausgesetzt. Die Hydratation der

wasserfreien Formen erfolgt rasch und zu 97 % quantitativ zu TM (Abb. 4.3.58), so dass der Hydratwasserverlust an sich reversibel ist. Eine 100%-ige Rückbildung bedarf jedoch noch längerer Zeit. Da die erneute Bindung der Wassermoleküle aufgrund der erhöhten Anzahl an Gitterfehlstellen schwächer ist als bei ursprünglichem TM [39], dürfte die Empfindlichkeit der Substanz gegenüber Feuchteschwankungen steigen und die Dehydrationswahrscheinlichkeit erhöhen.

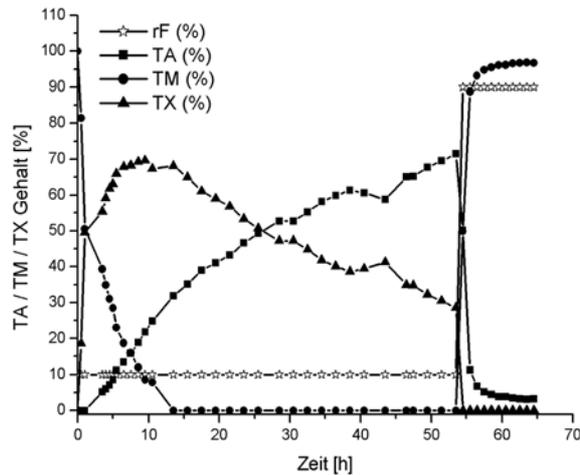


Abb. 4.3.58: Dehydratation von TM bei 25 °C/ 10 % rF und anschließende Rehydratation bei 90 % rF; der Kristallwasserverlust ist rasch zu ca. 97 % reversibel; die Rückbildung der gesamten 100 % bedarf deutlich länger

Die Dehydratation von TM zu TA ist auch morphologisch erkennbar: im rasterelektronenmikroskopischen Bild hat sich die schuppige, aus winzigen Nadeln zusammengesetzte Oberfläche in eine glattere, geschichtete Plättchenstruktur umgewandelt (Abb. 4.3.59 und 4.3.60)

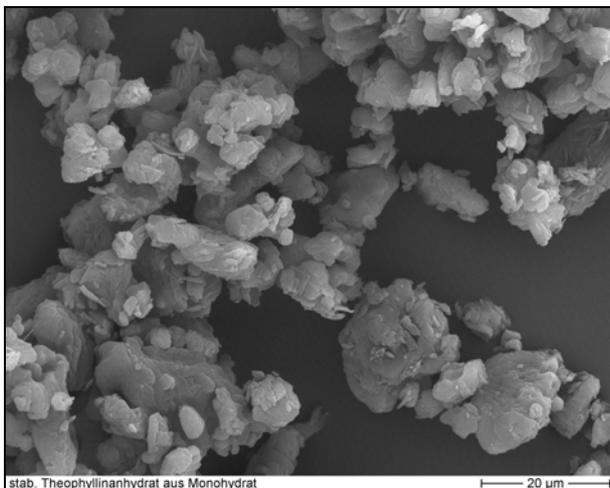


Abb. 4.3.59: REM Aufnahmen von dehydratisiertem TM

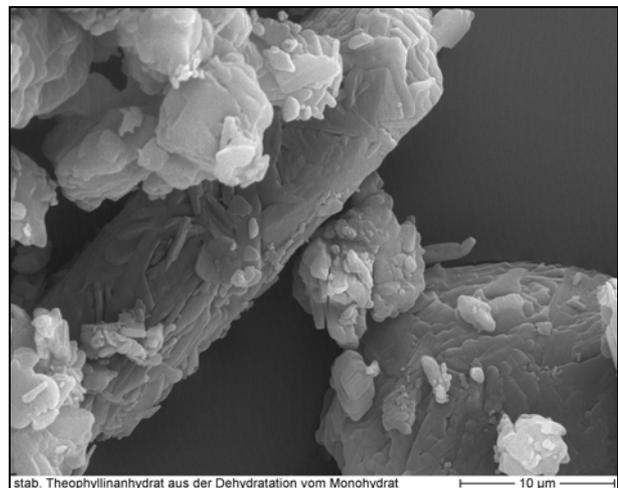


Abb. 4.3.60: REM Aufnahme von dehydratisiertem TM

4.3.6.4 Phasentransformation im Klimaschrank

Als Ergänzung und Vergleich zu den röntgenographischen Untersuchungen in der THC wurde TM entweder im Exsikkator über Silikagel (2 % rF) bzw. über gesättigter NaBr Lösung (60 % rF) bei Raumtemperatur oder im Klimaschrank unter Stressbedingungen (40 °C/ 75 % rF) eingelagert. Die Ergebnisse sind in Abb. 4.3.61 bis 4.3.63 dargestellt.

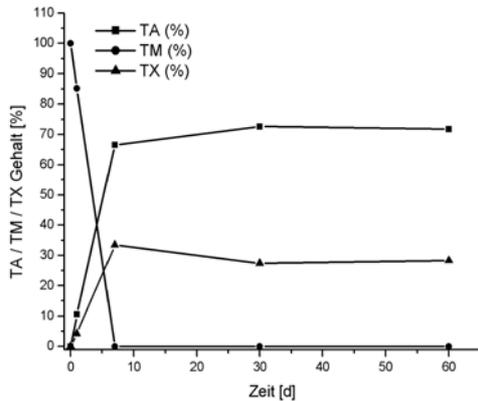


Abb. 4.3.61: Ergebnisse der Dehydratation von TM im Klimaschrank, 25 °C, 2 % rF

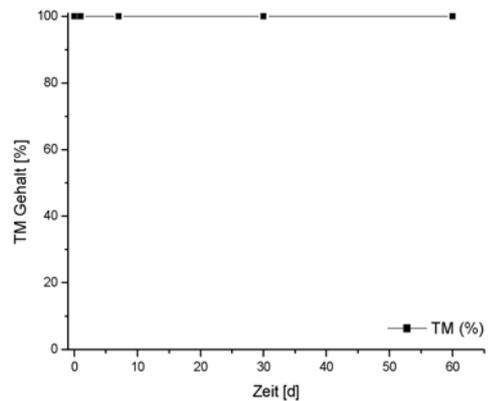


Abb. 4.3.62: Ergebnisse der Dehydratation von TM im Klimaschrank, 25 °C 60 % rF

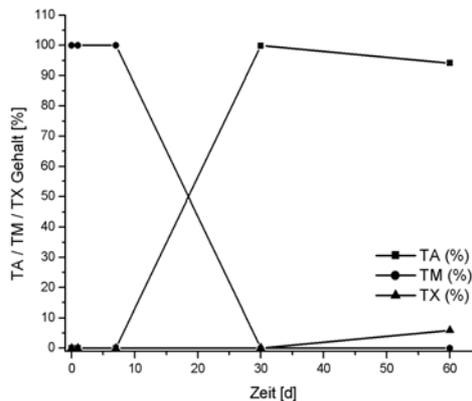


Abb. 4.3.63: Ergebnisse der Dehydratation von TM im Klimaschrank 40 °C, 75 % rF

Erwartungsgemäß dehydratisiert TM über Silikagel unter Bildung von TX und TA, was jedoch verglichen mit der Dehydratation bei 10 % rF in der THC erstaunlich lang dauert. Nach einem Tag sind noch 85.19 % TM vorhanden, während in der THC die Umwandlung trotz höherer relativer Feuchte bereits nach 15 h abgeschlossen ist. Dies hängt u.a. mit der eingelagerten

Substanzmenge sowie mit der Art der Einlagerung zusammen. Während die Schichtdicke der Substanz im Probenträger der THC nur 0.8 mm beträgt, beträgt sie im Einlagerungsgefäß 1 bis 2 cm. Da die Dehydratation an der Oberfläche der Substanzsäule beginnt, bei einer Probenentnahme aber auch tiefere Schichten miterfasst werden, wird dementsprechend noch unverändertes TM detektiert. Zum anderen wird bei der THC der feuchtigkeitsbeladene Gasstrom kontinuierlich über die Probe geleitet, freigesetztes Hydratwasser also direkt abgeleitet, während im Exsikkator als abgeschlossenem System die Luft steht. Insgesamt werden also in der THC Phasentransformationen beschleunigt. Außerdem ist die Regelmäßigkeit der Messung in der THC ein klarer Vorteil gegenüber der klassischen Einlagerung: durch die geringere Sequenz bei der Vermessung von Proben wird der tatsächliche Verlauf der Dehydratation, d.h. die anfängliche Bildung größerer Mengen TX, aus denen sich dann TA bildet, nicht erkannt. Lediglich die langsame Umwandlung von TX in TA nach vollständigem Hydratwasserverlust zeichnet sich bei 2 % Umgebungsfeuchte ab. Umgekehrt verhält es sich bei langsam stattfindenden Phasentransformationen, die zu zeitaufwendig sind, um in der THC erfasst zu werden. Als Beispiel dient die Einlagerung bei 40 °C und 75 % rF. Nach ca. einem Monat hat TM sein gesamtes Kristallwasser verloren. Die Kinetik dieses Verlustes wird aufgrund der oben erwähnten geringen Kontrollsequenz nicht erfasst. Das gebildete TA weist nach 60 d Stressbedingungen geringe Anteile von TX auf. Eine Einlagerung unter üblichen klimatischen Bedingungen, d.h. 25 °C und 60 % rF, löst keine Dehydratation von TM aus.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die THC zur Erfassung einer Phasentransformation in ihrem tatsächlichen Ablauf und zur Ermittlung von Reaktionskinetiken den Untersuchungen im Klimaschrank weit überlegen ist. Umwandlungen können aufgrund der Messbedingungen (geringe Schichtdicke, kontinuierliche Exposition zum feuchtigkeitsbeladenen Gasstrom) insgesamt schneller induziert werden als bei einer klassischen Einlagerung, was allerdings auch bedeutet, dass der Zeitablauf einer Reaktion nur eingeschränkt auf die Realität übertragbar ist. Nicht einsetzbar ist die THC bei Umwandlungen, die sehr langsam stattfinden und sich über Monate oder Jahre erstrecken.

4.3.7 Untersuchungen an stabilem Theophyllinanhydrat

4.3.7.1 Hydratation von TA

In der folgenden Versuchsreihe wird die Hydratationskinetik von pulverförmigem TA bei 25 °C und 95 %iger relativer Feuchte untersucht und nach erfolgter Phasentransformation auf die Reversibilität des Vorgangs durch die Änderung der Umgebungsfeuchte auf 10 % geprüft. Zur Bestimmung der Kinetik wird der Bereich 2 % bis 98 % TA herangezogen. Die Ergebnisse sind in Abb. 4.3.64 und 4.3.65 dargestellt.

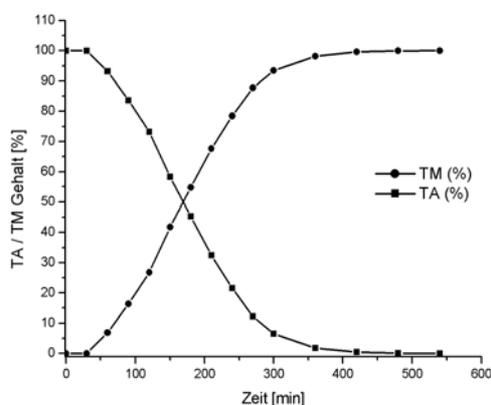


Abb. 4.3.64: Hydratation von stabilem TA bei 25 °C und 95 % rF

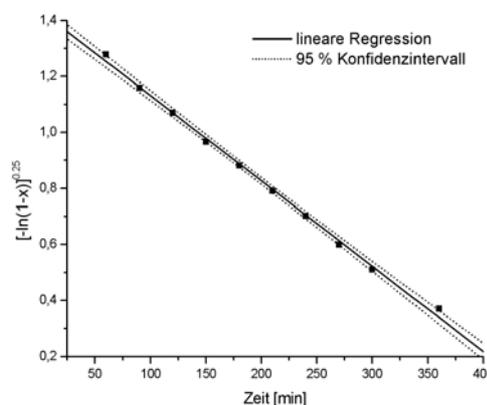


Abb. 4.3.65: Linearisierung der Hydratationsdaten von TA durch den Mechanismus nach Avrami Erofeev 4. Ordnung

Die Hydratation von TA folgt einer Kinetik nach Avrami Erofeev 4. Ordnung, wobei die metastabile Form des Anhydrats zu keinem Zeitpunkt auftritt. Der Vorgang ist insgesamt schlecht reversibel (Abb. 4.3.66), da das gebildete Hydrat bei einer Umgebungsfeuchte von 10 % zwar schlagartig das aufgenommene Kristallwasser verliert, dies jedoch unter fast 96 %-iger Bildung von TX geschieht. Analog zur Dehydratation von nativem TM überwiegt auch hier die kinetische Kontrolle der Reaktion, in der sich zunächst TX aus TM bildet und sich dann linear zu TA umlagert (Reaktion nullter Ordnung). Die deutlich höhere Menge an TX, die bei der Dehydratation des frisch gebildeten TM im Vergleich zum ursprünglichen entsteht, hängt damit zusammen, dass sich das neu geordnete Kristallgitter mit den noch locker gebundenen Wassermolekülen energetisch noch nicht genügend stabilisiert hat. Bei der sich anschließenden Dehydratation wird das Wasser daher viel schneller abgegeben, und das Gitter kollabiert zur geometrisch ähnlich aufgebauten,

metastabilen Zwischenstufe. Die hohe Fehlordnung im Gitter zeigt sich in der Breite der neu entstandenen Reflexe im Röntgendiffraktogramm (Abb. 4.3.67).

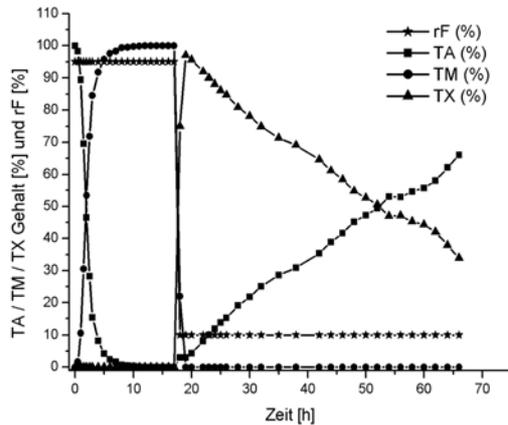


Abb. 4.3.66: Hydratation von TA bei 25 °C und 95 % rF und anschließende Dehydratation bei 10 % rF

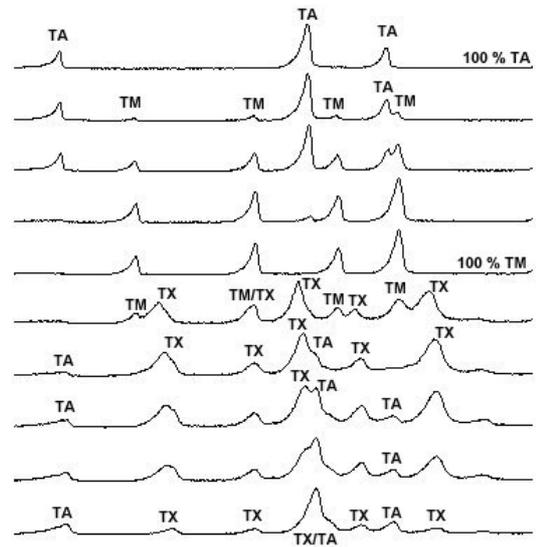


Abb. 4.3.67: Röntgenographische Darstellung der Hydratation von TA bei 95% rF und anschließende Dehydratation

Die schwächer ausgeprägte Bindung der Wassermoleküle im frisch gebildeten TM zeigt sich auch in TGA und DSC: die endotherm verlaufende Wasserabgabe erfolgt 6 °C früher als bei nativem TM, und die Wasserabgabe findet vor allem im ersten Schritt statt (1. Schritt: 6.86 %; 2. Schritt: 1.81 % vgl. mit 3.6 % im 1. und 5.11 % im 2. Schritt bei nativem TM, Abb. 4.3.68 und 4.3.69).

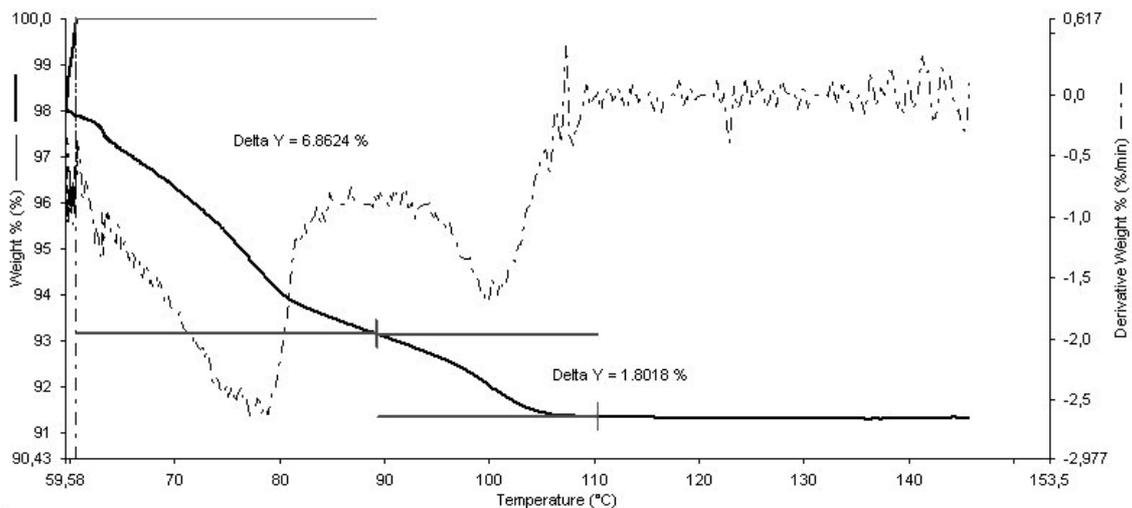


Abb. 4.3.68: TGA Thermogramm von frisch hydratisiertem TA, d.h. frischem TM: das Kristallwasser wird hauptsächlich im ersten Schritt ab 60 °C verloren

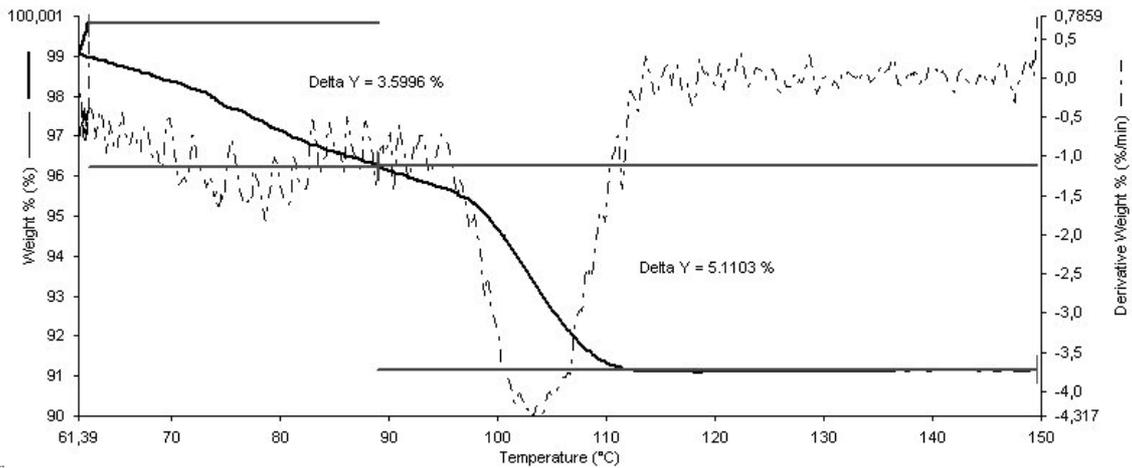


Abb. 4.3.67: TGA Thermogramm von nativem TM: das Kristallwasser wird hauptsächlich im zweiten Schritt ab ca. 90 °C verloren

Die Bildung von TM aus TA äußert sich auch im Aussehen der Theophyllinpartikel: die glatte Oberfläche der ursprünglichen TA Partikel ist verschwunden und entspricht der geschuppt, mit feinen Nadeln besetzten Oberfläche von TM (Abb. 4.3.70 und 4.3.71).

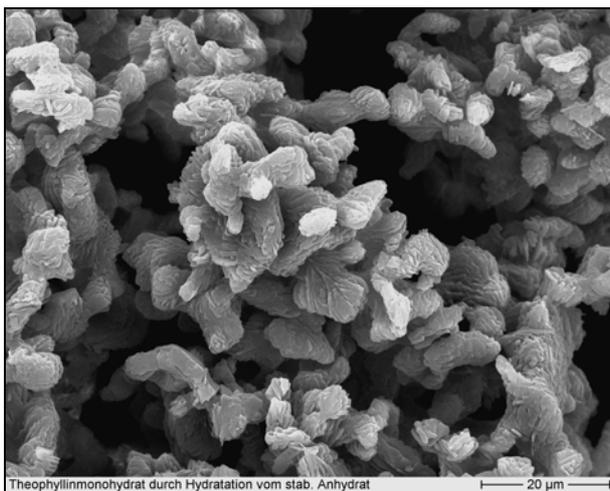


Abb. 4.3.70: Frisch hydratisiertes TA; REM Aufnahme

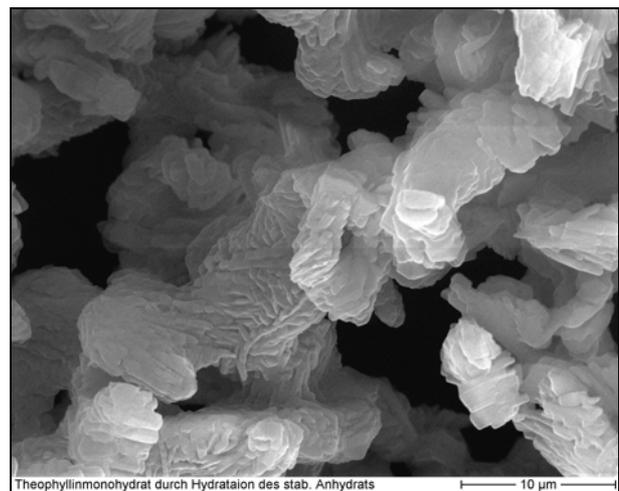


Abb. 4.3.71: Frisch hydratisiertes TA, REM Aufnahme

4.3.7.2 Reproduzierbarkeit der Messungen

Durch dreimalige Wiederholung der Hydratation von TA bei 95 %iger Feuchte soll die Reproduzierbarkeit einer Messung zu unterschiedlichen Zeiten in der THC abgeschätzt werden. Dazu wurde die erste Wiederholungsmessung eine Woche (6.2.04) und die zweite einen Monat (2.3.04) nach der Ausgangsmessung (29.1.04) durchgeführt und die Ergebnisse hinsichtlich ihrer Konformität in Zeit, Kinetik und Reaktionsgeschwindigkeit verglichen. Abb. 4.3.72 und 4.3.73 zeigen, dass die Resultate der Ausgangs- und ersten Wiederholungsmessung eine Woche später gut

übereinstimmen: der zeitliche Rahmen der Umwandlung ist ungefähr der gleiche, die Kinetik folgt dem Mechanismus nach Avrami Erofeev 4. Ordnung, und die Geschwindigkeitskonstanten der Transformation sind mit -0.0033 und -0.0031 sehr ähnlich. Anders verhält es sich mit der Messung einen Monat später: auch hier liegt eine Kinetik nach Avrami Erofeev ($n = 4$) vor, die Umwandlung selbst beginnt aber mit einer Verzögerung von etwa 2 h und ist in ihrem Ablauf insgesamt verlangsamt (Geschwindigkeitskonstante: -0.0027)

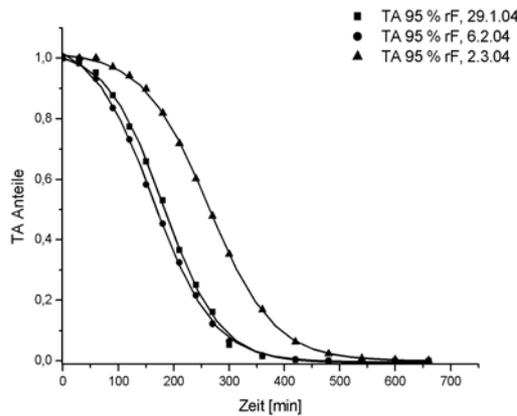


Abb. 4.3.72: Hydratation von TA bei drei unterschiedlichen Messzeitpunkten: 29.1., 6.2. und 2.3.04

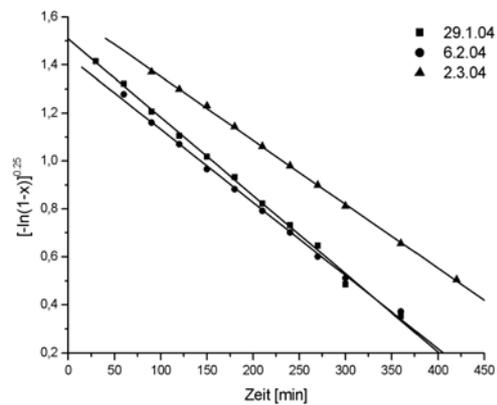


Abb. 4.3.73: Linearisierung der Hydratation von TA nach Avrami Erofeev 4. Ordnung bei drei unterschiedlichen Messzeitpunkten

Zeitpunkt der Messung	Korrelationskoeff.	Geradengleichung
29.01.04	-0,9986	$y = -0.0033 x + 1.509$
06.02.04	-0.9986	$y = -0.0031 x + 1.436$
02.03.04	-0.9998	$y = -0.0027 x + 1.619$
gesamt	--	$y = -0.003 (\pm 0.00031) x + 1.521 (\pm 0.092)$

Tab. 4.3.9: Ergebnisse der Linearisierung nach Avrami Erofeev 4. Ordnung

Die für eine Reaktion in der THC ermittelten Geschwindigkeitskonstanten können daher je nach Messzeitpunkt und den damit verbundenen Schwankungen in der Probenpräparation (Packungsdichte im Träger) oder im Feuchtegenerator stark variieren, was den Methodenfehler deutlich verschlechtert (RSD: 10.18 %). Da allerdings die zeitlichen Abläufe bei Phasentransformationen in der THC nur mit Vorsicht auf die Realität zu übertragen sind (Kap. 4.3.6.4), spielt dieser Fehler eine untergeordnete Rolle. Der Haupteinsatz der THC in der frühzeitigen, qualitativen Erkennung von Substanzveränderungen unter bestimmten klimatischen Bedingungen und die Erfassung der Umwandlungskinetik wird dadurch nicht beeinträchtigt.

4.3.8 Inkompatibilitätsstudien

Wie in den obigen Untersuchungen gezeigt werden konnte, kann TA durch hohe Umgebungsfeuchten hydratisiert und TM durch erhöhte Temperatur oder geringe relative Feuchte dehydratisiert werden. Abgesehen von den äußeren Klimaeinflüssen kann eine De- bzw. Hydratation auch durch die Kristallwasseraufnahme oder –abgabe einer anderen Substanz, z.B. eines Tablettenhilfsstoffs, erfolgen. Bekannt für ein solches Verhalten ist Calciumhydrogenphosphat, dessen Dihydrat unter Einwirkung erhöhter Temperatur und Feuchte sein Hydratwasser verliert [29, 45, 100], während die wasserfreie Form auch unter hoher Feuchte stabil bleibt. Es wurden insgesamt drei 1:1 Mischungen gefertigt: die Mischung aus TA und Emcompressdihydrat (DPCD) wurde bei 2 %, 60 %, 75 % und 90 % rF und 25 °C sowie bei 75 % und 90 % rF und 40 °C gelagert, die Mischungen aus TM mit Emcompressanhydrat bzw. Fujicalin (beides DPCA) bei 25 °C / 2 % rF, 25 °C / 60 % rF und 40°C / 75 % rF. Parallel zu den Mischungen wurden auch die jeweiligen Reinsubstanzen unter denselben Bedingungen eingelagert.

4.3.8.1 *Theophyllinanhydrat + DPCD*

25°C / 2 % rF; 25 °C 60 % rF

Bei Raumtemperatur und 2 bzw. 60 % rF werden weder die Mischung noch die Reinsubstanzen in ihrem Hydratisierungszustand verändert, d.h. TA wird über den Beobachtungszeitraum von 8 Wochen nicht hydratisiert und DPCD nicht dehydratisiert (Abb. s. Anhang). Diese Beobachtungen entsprechen den Literaturangaben, in denen eine durch geringe Umgebungsfeuchte (2 % rF) ausgelöste Dehydratisierung von DPCD nicht erwähnt wird. Eine Hydratwasserwanderung findet unter diesen Bedingungen dementsprechend nicht statt.

25 °C / 75 % rF

Anders verhält es sich bei Raumtemperatur und 75 % rF. Während DPCD immer noch keine Anzeichen von Kristallwasserverlust aufweist, wird TA unter diesen Bedingungen hydratisiert. Nach 4 Wochen Einlagerung zeigt sowohl das Röntgendiffraktogramm der Mischung als auch der Reinsubstanz neben den typischen TA Reflexen bei 7.1, 12.6 und 14.35 °2 θ die charakteristischen Leitpeaks von TM. Da sich das Röntgenspektrum von DPCD jedoch nicht verändert, d.h. weder die Peaks des Anhydrats noch eine Peakverbreiterung durch Amorphisierung [100] auftreten, ist die partielle Hydratation nicht auf eine Wanderung des Hydratwassers von DPCD zu TA

zurückzuführen, sondern lediglich auf die höhere Umgebungsfeuchte. Allerdings scheint die Hydratation von TA in der Mischung mit DPCD schneller vonstatten zu gehen als in reinem TA: während in der Mischung bereits nach 12 Wochen reines TM vorliegt, ist die Umwandlung bei der reinen Substanz nach 18 Wochen immer noch nicht ganz abgeschlossen (Abb. s. Anhang). Dies spräche für einen möglicherweise katalytischen Effekt des DPCD.

Bei beiden Proben tritt während der Hydratation nach ca. 9 Wochen die metastabile Zwischenstufe TX auf (Abb. 4.3.74), in der Mischung nach Verschwinden der stabilen Form, im Reinstoff neben TM und TA. Dies unterstreicht den dynamischen Prozess der Umwandlung: TM wird teilweise zu TX (und TA) dehydratisiert, während TA zu TM hydratisiert wird. Da der letzte Vorgang den ersten in Geschwindigkeit und Ausmaß übertrifft, kommt es insgesamt gesehen zur Hydratation von TA.

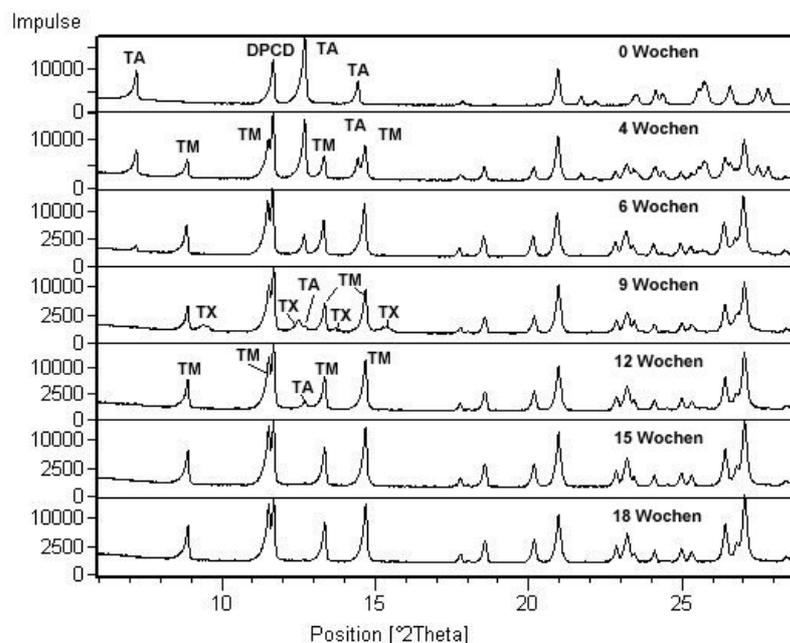


Abb. 4.3.74: Diffraktogrammausschnitte der 1:1 Mischung von TA und DPCD bei 0, 4, 6, 9, 12, 15 und 18 wöchiger Lagerung bei 25 °C und 75 % rF

25 °C / 90 % rF

Die Einlagerung von TA, DPCD und TA + DPCD zeigt unter diesen Bedingungen ein ähnliches Verhalten wie unter 25 °C und 75 % rF, mit dem Unterschied, dass die Hydratation zu TM schneller verläuft und sowohl in der Mischung als auch in reinem TA nach einem Monat abgeschlossen ist. DPCD bleibt wieder unverändert, so dass auch hier keine Hydratwasserwanderung stattfindet. Eine erneute Dehydratation des gebildeten TM zu TX und TA findet trotz geringer Temperatur und hoher relativer Feuchte in der Mischung vorübergehend (9 Wochen Wert) statt. DPCD als Ursache

dafür zu betrachten ist eher unwahrscheinlich, da derselbe Prozess auch im Reinstoff stattgefunden haben kann, aber aufgrund der langen Messintervalle unentdeckt blieb.

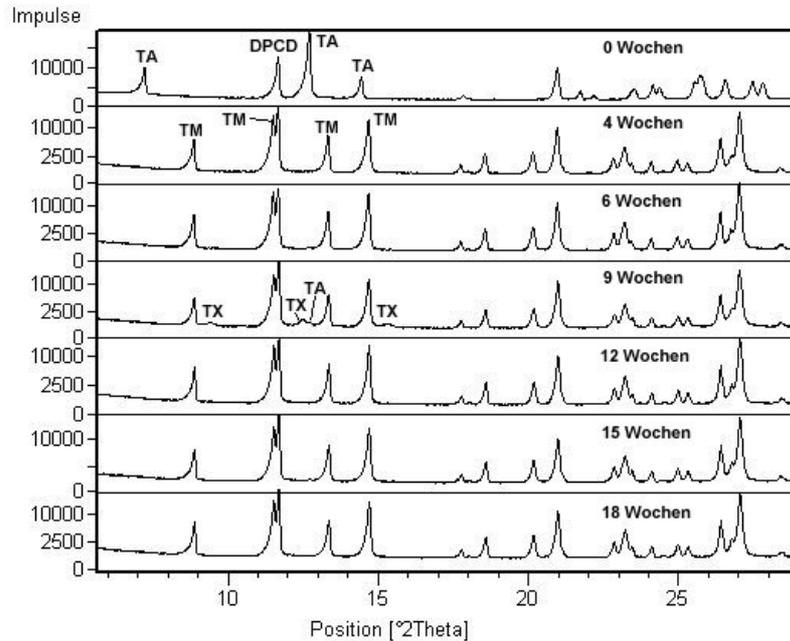


Abb. 4.3.75: Diffraktogrammausschnitte der 1:1 Mischung von TA und DPCD bei 0, 4, 6, 9, 12, 15 und 18 wöchiger Lagerung bei 25 °C und 90 % rF

40 °C / 75 % rF

Eine zumindest teilweise Dehydratation von DPCD tritt bei 40 °C und 75 % rF auf. Nach ca. 6 Wochen lassen sich im Röntgendiffraktogramm DPCA Reflexe beobachten, die mit zunehmender Lagerungsdauer in ihrer Intensität zunehmen. Nach 2 Monaten scheint die Bildung von DPCA zu stagnieren (Abb. 4.3.76 und 4.3.77).

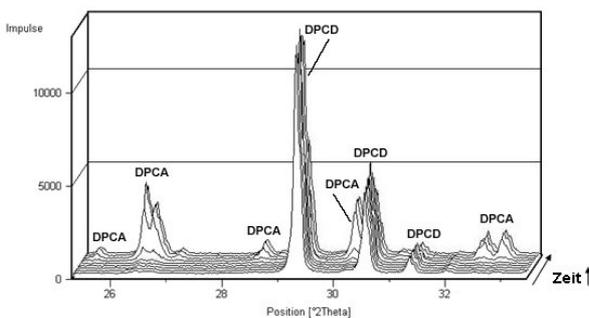


Abb. 4.3.76: Diffraktogrammausschnitt von DPCD nach 20-wöchiger Einlagerung bei 40 °C / 75 % rF

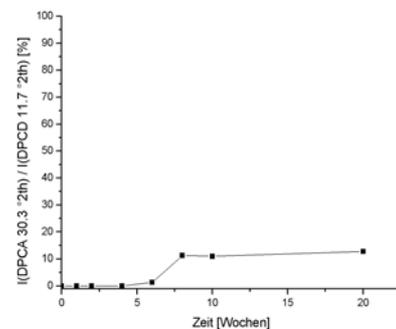


Abb. 4.3.77: relative Intensität des DPCA Peaks bei 30.3 °2θ zu dem von DPCD bei 11.6 °2θ

Rabatin et al. beobachteten in ihrer Studie [100], dass sich die Peaklagen im Röntgenspektrum von DPCD trotz vollständiger Dehydratation und damit Bildung von DPCA nicht veränderten und die Reflexe in ihrer Intensität lediglich ab- und in der Breite zunahmen. Das Vorliegen vom Anhydrat deutete sich nur durch einige schwache Reflexe an. Um in unserem Fall ein ähnliches Verhalten nachzuweisen oder auszuschließen, wurde eine thermogravimetrische Messung durchgeführt. Danach enthält das eingelagerte DPCD nach 5 Monaten immer noch 9.27 % Kristallwasser, so dass die Information des Röntgenspektrums, dass tatsächlich noch unverändertes DPCD neben DPCA vorliegt, korrekt ist (Abb. 4.3.78).

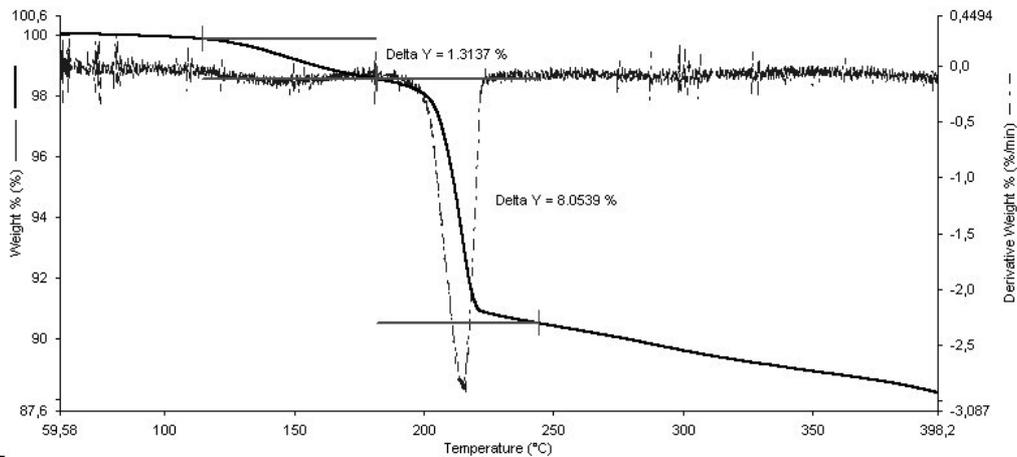


Abb. 4.3.78: TGA Thermogramm von DPCD nach 20-wöchiger Einlagerung bei 40 °C und 75 % rF: der Kristallwassergehalt hat sich halbiert und wird nur noch in einem zweistufigen Prozess v.a. ab 195 °C verloren

TA wandelt sich weder durch die klimatischen Bedingungen noch durch den Hydratwasserverlust von DPCD in TM um, so dass auch hier eine Hydratwasserwanderung ausgeschlossen werden kann (Abb. 4.3.79).

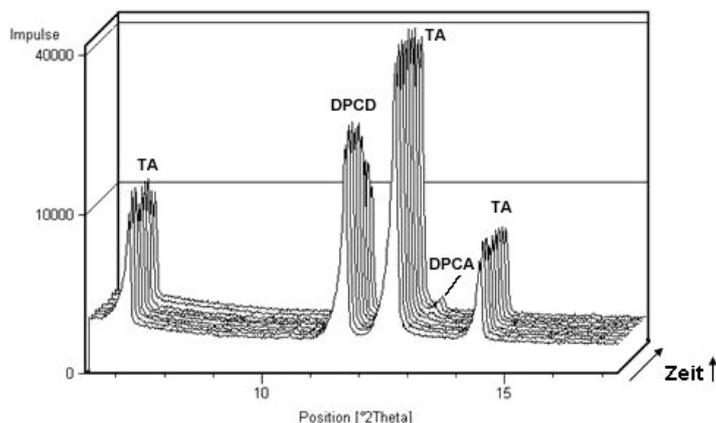


Abb. 4.3.79: Diffraktogrammausschnitt der 1:1 Mischung von TA mit DPCD nach 20-wöchiger Einlagerung bei 40 °C und 75 % rF: trotz teilweiser Umwandlung von DPCD in DPCA findet keine Hydratation von TA statt

Vielmehr scheint das aus DPCD freigesetzte Kristallwasser trotz Anwesenheit eines potentiellen Kristallwasserakzeptors in die Umgebung zu entweichen. Da die Packungsdichte in der pulverförmigen Mischung aber geringer als in einer fertigen Tablette ist, kann bei letzterer möglicherweise ein anderes Ergebnis beobachtet werden.

40 °C / 90 % rF

Analog zur Stabilitätsuntersuchung bei 40 °C und 75 % rF verliert DPCD nach 4 Wochen geringe Anteile seines Kristallwassers, was sich mit zunehmender Einlagerungszeit verstärkt. Der Vorgang findet sowohl im Reinstoff als auch in der Mischung mit TA statt, ist jedoch verglichen mit dem Hydratwasserverlust bei 75 % rF deutlich schwächer ausgeprägt, was zeigt, dass das Ausmaß der Dehydratation für DPCD bei sehr hohen Feuchten wieder sinkt. Nach 18 Wochen beträgt das Intensitätsverhältnis des DPCA Peaks bei 30.3 °2θ zu dem von DPCD bei 11.6 °2θ nur 1.52 %.

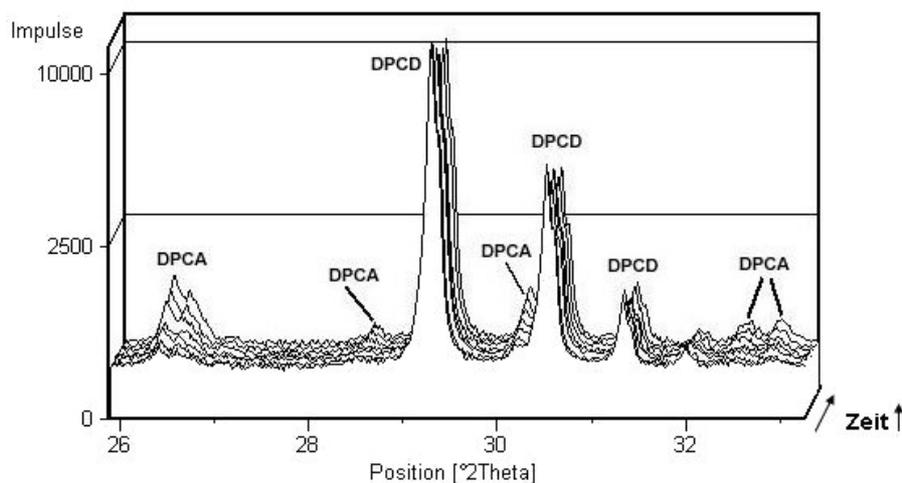


Abb. 4.3.80: Röntgendiffraktogramme von DPCD nach 0, 4, 6, 9, 12, 15 und 18 wöchiger Lagerung bei 40 °C und 90 % rF: mit zunehmender Lagerzeit steigt der Anteil an DPCA

Laut TGA (Abb. 4.3.81) beträgt der Restgehalt an Kristallwasser nach 10 Wochen noch ca. 18 % (Theorie: 20.2 %), was das obige röntgenographische Ergebnis bestätigt.

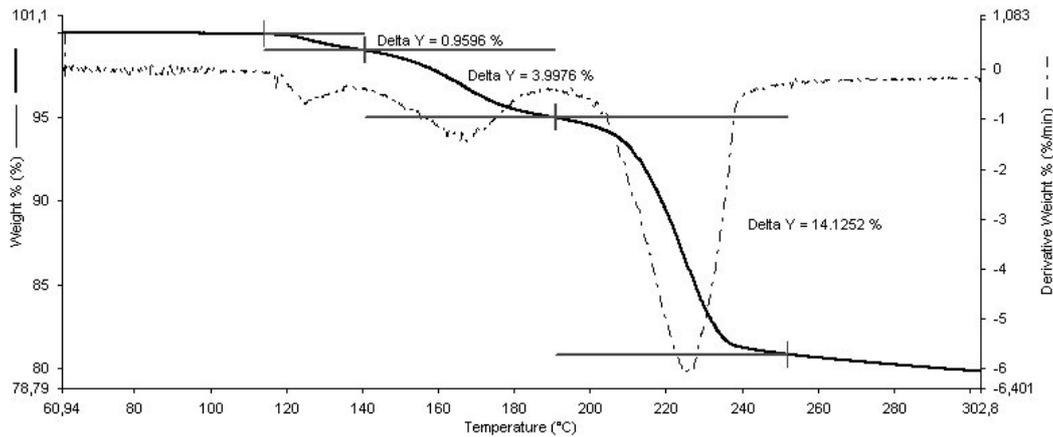


Abb. 4.3.81: TGA Thermogramm von DPCD nach 10-wöchiger Lagerung bei 40 °C und 90 % rF: der Kristallwasserverlust verläuft immer noch in drei Schritten und beträgt insgesamt 18 %

In der Mischung aus TA und DPCD wird TA diesmal hydratisiert. Dies ist jedoch nicht auf eine Hydratwasserwanderung zurückzuführen, sondern auf die hohe Umgebungsfeuchte. Andernfalls hätte eine Hydratation auch bei 75 % rF stattfinden müssen, wo DPCD nachweislich Kristallwasser abgibt, die Temperatur von 40 °C aber zu hoch für eine klimatisch bedingte Hydratation von TA ist. Ausserdem wandelt sich reines TA auch unabhängig von DPCD in TM um, allerdings etwas langsamer als in der Mischung (katalytischer Effekt von DPCD?).

Nach erfolgter Umwandlung von TA zu TM bildet sich in der Mischung nach 9 Wochen (Abb. 4.3.82), in der Reinsubstanz nach 12 Wochen eine kleine Menge TX, die sich in TA und anschließend wieder in TM umwandelt.

Natives TM verhält sich als Reinsubstanz und in der Mischung mit DPCD ähnlich: nach zweiwöchiger Lagerung bei 40 °C und 90 % rF zeigen sich geringe Anteile von TA, die nach 5 Wochen wieder verschwunden sind.

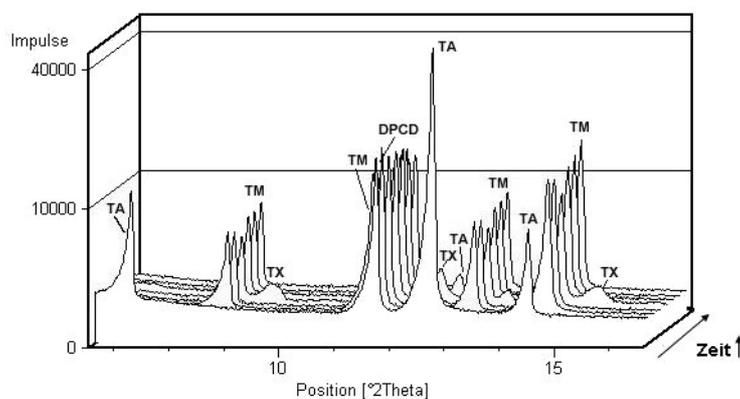


Abb. 4.3.82: Diffraktogrammausschnitt der Mischung von TA mit DPCD nach 0, 4, 6, 9, 12, 15 und 18 wöchiger Lagerung bei 40 °C und 90 % rF

4.3.8.2 Theophyllinmonohydrat und DPCA

DPCA erweist sich als stabile Substanz, die weder durch verschärfte klimatische Bedingungen (40 °C / 75 % rF) noch durch einen Hydratwasserverlust seitens TM hydratisiert wird. Die Einlagerung bei 25 °C/ 2 % rF, 25 °C/ 60 % rF und 40 °C/ 75 % rF über einen Zeitraum von 2 Monaten lässt keine Veränderung im Röntgendiffraktogramm erkennen, unabhängig davon, ob die Substanz allein oder in einer 1:1 Mischung mit TM eingelagert wird (Abb. s. Anhang). Dies gilt sowohl für die Handelsware Emcompressanhydrat[®] als auch für Fujicalin[®], was bedeutet, dass das Verhalten dieser Substanz unabhängig vom Hersteller und damit von Partikel Aufbau bzw. –morphologie ist. TM dehydratisiert bei 2 % iger relativer Feuchte zu TX und TA und bei 40 °C und 75 % rF direkt zu TA. Im ersten Fall ist die Dehydratation feuchte- (2 % rF), im zweiten temperatur- (40 °C) bedingt. Bei 40 °C wird die Dehydratation von TM nur durch sehr hohe Feuchte (90 % rF) verhindert. Das freigesetzte Kristallwasser diffundiert in die Umgebung und wird nicht vom DPCA aufgenommen.

4.3.8.3 Gesamtbewertung

Tabelle 4.3.10 gibt abschließend einen kurzen Überblick über die bei den verschiedenen Mischungen, Reinsubstanzen und klimatischen Bedingungen stattfindenden Phasentransformationen:

	TA	TM	DPCD	DPCA	TA + DPCD	TM + DPCA
25 °C, 2 % rF	unverändert	dehydratisiert vollständig	unverändert	unverändert	Die Mischungen zeigen das gleiche Verhalten wie die Reinsubstanzen; eine gegenseitige Beeinflussung ihres De-/ Hydratationsverhaltens ist nicht feststellbar	
25 °C, 60 % rF	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert		
25 °C, 75 % rF	hydratisiert teilweise	n.b.	unverändert	n.b.		
25 °C, 90 % rF	hydratisiert vollständig	n.b.	unverändert	n.b.		
40 °C, 75 % rF	unverändert	dehydratisiert vollständig	dehydratisiert teilweise	unverändert		
40 °C, 90 % rF	hydratisiert vollständig	unverändert	dehydratisiert teilweise	n.b.		

Tab. 4.3.10: Phasentransformationen verschiedener Stoffe und ihrer Mischungen bei unterschiedlichen Lagertemperaturen; n.b.: nicht bestimmt

Alle stattfindenden Phasentransformationen in den untersuchten, pulverförmigen Systemen sind ausschließlich klimatisch, d.h. durch Temperatur oder Feuchte bedingt, nicht durch eine etwaige Wanderung des Hydratwassers von einer Substanz zur anderen.

DPCA erweist sich sowohl unter Normal- als auch unter Stressbedingungen als stabil. Anders verhält es sich mit DPCD, das bei erhöhter Temperatur und Feuchte eine Neigung zur (teilweisen) Dehydratation zeigt. Eine Wanderung des Hydratwassers konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Angesichts der Stressbedingungen, unter denen DPCD dehydriert, ist jedoch zu überlegen, ob ein hydratationsempfänglicher Wirkstoff nicht bereits aufgrund der hohen, umgebenden Feuchte Kristallwasser aufnimmt und damit die Dehydratation von DPCD bzw. die Hydratation der aktiven Substanz unabhängig voneinander vonstatten gehen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, inwiefern sich die Pulverröntgendiffraktometrie für den routinemäßigen Einsatz in der quantitativen Wirk- und Hilfsstoffbestimmung eignet. Dabei wurden die erreichte Nachweisgrenze und Messgenauigkeit sowie die dafür benötigte Zeit als Qualitätsparameter gewählt. Die Auswertung der Daten erfolgte entweder über die klassischen Quantifizierungsmethoden der Röntgendiffraktometrie (Integralfläche, Rietveldanalyse) oder durch multivariate Kalibration (PLS Regression).

In der ersten Versuchreihe wurde der Kristallinitätsgrad von Lactose bestimmt. Mit Hilfe von Kalibrierreihen aus amorpher und kristalliner Substanz wurde die Nachweisgrenze für amorphes bzw. kristallines Material mit hoher Genauigkeit, Präzision und Empfindlichkeit auf 0.5 bzw. 1 % reduziert. Durch multivariate Kalibration konnte dieses Ergebnis noch verbessert, d.h. die Nachweisgrenzen gesenkt und die Genauigkeit und Präzision erhöht werden. Die Messungen wurden dabei in der konventionellen parafofokussierenden Bragg Brentano Reflektionsgeometrie und innerhalb kürzester Zeit durchgeführt.

Paralleluntersuchungen mittels NIRS und DSC ergaben, dass die Ergebnisse von XRPD mit denen der NIR Spektroskopie qualitativ vergleichbar und hinsichtlich der Bestimmung eines kristallinen Restgehaltes sogar überlegen waren. Die Messzeit der NIR Spektroskopie war geringfügig kürzer. Die Resultate der DSC Untersuchungen zeigten hingegen eine mangelnde Linearität, Genauigkeit und Sensitivität in Kombination mit einer verhältnismäßig langen Messzeit.

Die Anwendung der über XRPD erstellten Kalibrierkurven auf Proben unbekanntem amorphem oder kristallinem Gehalts war dann erfolgreich, wenn sich die Partikelgröße und -form der untersuchten Probe nicht zu stark von den Kalibriermustern unterschied. Andernfalls war die NIR Spektroskopie vorzuziehen, bei der durch geeignete Datenvorbehandlung ein Großteil der Störeffekte herausgerechnet werden konnte.

In der zweiten Versuchsreihe wurde ein Wirkstoff, Indomethacin, in der unzerstörten Tablette quantifiziert.

Mikronisierter Wirkstoff ($< 10 \mu\text{m}$) ließ sich dabei unabhängig von der Tablettenform und -zusammensetzung mit hoher Genauigkeit quantifizieren, wobei sich im untersuchten Konzentrationsbereich von 8 – 15 % durch Auswertung eines einzelstehenden Peaks Gehaltsunterschiede von 0.5 % feststellen ließen.

Die Vermessung gewölbter Tabletten erfolgte im Parallelstrahl, was die Unebenheit der Tablettenoberfläche kompensierte, während die biplanen Proben unter konventionellen, parafokussierenden Bragg Brentano Bedingungen untersucht wurden. Die Messzeit der Präzisionsmessung eines Einzelpeaks war - verglichen mit der aufwendigen Probenvorbereitung für die UV Spektroskopie - sehr kurz. Die multivariate Auswertung über PLSR verbesserte die Präzision der Methode. Insgesamt waren die Ergebnisse von XRPD denen der UV Spektroskopie vergleichbar bzw. überlegen.

Da XRPD nicht zerstörend, schneller und genauer arbeitete als die UV Spektroskopie und gleichzeitig wertevolle Informationen über die vorliegenden Kristallstrukturen lieferte, ist diese Methode bei der Gehaltsbestimmung mikronisierten Wirkstoffs vorzuziehen.

Lag der Wirkstoff in einer Partikelgröße $> 10 \mu\text{m}$ in der Tablette vor, so war bei XRPD eine Auswertung über einen Einzelpeak nicht mehr möglich, stattdessen empfahl sich die Anwendung der quantitativen Rietveldanalyse. Durch sie ließen sich immer noch Gehaltsunterschiede von 0.5 % nachweisen, allerdings mit reduzierter Genauigkeit und einem hohen systematischen Fehler. Letzterer ließ sich vorwiegend auf Störeffekte durch Vorzugsorientierung zurückführen, die bei Partikeln oberhalb von $10 \mu\text{m}$ verstärkt auftreten. Da die Ursache und das Ausmaß des Fehlers unbekannt waren, war in diesem Fall die UV Spektroskopie der röntgendiffraktometrischen Analyse vorzuziehen. Eine mögliche Lösung des Texturproblems bei XRPD wäre die Probenvermessung in Transmission.

Die dritte und letzte Versuchsreihe beschäftigte sich mit Stabilitäts- und Inkompatibilitätsstudien in der Temperatur-Feuchte-Kammer des Röntgendiffraktometers und im Klimaschrank. Als Modellwirkstoff dienten Theophyllinmonohydrat bzw. -anhydrat, als möglicher Partner für Inkompatibilitäten $\text{CaHPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ bzw. CaHPO_4 .

Sowohl die Dehydratation von Theophyllinmonohydrat als auch die Hydratation von Theophyllin-anhydrat ließen sich schnell und problemlos in der THC quantitativ erfassen. Beide Umwandlungen folgten einer Kinetik nach Avrami Erofeev 4. Ordnung.

Bei der Dehydratation von TM entstanden eine stabile und metastabile Form des Anhydrats, deren mengenmäßiges Auftreten von der Umgebungsfeuchte und der Temperatur abhing. Die Bildung der metastabilen Form verlief kinetisch kontrolliert, d.h. sie entstand vor allem bei rasch verlaufenden Dehydratationsprozessen unter erhöhter Temperatur ($40 \text{ }^\circ\text{C}$) und / oder geringer relativer Feuchte. Oberhalb dieser Feuchten überwog dagegen die thermodynamische Kontrolle, d.h. die Bildung der

stabilen wasserfreien Form. Insgesamt verlief die Dehydratation in der Reihenfolge TM (\rightarrow TX) \rightarrow TA.

Die Umwandlungen im Klimaschrank zeigten qualitativ einen ähnlichen Verlauf, erfolgten aber deutlich langsamer und wurden in ihrem kinetischen Ablauf schlechter erfasst als in der THC. Somit stellt diese eine hervorragende Möglichkeit für beschleunigte Haltbarkeitsstudien dar, vorausgesetzt, dass die Umwandlungen mit einer Änderung der Kristallstruktur einhergehen.

Die Inkompatibilitätsstudien zeigten, dass es auch unter Stressbedingungen zu keinem Kristallwasserübergang zwischen den untersuchten Wirk- und Hilfsstoffkombinationen kam (TA/CaHPO₄ x 2 H₂O; TM/CaHPO₄), die beobachteten Umwandlungen waren ausschließlich klimatisch bedingt. Da diese Phasentransformationen viel Zeit benötigten, konnten sie nur im Klimaschrank untersucht werden.

Zusammenfassend betrachtet sind mit Hilfe eines Röntgendiffraktometers, das mit einem schnell messenden Detektor hoher Linearität und Auflösung ausgestattet ist, quantitative Messungen mit hoher Genauigkeit, Präzision und Empfindlichkeit in kürzester Zeit möglich. Die äußere Form der zu vermessenden Probe spielt bei Verwendung von parallelisiertem Röntgenlicht keine Rolle. Es ist jedoch zu beachten, dass eine variierende Partikelgröße und -form die Genauigkeit des quantitativen Ergebnisses aufgrund von Vorzugsorientierung beeinträchtigen kann. In diesem Fall empfiehlt es sich, die Proben in Transmission zu vermessen und mit einer „whole pattern fitting“ Methode auszuwerten, oder auf eine andere Analysenmethode auszuweichen. Durch die Temperatur-Feuchte-Kammer sind beschleunigte Haltbarkeitsuntersuchungen in situ durchführbar.

Insgesamt gesehen ist die Röntgendiffraktometrie zu anderen, bereits etablierten quantitativen Bestimmungsmethoden wie die HPLC-UV, Raman- oder NIR- Spektroskopie qualitativ äquivalent. Eine online Anwendung zur Prozessüberwachung ist jedoch aufgrund des hohen apparativen Aufwandes und einer adäquaten Probenpräparation noch nicht möglich.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Klug H.P., Alexander L.E.: *X-Ray Diffraction Procedures for polycrystalline and amorphous materials*, John Wiley & Sons New York, 2. Auflage (1974)
- [2] Krischner H.: *Einführung in die Röntgenfeinstrukturanalyse*, Vieweg Verlag Braunschweig, 4. Auflage (1990)
- [3] Allmann R.: *Röntgenpulverdiffraktometrie*, Clausthaler Tektonische Hefte 29 (1994)
- [4] Zevin L., Kimmel G.: *Quantitative X-Ray diffractometry*, Springer Verlag New York (1995)
- [5] Hunnius: *Pharmazeutisches Wörterbuch* de Gruyter Verlag, 8. Auflage (1998)
- [6] Herman P.H., Weidinger A.: *On the determination of the crystalline fraction of polyethylene from X-Ray Diffraction*; *Macromol. Chem.* **24**, 44 (1961)
- [7] Nakai Y., Fukuoka E., Nakajima S.-L., Morita M.: *Physicochemical properties of crystalline lactose – Estimation of the degree of crystallinity and the disorder parameter by an X-Ray Diffraction method*; *Chem. Pharm. Bull.* **30**, 1811 (1982)
- [8] Ruland W.: *X-Ray determination of crystallinity and diffuse order scattering*; *Acta Cryst.* **14** 1180 (1961)
- [9] Klein M.: *Untersuchungen an MCC als Tablettierhilfsstoff*, Dissertation, Bonn (1998)
- [10] Soltys J., Lisowski Z., Knapczyk J.: *X-Ray Diffraction study of the crystallinity index and the structure of MCC*; *Acta Pharm. Tech.* **30**, 174 (1984)
- [11] Mignot J., Rondot D.: *Application di lissage des Raies de diffraction des rayons X à la séparation du doublet $K_{\alpha 1}$ $K_{\alpha 2}$* ; *Acta Cryst.* **29**, 460 (1976)
- [12] Chen X., Bates S., Morris K.-R.: *Quantifying amorphous content of lactose using parallel beam X-ray powder diffraction and whole pattern fitting*; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **26**, 63 (2001)
- [13] Cullity B.D.: *Elements of X-Ray Diffraction*, Addison Wesley (1978)
- [14] Smith D., Chung F. H.: *Industrial application of X-Ray Diffraction*; Marcel Dekker Verlag New York (2000)
- [15] Panalytical: *Application Courses on XRD*; (2002)
- [16] Hubbard C.R., Evans E.H., Smith D.K.: *The Reference Intensity Ratio (I/I_0) for computer simulated powder patterns*; *J. Appl. Cryst.* **9**, 169 (1976)
- [17] Snyder R.L.: *The use of RIR in X-Ray quantitative analysis*; *Pow. Diff.* **7** 186 (1992)
Hubbard C.R., Snyder R.L.: *RIR – Measurement and Use in quantitative XRD*; *Pow. Diff.* **3**, 74 (1988)

- [18] Chung F.H.: *Quantitative interpretation of X-Ray diffraction patterns of mixtures – Matrix-flushing method for quantitative multicomponent analysis*; J. Appl. Cryst. **7**, 519 (1974)
- [19] Chung F.H.: *Quantitative Interpretation of X-Ray diffraction patterns – abiabatic principle of X-Ray diffraction analysis of mixtures*; J. Appl. Cryst. **7**, 526 (1974)
- [20] Chung F.H.: *Quantitative Interpretation of X-Ray diffraction patterns –simultaneous determination of a set of reference intensities*; J. Appl. Cryst. **8**, 17 (1975)
- [21] Rietveld M.: *A profile refinement method for nuclear and magnetic structures*; J. Appl. Cryst. **2**, 65 (1965)
- [22] Young R.A.: *The Rietveld method*; Int. Union of Crystallography, Oxford University Press (1993)
- [23] Bish D.L., Howard S.A.: *Quantitative phase analysis using the Rietveld method*; J. Appl. Cryst. **21**, 86 (1988)
- [24] Toraya H.: *Whole pattern fitting without reference to a structural model: application to X-Ray Powder Diffractometer data*; J. Appl. Cryst. **19**, 440 (1986)
- [25] Stalick J.K.: *Conference proceedings of “Accuracy in Powder Diffraction II”*; National Institute of standards and technology special publication 846, (1992)
- [26] Maasz J.: *Röntgendiffraktometrie in der Pharmazie*, Dissertation, Tübingen (1986)
- [27] Suryanarayanan, R.: *Physical characterisation of pharmaceutical solids*, Kap. 7, Marcel Dekker Verlag New York (1995)
- [28] Produktinformation „Lactose Monohydrat“ Meggle AG, Wasserburg, Deutschland; Stand: 10/00
- [29] Kibbe a.h., Rowley G.: *Handbook of Pharmaceutical Excipients*; American Pharmaceutical Association, Washington; The Pharmaceutical Press, London; 3. Auflage (2000b)
- [30] Monographie: Theophyllin; Ph.Eur. 1997; 1726 (1997)
- [31] Kommentar zur PhEur 1997, Monographie Theophyllin; DAB Kommentar 9. Lfg. 1998
- [32] Burger A., Griesser U.J., Unterberger K., Mayrhofer M.: *Zur Polymorphie und Pseudopolymorphie von Xanthinderivaten*; Sci. Pharm. **59**, 8 (1991)
- [33] Suzuki E., Shimimura K., Sekiguchi K.: *Thermochemical study of theophylline and its hydrate*; Chem. Pharm. Bull. **37**, 493 (1989)
- [34] Phadnis N.V., Suryanarayanan R.: *Polymorphism of theophylline – implications on the dissolution rate of theophylline tablets*; J. Pharm. Sci. **86**, 1256 (1997)

- [35] Räsänen E., Rantanen J., Jørgensen A., Karjalainen M., Paakkari T., Ylirussi J.: *Novel Identification of pseudopolymorphic changes of theophylline during wet granulation using NIRS*; J. Pharm. Sci. **90**, 389 (2001)
- [36] Herman J., Remon J.P., Visavarungroj N., Schwartz J.B., Klinger G.H.: *Formation of theophylline monohydrate during the pelletisation of MCC – anhydrous theophylline blends*; Int. J. Pharm. **42**, 15 (1988)
- [37] Shefter E., Higuchi T.: *Dissolution behaviour of crystalline solvated and nonsolvated forms of some pharmaceuticals*; J. Pharm. Sci. **52**, 781 (1963)
- [38] Morris K.R., Griesser U.J., Craig J.E., Stowell J.G.: *Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacturing processes*; Advanced drug Delivery Reviews **48**, 91 (2001)
- [39] Puttipipatkachorn S., Yonemochi E., Oguchi T., Yamamoto K., Nakai Y.: *Effect of grinding on dehydration of crystal water of theophylline*; Chem. Pharm. Bull. **38**, 2233 (1990)
- [40] Otsuka M., Kaneniwa N., Otsuka K., Kawakami K., Umezawa O.: *Effect of tableting pressure and geometrical factor of tablets on the dehydration kinetics of theophylline monohydrate tablets*; Drug Dev. Ind. Pharm., **19**, 541 (1993)
- [41] Suihko E., Lehto V.P., Ketolainen J., Laine E., Paronen P.: *Dynamic solid state and tableting properties of four theophylline forms*; Int. J. Pharm. **217**, 225 (2001)
- [42] Smith E.D.L., Hammond R.B., Jones M.J., Roberts K.J., Mitchell J.B.O., Price S.L., Harris R.K., Apperley D.C., Cherryman J.C., Docherty R.: *The Determination of the crystal structure of theophylline by XRPD with a systematic search algorithm, lattice energy calculations and ¹³C and ¹⁵N SS-NMR: a question of polymorphism in the unit cell*; J. Phys. Chem. **105**, 5819 (2001)
- [43] Sun C., Zhon D., Grant D.J.w., Young V.G.: *Crystal structure of theophylline monohydrate*; Acta cryst. E58, 368 (2002)
- [44] Carstensen J.T., Ertell C.: *Physical and chemical properties of calcium phosphates for solid state pharmaceutical formulations*; Drug Dev. Ind. Pharm. **16**, 1121 (1990)
- [45] Landin M., Rowe R.C., York P.: *Structural changes during the dehydration of dicalcium phosphate hydrate*; Eur. J. Pharm. Sci. **2**, 245 (1994)
- [46] Dugleux P., De Sallier-Dupin A.: *Contribution à l'étude cinétique de la déshydratation du phosphate bicalcique; Déshydratation de CaHPO₄ x 2 H₂O en ambiance sèche ou légèrement humide*; Bull. Soc. Chim. **3**, 973 (1967a)
- [47] Dugleux P., De Sallier-Dupin A.: *Contribution à l'étude cinétique de la déshydratation du phosphate bicalcique; Interprétation des résultats, ébauche du mécanisme réactionnel*; Bull. Soc. Chim. **3**, 978 (1967b)
- [48] Römpf Chemie Lexikon; 9. Auflage, Thieme Verlag (1995), Stuttgart

- [49] Landin M., Martínez-Pacheco R., Gómez-Amoza J.L., Souto C., Concheiro A., Rowe R.C.: *The effect of country origin on the properties of dicalcium phosphate dihydrate powder*; Int. J. Pharm. **103**, 9 (1994)
- [50] Yamamoto H.: *A new synthesis of 1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-3-indolylacetic acid and its polymorphism*; Chem. Pharm. Bull. **16**, 17 (1968)
- [51] Lin S.Y.: *Isolation and solid state characteristics of a new crystal form of indomethacin*; J. Pharm. Sci. **81**, 572 (1992)
- [52] Borka L.: *The polymorphism of Indomethacin; New modifications, their melting behaviour and solubility*; Acta Pharm. Suecica **11** 295 (1974)
- [53] Kaneniwa N., Otsuka M., Hayashi T.: *Physicochemical characterization of indomethacin polymorphs and the transformation kinetics in ethanol*; Chem. Pharm. Bull. **33**, 3447 (1985)
- [54] Otto M.: *Chemometrie* VHC Verlagsgesellschaft Weinheim (1997)
- [55] Henrion R., Henrion G.: *Multivariate Datenanalyse*; Springer Verlag (1994)
- [56] Horn, Winzen: *Schulungsunterlagen Chemometrieseminar „The Unscrambler®“* ; NIR-Support (2003)
- [57] Martens H., Næs T.: *Multivariate Calibration*; John Wiley & Sons (1989)
- [58] The Unscrambler® User Manual; CAMO ASA, Oslo, Norwegen (1998)
- [59] Rücker G., Neugebauer M., Willems G.: *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*; WHG Stuttgart, 3. Auflage (2001)
- [60] Hendrikson, B.A.: *Characterization of calcium fenoprofen: 1. Powder dissolution rate and degree of crystallinity*; Int. J. Pharm. **60**, 243 (1990)
- [61] Hancock, B.C.; Zografi, G.: *Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical system*; J. Pharm. Sci. **86**, 1 (1997)
- [62] Hüttenrauch, R.; Fricke, S.; Zielke, P.: *Mechanical activation of pharmaceutical systems*; Pharm. Res. **2**, 302 (1985)
- [63] York, P.: *Solid-state properties of powders in the formulation and processing of solid dosage forms*; Int. J. Pharm. **14**, 1 (1983)
- [64] Ahlneck, C.; Zografi, G.: *The molecular basis of moisture effects on the physical and chemical stability of drugs in the solid state*; Int. J. Pharm. **62**, 87 (1990)
- [65] Saleki-Gerhardt, A.; Ahlneck, C.; Zografi, G.: *Assessment of disorder in crystalline solids*; Int. J. Pharm. **101**, 237 (1994)

- [66] Hogan, S.E.; Buckton, G.: *The application of Near Infrared Spectroscopy and dynamic vapor sorption to quantify low amorphous contents of crystalline lactose*; Pharm. Res. **18**, 112 (2001)
- [67] Pikal, M.J.; Lukes, A.L.; Lang, J.E.; Gaines K.: *Quantitative crystallinity determination for β -lactam antibiotics by solution calorimetry: Correlations with stability*; J. Pharm. Sci. **67**, 767 (1978)
- [68] Briggner L.; Buckton G.; Bystrom K.; Darcy P.: *The use of isothermal microcalorimetry in the study of changes in crystallinity induced during the processing of powders*; Int. J. Pharm. **105**, 125 (1994)
- [69] Gustafsson C.; Lennholm H.; Iversen T.; Nystrom C.: *Comparison of solid-state NMR and isothermal microcalorimetry in the assessment of the amorphous component of lactose*; Int. J. Pharm. **174**, 243 (1998)
- [70] Guinot S.; Leveiller F.: *The use of MTDSC to assess the amorphous phase content of a micronised drug substance*; Int. J. Pharm. **192**, 63 (1999)
- [71] Taylor L.S.; Zografis G.: *The quantitative analysis of crystallinity using FT-Raman spectroscopy*; Pharm. Res. **15**, 755 (1998)
- [72] Gombás, A.; Antal, I.; Szabó-Révész, P.; Marton, S.; Eros, I.: *Quantitative determination of crystallinity of alpha-lactose monohydrate by Near Infrared Spectroscopy (NIRS)*; Int. J. Pharm. **256**, 25 (2003)
- [73] Seyer J.J.; Luner P.E.; Kemper M.S.: *Application of diffuse reflectance near-infrared spectroscopy for determination of crystallinity*; J. Pharm. Sci. **89**, 1305 (2000)
- [74] Crocker L.S.; McCauley J.A.: *Comparison of the crystallinity of imipenem samples by X-Ray diffraction of amorphous material*; J. Pharm. Sci. **84**, 226 (1995)
- [75] Surana R.; Suryanarayanan R.: *Quantitation of crystallinity in substantially amorphous pharmaceuticals and study of crystallization kinetics by X-Ray powder diffractometry*; Pow. Diff. **15**, 2 (2000)
- [76] Buckton G.; Yonemochi E.; Hammond J.; Moffat A.: *The use of near infra-red spectroscopy to detect changes in the form of amorphous and crystalline lactose*; Int. J. Pharm. **168**, 231 (1998)
- [77] Joupilla K.; Kansikas J.; Roos Y.H.: *Crystallization and X-Ray diffraction of crystals formed in water-plasticized amorphous lactose*; Biotech. Progress **14**, 347 (1998)
- [78] Lerk C.F., Andreae A.C., de Boer A.H., de Hoog P., Kussendrager K., van Leverink J.: *Alterations of α -Lactose during differential scanning calorimetry*; J. Pharm. Sci. **73**, 856 (1984)
- [79] Figura L.O.: *The physical modification of lactose and its thermoanalytical identification*; Thermochemica Acta **222**, 187 (1993)

- [80] Chidavaenzi O.C., Buckton G., Koosha F., Pathak R.: *The use of thermal techniques to assess the impact of feed concentration on the amorphous content and polymorphic forms present in spray dried lactose*; Int. J. Pharm. **159**, 67 (1997)
- [81] Jedwert i., Josefson M., Langkilde F.: *Quantification of an active substance in a tablet by NIR- and Raman spectroscopy*; J. Near Infrared Spectroscopy **6**, 279 (1998)
- [82] Beyer, J.: *Nahinfrarotspektroskopische Untersuchungen an pharmazeutischen Hilfsstoffen und festen Arzneiformen*; Dissertation, Bonn (2003)
- [83] Blanco M., Villar A.: *Polymorphic analysis of a pharmaceutical preparation*; The Analyst **125**, 2311 (2000)
- [84] Buchanan B.R., Baxter M.A., Chen T.S., Qin X.Z., Robinson P.A.: *Use of NIRS to evaluate an active in a film coated tablet*; Pharm. Res. **13**, 616 (1996)
- [85] Ryan J.A., Compton S.V., Brooks M.A., Compton D.A.C.: *Rapid verification of identity and content of drug formulations using MIR*; J. Pharm. Biomed. Anal. **9**, 303 (1991)
- [86] Taylor L.S., Langkilde F.W.: *Evaluation of solid state forms present in tablets by Raman spectroscopy*; J. Pharm. Sci. **89**, 1342 (2000)
- [87] Saindon P.J., Cauchon N.S., Sutton P.A., Chang C.V., Peck. G.E., Byrn S.R.: *SS-NMR spectra of pharmaceutical dosage forms*; Pharm. Res. **10**, 197 (1992)
- [88] Suryanarayanan R.: *Quantification of carbamazepine in tablets by XRPD*; Advances in X-Ray Analysis **34**, 417 (1991)
- [89] Otsuka M., Matsuda Y, Ozaki Y.: *Comparative Determination of polymorphs of indomethacin in powders and tablets by chemometrical NIRS and XRPD*; Am. Assoc. of Pharm. Scientists (2003)
- [90] Suryanarayanan R., Herman C.S.: *Quantitative analysis of the active ingredient in a multi-component tablet formulation by XRPD*; Int. J. Pharm. **77**, 287 (1991)
- [91] Suryanarayanan R., Herman C.S.: *Quantitative analysis of the active ingredient by XRPD*; Pharm. Res. **8**, 393 (1990)
- [92] Papariello G.J., Letterman H., Huettemann R.E.: *Quantitative X-Ray Diffraction Analysis of intact tablets*; J. Pharm. Sci. **53**, 663 (1964)
- [93] Cao W., Bates S., Peck G.E., Wildfong P.L.D., Qin Z., Morris K.R.: *Quantitative determination of polymorphic composition in intact compacts by parallel-beam XRPD*; J. Pharm. Biomed. Anal. **30**, 1111 (2002)
- [94] Otsuka M., Kanenwiwa N.: *The dehydration kinetics of theophylline monohydrate powder and tablet*; Chem. Pharm. Bull. **36**, 4914 (1988)
- [95] Agbada C.O., York P.: *Dehydration of theophylline monohydrate powder – effects of particle size and sample weight*; Int. J. Pharm. **106**, 33 (1994)

- [96] Duddu S.P., Das N.G., Kelly T.P., Sokoloski T.D.: *Microcalorimetric investigation of phase transitions: Is water desorption from theophylline monohydrate a single step process?* Int. J. Pharm. **114**, 247 (1995)
- [97] Shefter E., Fung H.L., Mok O.: *Dehydration of crystalline theophylline monohydrate and ampicillin trihydrate*; J. Pharm. Sci. **62**, 791 (1973)
- [98] Otsuka M., Kanenwiwa N., Kawakami K., Umezama O.: *Effects of tableting pressure on hydration kinetics of theophylline anhydrate tablets*; J. Pharm. Pharmacol. **43**, 226 (1991)
- [99] Sharp J.H., Brindley G.W., Achar B.N.N.: *Numerical data for some commonly used solid state reaction equations*; J. Am. Ceram. Soc. **49**, 379 (1966)
- [100] Rabatin J.G., Gale R.H., Newkirk A.E.: *The mechanism and kinetics of the dehydration of calcium hydrogen phosphate dehydrate*; J. Phys. Chem. **64**, 491 (1960)

7 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Å:	Angström; entspricht 10^{-10} m
Abb.:	Abbildung
bzw:	beziehungsweise
Cal:	Kalibrierung
CV:	Cross Validation; Kreuzvalidierung
d.h.:	das heißt
d:	Netzebenenabstand
DPCA:	Calciumhydrogenphosphatanhydrat
DPCD:	Calciumhydrogenphosphatdihydrat
DSC:	Differential Scanning Calorimetry; Dynamische Differenzkalorimetrie
DVS:	Dynamic Vapour Sorption ; dynamische Dampfabsorption
E _a :	Aktivierungsenergie
Fa.:	Firma
FT:	Fourier Transform
Ge:	Germanium
GMP:	Good Manufacturing Practice
hkl:	Millersche Indices
HPLC:	Hochleistungsflüssigchromatographie
I:	Intensität
IMC:	Isothermal Microcalorimetry ; isothermische Mikrok calorimetrie
I _{net} :	Nettointensität (Fläche unter den Reflexen)
I _{obs} :	beobachtete Gesamtintensität
IR:	Infrarot
k.A.:	keine Angabe
k:	Reaktionsgeschwindigkeitskonstante
Kap.:	Kapitel
LOD:	Limit of Detection; Nachweisgrenze
LOQ:	Limit of Quantification; Quantifizierungsgrenze
MCC:	Mikrokristalline Cellulose
Mg:	Magnesium
MIRS:	mittelere Infrarotspektroskopie

MLR :	Multiple Lineare Regression
MSC:	multiplikative Streukorrektur
MT-DSC:	Modulated Temperature DSC
n.b:	nicht bestimmt
n:	Beugungsordnung
n:	Stichprobenumfang
NaBr:	Natriumbromid
NaCl:	Natriumchlorid
NIRS:	Nahinfrarotspektroskopie
o.g.:	oben genannt
OH-:	Hydroxy-
PC:	Principal Component
PCA:	Principal Component Analysis
PCR:	Principal Component Regression
PDF:	Powder Diffraction File
PDS :	programmierbare Divergenzblende (programmable divergence slit)
PhEur:	Europäisches Arzneibuch
PLSR:	Partial Least Squares Regression
q.s.:	quantum satis
r:	Korrelationskoeffizient
REM:	Rasterelektronenmikroskopie
rF:	relative Feuchte
RIR:	Reference Intensity Ratio
RMSEC:	Root Mean Square Error of Calibration
RMSEP:	Root Mean Square Error of Prediction
rsd:	Relative Standard Deviation; relative Standardabweichung
RTMS:	Real Time Multiple Strip; entspricht dem Detektor X'Cellerator
s.o.:	siehe oben
s.u.:	siehe unten
sd:	Standard Deviation; Standardabweichung
SEC:	Standard Error of Calibration
SEP:	Standard Error of Prediction
Si:	Silicium
SNV:	Standard Normal Variate

sog.:	sogenannt
SS-NMR:	Solid State Nuclear Magnetic Resonance; Festphasenkernresonanzspektroskopie
T:	Temperatur
TA:	Theophyllinhydrat
Tab.:	Tabelle
T _g :	Glasübergangstemperatur
TGA:	Thermogravimetrische Analyse
THC:	Temperature Humidity Chamber; Temperatur-Feuchte-Kammer
TM:	Theophyllinmonohydrat
TX:	metastabiles Theophyllinhydrat
USP:	United States Pharmacopeia
UV:	Ultraviolett
v.a.:	vor allem
Val:	Validierung
Vis:	visible; sichtbar
x ₁₀ :	Korngröße, unter der 10 % des Gesamtvolumens liegt
x ₅₀ :	mittlerer Korndurchmesser, Median
x ₉₀ :	Korngröße, unter der 90 % des Gesamtvolumens liegt
x _j :	Gewichtsanteil x der j-ten Phase am Gesamtgemisch
XRPD :	X-Ray Powder Diffraction; Pulverröntgendiffraktometrie
z.B.:	zum Beispiel
δ:	Dichte
θ:	Beugungswinkel
λ:	Wellenlänge
μ*; MSK:	Massenabsorptionskoeffizient
μ:	linearer Absorptionskoeffizient

Feuchte ausgesetzt. Zur Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit wird 40 °C als Basistemperatur für alle drei Versuche gewählt. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Abb. 4.3.46 bis 4.3.51 dargestellt.

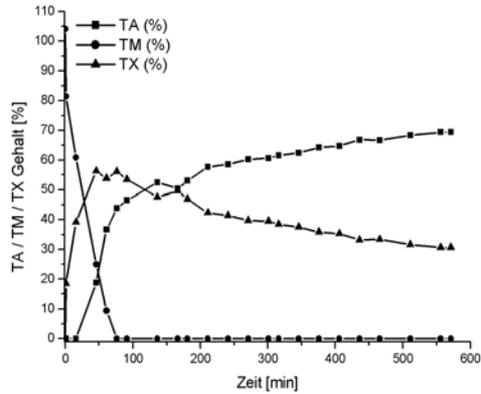


Abb. 4.3.46: Dehydratation von TM bei 40°C/ 10% rF zu TX und TA

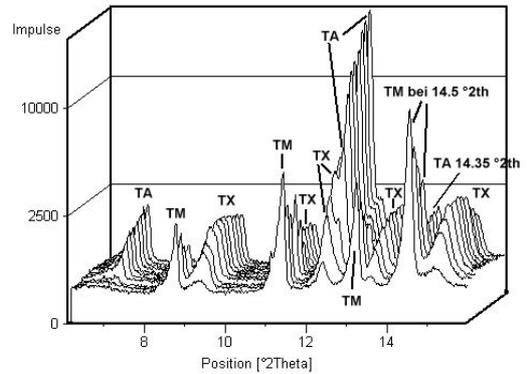


Abb. 4.3.47: Röntgenspektren der De-hydratation von TM bei 40°C/ 10 % rF

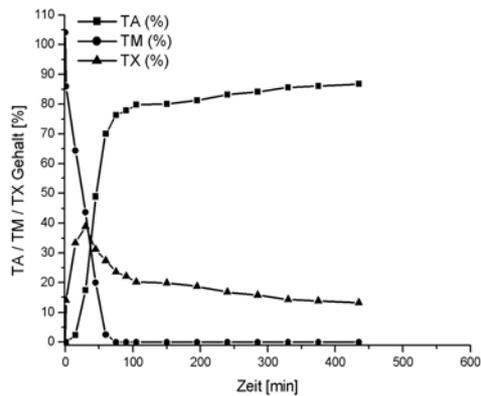


Abb. 4.3.48: Dehydratation von TM bei 40°C/ 30 % rF zu TX und TA

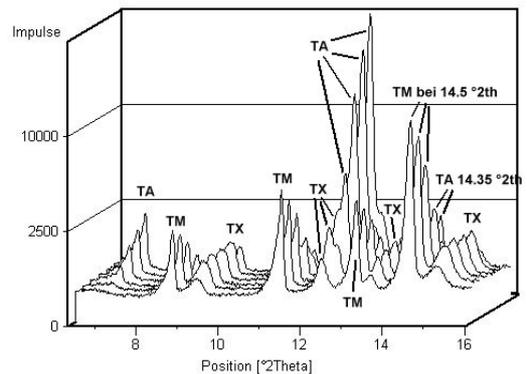


Abb. 4.3.49: Röntgenspektren der Dehydratation von TM bei 40°C/ 30 % rF

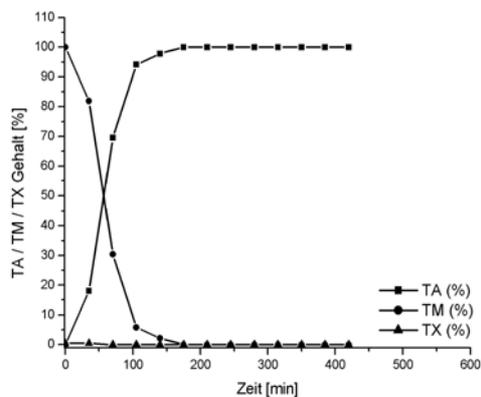


Abb. 4.3.50: Dehydratation von TM bei 40°C/ 50 %rF zu TX und TA

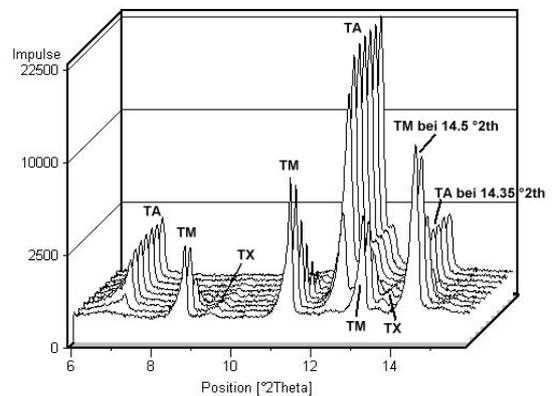


Abb. 4.3.51: Röntgenspektren der Dehydratation von TM bei 40 °C/ 50 % rF

8 ANHANG

Kristallinitätsbestimmung

	12,4		vorhergesagter Gehalt
	Höhe	Fläche	
100% krist	6913,20	816,83	95,53893899
	7039,54	860,22	100,6203302
	6898,57	825,47	96,55076707
Mean	6950,44	834,17	97,5700121
Stdev	77,51169095	22,96702056	2,689661618
rel. Stdev	1,115206061	2,753267174	2,756647827
90% krist	6290	788,02	92,16500761
	6175	804,54	94,09966038
	6261,01	776,58	90,82527228
Mean	6242,003333	789,7133333	92,36331342
Stdev	59,80961489	14,05670421	1,646176861
rel. Stdev	0,958179797	1,779975546	1,782284329
80% krist	5141,2	656,15	76,72174728
	5268,84	662,77	77,4970137
	5233,12	690,15	80,70347816
Mean	5214,386667	669,69	78,30741305
Stdev	65,84979676	18,0253932	2,110948964
rel. Stdev	1,262848365	2,691602562	2,695720471
70% krist	4719,6	603,19	70,51961588
	4623,47	586,92	68,61424054
	4838,23	626,93	73,29980091
Mean	4727,1	605,68	70,81121911
Stdev	107,5762609	20,12088716	2,356351699
rel. Stdev	2,275734824	3,322032617	3,327653059
60% krist	4181,15	543,77	63,56095562
	4066,28	547,88	64,04227661
	3823,09	505,54	59,08385057
Mean	4023,506667	532,3966667	62,2290276
Stdev	182,8220704	23,34916344	2,734414269
rel. Stdev	4,782049871	4,618657958	4,628023127
50% krist	3133,95	426,44	49,82047078
	3142,91	442,48	51,69891088
	3128,81	420,61	49,13772104
Mean	3135,223333	429,8433333	50,21903424
Stdev	7,135722341	11,32524761	1,32629671
rel. Stdev	0,227598534	2,634738456	2,641023927
40% krist	2445,75	330,26	38,55685677
	2572,27	344,73	40,25143459
	2386,12	335,82	39,20798688
Mean	2468,046667	336,9366667	39,33875942
Stdev	95,0568863	7,299344719	0,854824303
rel. Stdev	3,851502793	2,166384796	2,172982359
30% krist	1955,48	264,27	30,82878557
	1867,21	251,47	29,329781
	2106,3	260,3	30,36385994
Mean	1976,33	258,68	30,17414217
Stdev	120,900988	6,55196917	0,767299352
rel. Stdev	6,117449414	2,532847213	2,542903616
20% krist	1174,28	163,78	19,06042862
	1246,75	169,35	19,71272983
	1190,03	171,05	19,91181637
Mean	1203,686667	168,06	19,56165827
Stdev	38,11631715	3,802801599	0,445345075
rel. Stdev	3,166631168	2,26276425	2,276622305
10% krist	583,81	83,16	9,619042042
	625,73	87,78	10,160089
	597,41	77,17	8,917554749
Mean	602,3166667	82,70333333	9,565561932
Stdev	21,38640066	5,319721171	0,62299112
rel. Stdev	3,5506905	6,432293544	6,512854384
0% krist	0	0	0

Tab. 8.1: Kalibrierung 10 – 90 % kristallin über die Peakfläche des 12.4 °2θ Reflexes, XRPD klassisch

Soll-Gehalt kristallin [%]	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	Methode
Ist-Gehalt kristallin [%]	-1,52	8,48	19,5	32,07	40,77	50,22	62,79	68,89	77,38	89,02	102,34	NIRS
Ist-Gehalt kristallin [%]	-1,51	8,62	18,97	31,49	39,9	51,72	60,24	68,93	78,29	88,29	104,95	NIRS
Ist-Gehalt kristallin [%]	-1,2	8,36	19,58	33,5	40,47	51,04	61,59	69,53	77,98	88,95	102,32	NIRS
Mittelwert [%]	-1,41	8,4867	19,35	32,353	40,38	50,993	61,54	69,117	77,883	88,753	103,2	NIRS
sd [%]	<i>0,1819</i>	<i>0,1301</i>	<i>0,3315</i>	<i>1,0345</i>	<i>0,4419</i>	<i>0,7511</i>	<i>1,2757</i>	<i>0,3585</i>	<i>0,4626</i>	<i>0,4028</i>	<i>1,5127</i>	NIRS
Ist-Gehalt kristallin [%]	-0,05	9,48	19,36	30,22	40,34	50,85	61,12	71,93	80,96	88,21	100,32	XRPD PLSR
Ist-Gehalt kristallin [%]	-0,2	9,53	19,89	30,06	40,36	50,57	60,44	71,97	79,97	89,11	100,01	XRPD PLSR
Ist-Gehalt kristallin [%]	-0,08	9,9	19,4	29,78	40,61	48,72	59,57	70,64	80,92	87,12	98,18	XRPD PLSR
Mittelwert [%]	-0,11	9,6367	19,55	30,02	40,437	50,047	60,377	71,513	80,617	88,147	99,503	XRPD PLSR
sd [%]	<i>0,0794</i>	<i>0,2294</i>	<i>0,2951</i>	<i>0,2227</i>	<i>0,1504</i>	<i>1,1574</i>	<i>0,7769</i>	<i>0,7566</i>	<i>0,5604</i>	<i>0,9965</i>	<i>1,1565</i>	XRPD PLSR

Tab. 8.2: Kalibrierung 10 – 90 % kristallin: PLSR Ergebnisse *nach Kreuzvalidierung* von NIRS und XRPD

Idealer amorpher Gehalt	I_{obs}	I_{net}	I_{net}/I_{obs}	vorhergesagter amorpher Gehalt [%]
1	258812,6	179323,15	0,692868701	0,516271764
1	259257,64	178834,96	0,689796297	0,965453678
1	260259,22	179285,04	0,688871042	1,100724894
mean	259443,1533	179147,7167	0,690512013	0,860816779
Stdev	740,9377529	271,5246626	0,002092727	0,305954287
rel. Stdev.	0,285587707	0,15156468	0,303068924	35,54232388
2	251942,05	171348,66	0,680111399	2,381374469
2	259528,98	178420,95	0,687479872	1,304112253
2	248465,2	168313,86	0,677414221	2,775698627
mean	253312,0767	172694,49	0,681668497	2,15372845
Stdev	5657,697126	5186,208717	0,00521035	0,761747102
rel. Stdev.	2,233488905	3,003111864	0,764352496	35,36876257
3	261451,66	177861,58	0,680284761	2,356029114
3	259453,07	176052,29	0,678551578	2,609418458
3	255193,07	173129,77	0,678426612	2,627688239
mean	258699,2667	175681,2133	0,67908765	2,53104527
Stdev	3196,662603	2387,630601	0,001038609	0,151843464
rel. Stdev.	1,235667439	1,359069963	0,152941861	5,999239345
4	252825,04	169781,1	0,671535936	3,635097007
4	246768,98	163459,84	0,662400274	4,970720156
4	250640,63	166099,37	0,6626993	4,927002955
mean	250078,2167	166446,77	0,66554517	4,510940039
Stdev	3066,952437	3174,91686	0,00519031	0,758817212
rel. Stdev.	1,226397276	1,907466789	0,779858372	16,82170912
5	255432,13	168825,04	0,660938935	5,184366209
5	254179,22	168014,33	0,66100734	5,174365552
5	252001,58	166741,42	0,661668153	5,077755405
mean	253870,9767	167860,2633	0,661204809	5,145495722
Stdev	1735,923037	1050,319227	0,000402722	0,058877553
rel. Stdev.	0,683781604	0,625710461	0,06090737	1,144254238
6	250649,93	164102,52	0,654708022	6,095318354
6	251772,92	164971,03	0,655237386	6,017926004
6	246110,71	160832,76	0,653497607	6,272279703
mean	249511,1867	163302,1033	0,654481005	6,12850802
Stdev	2997,950601	2182,15943	0,00089183	0,130384495
rel. Stdev.	1,201529535	1,336271478	0,136265215	2,127507947
7	255815,91	166939,22	0,652575596	6,407076571
7	257101,89	168386,14	0,654939332	6,061501222
7	250920,32	161069,45	0,641914732	7,965682436
mean	254612,7067	165464,9367	0,649809887	6,811420076
Stdev	3261,705936	3874,741495	0,006938797	1,014444073
rel. Stdev.	1,281046016	2,341729657	1,067819619	14,89328307
8	253129,45	162247,88	0,640968011	8,104092012
8	254485,83	164192,92	0,645194744	7,486148503
8	256590,4	165878,59	0,646472315	7,299369092
mean	254735,2267	164106,4633	0,64421169	7,629869869
Stdev	1743,901588	1816,898413	0,002880823	0,421172907
rel. Stdev.	0,684593808	1,107146163	0,44718572	5,520053613
9	251685,99	159143,62	0,632310205	9,369853031
9	250567,41	159067,25	0,634828169	9,001729738
9	243593,23	154257,33	0,63325787	9,231305541
mean	248615,5433	157489,4	0,633465415	9,20096277
Stdev	4385,262674	2799,315177	0,001271747	0,18592795
rel. Stdev.	1,763873093	1,777462595	0,200760318	2,020744511

Tab. 8.3: Kalibrierung 1-9% amorph, XRPD klassisch über I_{net}/I_{obs}

Soll-Gehalt amorph [%]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Methode
Ist-Gehalt amorph [%]	1,07	1,76	2,98	3,88	4,96	5,18	6,84	7,85	9,67	NIRS
Ist-Gehalt amorph [%]	0,99	1,99	3,05	4,46	4,64	6,24	6,82	7,96	8,56	NIRS
Ist-Gehalt amorph [%]	1,12	1,99	2,47	3,89	4,68	6,15	6,98	8,64	8,89	NIRS
Mittelwert	1,06	1,9133	2,8333	4,0767	4,76	5,8567	6,88	8,15	9,04	NIRS
sd [%]	0,0656	0,1328	0,3166	0,332	0,1744	0,5877	0,0872	0,4279	0,57	NIRS
rsd [%]	6,1863	6,9403	11,174	8,1443	3,6629	10,035	1,2671	5,2503	6,3053	NIRS
Ist-Gehalt amorph [%]	1,31	2,22	3,17	3,82	5,1	6,58	6,89	8,23	9	XRPD Untergrund
Ist-Gehalt amorph [%]	1,12	2,38	3	3,48	4,8	5,59	6,94	8,13	9,01	XRPD Untergrund
Ist-Gehalt amorph [%]	1,28	1,83	2,26	4,2	5,32	5,57	7,09	7,94	8,82	XRPD Untergrund
Mittelwert	1,2367	2,1433	2,81	3,8333	5,0733	5,9133	6,9733	8,1	8,9433	XRPD Untergrund
sd [%]	0,1021	0,2829	0,4838	0,3602	0,261	0,5774	0,1041	0,1473	0,1069	XRPD Untergrund
rsd [%]	8,2596	13,199	17,218	9,3961	5,145	9,765	1,4926	1,8186	1,1956	XRPD Untergrund
Ist-Gehalt amorph [%]	1,42	2,59	2,69	3,89	4,77	5,34	6,82	7,91	8,85	XRPD 10-35 °2th
Ist-Gehalt amorph [%]	1,53	2,36	3,41	4,32	5,44	5,81	6,74	8,08	8,83	XRPD 10-35 °2th
Ist-Gehalt amorph [%]	1,83	2,34	2,64	4,12	4,65	5,79	7,5	7,64	8,6	XRPD 10-35 °2th
Mittelwert	1,5933	2,43	2,9133	4,11	4,9533	5,6467	7,02	7,8767	8,76	XRPD 10-35 °2th
sd [%]	0,2122	0,1389	0,4309	0,2152	0,4257	0,2658	0,4176	0,2219	0,1389	XRPD 10-35 °2th
rsd [%]	13,319	5,7171	14,789	5,2354	8,5945	4,7067	5,9489	2,817	1,5859	XRPD 10-35 °2th

Tab. 8.4: Ergebnisse *der Kreuzvalidierung* nach PLSR der NIRS, XRPD (Untergrund) und XRPD (10-35 °20) Spektren

	12,4°2 θ		vorhergesagter krist. Gehalt [%]
	Höhe	Fläche	
10% krist	8072,89	1098,9	10,87532332
	6745,89	1031,68	10,21171047
	6805,3	992,82	9,828074713
	7106,55	1010,95	10,00705866
	6792,35	1055,02	10,44212885
	7163,08	1008,86	9,986425652
Mean	7114,343333	1033,038333	10,22512028
Stdev	501,2370813	38,76286492	0,382676811
rel. Stdev	7,045444081	3,752316218	3,742516478
7% krist	5040,92	681,63	6,755928288
	5294,08	747,46	7,405818706
	4471,47	645,39	6,398157838
	4597,28	624,12	6,188175015
	4442,84	657,4	6,516723597
	4810,78	656,3	6,505864118
	4875,22	727,44	7,2081762
	4872,55	687,64	6,815260529
	4774,32	665,84	6,600045412
Mean	4797,717778	677,0244444	6,710461078
Stdev	271,6612004	39,33212495	0,38829669
rel. Stdev	5,662300557	5,809557582	5,786438305
5% krist	3552,47	522,45	5,184463048
	3519,32	476,1	4,726884119
	3734,91	467,53	4,642278911
	4017,38	515,89	5,119701068
	3967,91	494,21	4,905670622
	3778,2	481,52	4,780391731
Mean	3761,698333	492,95	4,893231583
Stdev	205,6258923	22,17577507	0,218924863
rel. Stdev	5,466304686	4,498585064	4,474034373
3% krist	1968,96	284,75	2,837828499
	1975,54	329,49	3,2795131
	2075,66	323,32	3,218601299
	2222,77	314,49	3,131429305
	1897,59	298,27	2,97130136
	1963,7	316,36	3,149890418
Mean	2017,37	311,1133333	3,098093997
Stdev	115,6787607	16,64698491	0,164343247
rel. Stdev	5,734137055	5,350778359	5,304656594
1% krist	961,66	92,69	0,941763579
	550,3	95,3	0,96753016
	851,45	96,53	0,979673031
	533,61	87,96	0,895067822
	607,96	97,17	0,985991273
	671,17	113,35	1,145724327
Mean	696,025	97,16666667	0,985958365
Stdev	173,6125036	8,609219864	0,084992397
rel. Stdev	24,94342927	8,86026058	8,62028256
0.5% krist	447,46	73,73	0,754585662
	394,73	45,58	0,476681738
	474,54	62,5	0,64372026
	257,95	38,05	0,402343673
	311,96	41,06	0,432059155
	293,77	38,05	0,402343673
	392,83	56,95	0,588929255
	420,99	76,75	0,784399866
Mean	374,27875	54,08375	0,56063291
Stdev	77,68969456	15,74292035	0,155418093
rel. Stdev	20,75717485	29,10841121	27,72189976

Tab. 8.5: Kalibrierung 1 – 10 % kristalliner Gehalt [%]; Peakfläche des 12.4 °2 θ Peaks, XRPD klassisch

	XRPD klass: Peakfläche					Summe
	12,4°2θ	16,4°2θ	18,9°2θ	19,5°2θ	19,9°2θ	12,4+16,4+18,9+19,5+19,9
1	71,03	89,79	93,45	79,34	244,24	577,85
1	80,21	84,06	100,4	233,9	237,45	736,02
1	70,79	76,33	69,13	163,05	275,44	654,74
mean	74,01	83,3933333	87,66	158,763333	252,376667	656,2033333
Stdev	5,37069828	6,75471934	16,4193879	77,3691155	20,259912	79,09515303
rel Stdev	7,25671974	8,09983133	18,7307642	48,7323577	8,02764861	12,05345188
3	157,42	150,27	186,79	419,51	646,9	1560,89
3	136,41	148,45	281,77	250,86	689,46	1506,95
3	164,44	156,57	214,78	326,21	622,78	1484,78
mean	152,756667	151,763333	227,78	332,193333	653,046667	1517,54
Stdev	14,5852745	4,26100145	48,8062506	84,4840567	33,7622827	39,14452835
rel Stdev	9,54804452	2,807662	21,4269254	25,4321951	5,16996479	2,579472591
5	233,02	297,06	329,69	650,35	958,33	2468,45
5	254,38	299,44	378,04	481,66	1024,58	2438,1
5	225,45	254,8	364,21	467,34	1162,68	2474,48
mean	237,616667	283,766667	357,313333	533,116667	1048,53	2460,343333
Stdev	15,0027742	25,1140784	24,9018801	101,779204	104,258968	19,49781099
rel Stdev	6,31385601	8,85025669	6,9691998	19,0913567	9,94334625	0,792483339
7	381,32	290,27	571,88	857,12	1487,9	3588,49
7	385,59	330,96	799,61	722,08	1851,8	4090,04
7	345,09	274,17	582,87	724,54	1704,15	3630,82
mean	370,666667	298,466667	651,453333	767,913333	1681,28333	3769,783333
Stdev	22,2526995	29,2688407	128,42505	77,2650305	183,024495	278,1568022
rel Stdev	6,00342611	9,80640183	19,7136223	10,0616863	10,8859995	7,378588573
10	513,64	416,61	698,54	1276,8	2017,72	4923,31
10	580,66	434,63	769,15	1016,02	2156,08	4956,54
10	497,96	502,55	591,16	1090,52	2211,38	4893,57
mean	530,753333	451,263333	686,283333	1127,78	2128,39333	4924,473333
Stdev	43,9257571	45,3202133	89,6257744	134,323426	99,7545113	31,5011148
rel Stdev	8,27611516	10,0429638	13,0595878	11,9104281	4,6868457	0,63968495

Tab. 8.6: Kalibrierung 1 – 10 % krist: klassisch über die Summe von fünf Peakflächen
Verwendete Optik: Hybridmonochromator

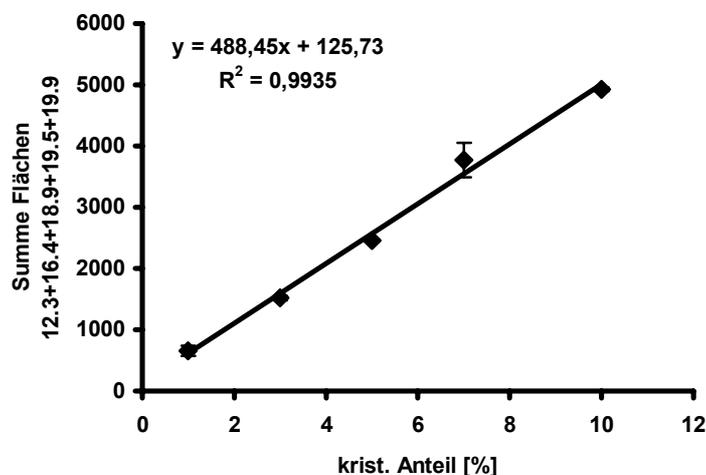


Abb. 8.1: zu Tab. 7.6 gehörige Kalibriergerade

krist. Soll-Gehalt [%]	0	0,5	1	3	5	7	10	Methode
krist. Ist-Gehalt [%]	-1,02	0,52	1,21	2,97	5,18	6,19	10,39	NIRS
krist. Ist-Gehalt [%]	-1,12	0,52	1,42	2,91	5,19	6,48	11,07	NIRS
krist. Ist-Gehalt [%]	-0,86	0,96	1,3	2,61	4,86	6,87	9,89	NIRS
Mittelwert [%]	-1	0,6667	1,31	2,83	5,0767	6,5133	10,45	NIRS
sd [%]	0,1311	0,254	0,1054	0,1929	0,1877	0,3412	0,5923	NIRS
krist. Ist-Gehalt [%]	-0,048	0,43	1,19	2,85	4,99	7,2	9,8	XRPD PLSR
krist. Ist-Gehalt [%]	-0,082	0,55	0,85	2,96	4,84	7,13	9,79	XRPD PLSR
krist. Ist-Gehalt [%]	-0,06	0,62	1,14	3,04	5,07	6,81	9,79	XRPD PLSR
Mittelwert [%]	-0,063	0,5333	1,06	2,95	4,9667	7,0467	9,7933	XRPD PLSR
sd [%]	0,0172	0,0961	0,1836	0,0954	0,1168	0,2079	0,0058	XRPD PLSR

Tab. 8.7: Kalibrierung 1 - 10 % kristallin: Ergebnisse *der Kreuzvalidierung* nach PLSR der NIRS und XRPD Spektren

Mischung/Probe	NIR	Rödiff 1-9%		
		klassisch	PLSR Untergrund	PLSR 10 - 35 °2th
	am. Gehalt	am. Gehalt	am. Gehalt	am. Gehalt
1,5	1,76	1,86	1,86	1,72
1,5	1,82	2,28	1,74	2,24
1,5	1,41	1,18	2,12	2,31
mean	1,663333333	1,773333333	1,906666667	2,09
Stdev	0,221434716	0,555097589	0,194250697	0,322335229
rel. Stdev	13,31270836	31,30249562	10,18797363	15,42273824
4,5	4,76	3,33	5,1	4,76
4,5	5,51	4,41	4,6	5,52
4,5	5,37	3,35	4,77	4,9
mean	5,213333333	3,696666667	4,823333333	5,06
Stdev	0,398789836	0,61784572	0,254230866	0,404474968
rel. Stdev	7,649421408	16,71359025	5,270854172	7,993576449
7,5	7,39	6,96	6,93	7,01
7,5	8,61	7,31	7,08	6,9
7,5	8,27	7,01	7,45	7,53
mean	8,09	7,093333333	7,153333333	7,146666667
Stdev	0,62960305	0,189296945	0,267644042	0,33650161
rel. Stdev	7,782485161	2,668659937	3,741529015	4,70851133
K - 0min	1,11	-2,14	0,89	1,25
K - 0min	1,6	-1,44	0,95	0,54
K - 0min	0,78	-2,07	1,17	0,82
mean	1,163333333	-1,883333333	1,003333333	0,87
Stdev	0,412593424	0,385529938	0,147422296	0,357631095
rel. Stdev	35,46648342	-20,47061619	14,69325208	41,1070224
K - 5min	0,36	0,17	1,14	1,27
K - 5min	0,31	-0,27	0,9	0,9
K - 5min	0,92	0,066	1,5	1,23
mean	0,53	-0,011333333	1,18	1,133333333
Stdev	0,338673884	0,229968114	0,301993377	0,203059925
rel. Stdev	63,90073291	-2029,130415	25,5926591	17,91705225
K - 10 min	1,53	-0,81	1,82	1,4
K - 10 min	1,05	-1,34	1,47	1,57
K - 10 min	1,07	-0,6	1,27	1,36
mean	1,216666667	-0,916666667	1,52	1,443333333
Stdev	0,271538825	0,381357225	0,278388218	0,111504858
rel. Stdev	22,31825957	-41,6026064	18,31501435	7,725509785
K - 20 min	0,89	-0,41	1,19	1,67
K - 20 min	1,05	-1	1,86	2,83
K - 20 min	1,07	-0,03	1,46	1,51
mean	1,003333333	-0,48	1,503333333	2,003333333
Stdev	0,098657657	0,488773976	0,337095437	0,720370275
rel. Stdev	9,832989094	-101,8279117	22,42319977	35,95858279
K - 40 min	4,21	1,57	1,91	2,92
K - 40 min	4,38	1,51	2,1	3,5
K - 40 min	3,63	1,67	2,25	3,86
mean	4,073333333	1,583333333	2,086666667	3,426666667
Stdev	0,393234451	0,080829038	0,170391706	0,474271371
rel. Stdev	9,653873589	5,104991854	8,16573669	13,84060421
K - 80min	12,56	19,16	10,9	14,31
K - 80min	11,36	20,86	12,03	14,72
K - 80min	17,43	20,36	11,63	14,64
mean	13,78333333	20,12666667	11,52	14,55666667
Stdev	3,214596916	0,873689495	0,572974694	0,217332311
rel. Stdev	23,32234764	4,340954761	4,973738663	1,493008776
K - 120min	15,57	17,73	14,1	15,85
K - 120min	15,82	15,48	14,56	15,89
K - 120min	14,55	16,05	13,99	15,28
mean	15,31333333	16,42	14,21666667	15,67333333
Stdev	0,672780301	1,169743562	0,302379453	0,34122329
rel. Stdev	4,393428173	7,123895016	2,12693636	2,177094574

Tab. 8.8: Quantifizierung geringer amorpher Gehälter in bekannten (1.5, 4.5, 7.5 %) und in unbekanntem Mischungen, die durch unterschiedlich lange Vermahlung von kristallinem Lactosemonohydrat in der Kugelmühle (K) gewonnen wurden

Proben	Optik	12,40	16,3	19	19,5	19,9	Summe	krist. Gehalt lt. Peaksumme	krist. Gehalt lt. 12.4	XRPD PLSR	NIRS
N ₂ -1	Hybrid	240,49	199,33	251,36	614,41	622,03	1927,62	3,688995803	4,567279768	3,51	2,26
N ₂ -2	Hybrid	233,02	240,73	303,64	634,03	708,72	2120,14	4,083140547	4,422652469	3,7	2,73
N ₂ -3	Hybrid	228,35	237,69	382,94	697,58	702,57	2249,13	4,3472208	4,332236205	4,02	3,09
mean		233,9533333	225,9166667	312,6466667	648,6733333	677,7733333	2098,963333	4,039785717	4,440722814	3,74333333	2,693333
sd		6,123580108	23,07484633	66,25076704	43,47565564	48,37297834	161,7977393	0,331247291	0,11855915	0,257746646	0,41621309
rsd		2,617436572	10,21387518	21,19030014	6,702241854	7,137043604	7,708459538	8,199625282	-0,038190967	6,885484745	15,4534562
Sprüh-1	Hybrid	85,2	44,71	214,87	0	633,96	978,74	1,746360938	1,560696999	2,09	0,62
Sprüh-2	Hybrid	88,96	69,8	281,07	107,82	644,74	1192,39	2,183764971	1,633494676	2,28	1,24
Sprüh-3	Hybrid	91,73	60,32	277,27	149,88	711,1	1290,3	2,384215375	1,687124879	2,6	0,82
mean		88,63	58,27666667	257,7366667	85,9	663,2666667	1153,81	2,104780428	1,627105518	2,32333333	0,893333
sd		3,277483791	12,66919229	37,17221184	77,30697511	41,77407011	159,3226936	0,326180149	0,06345564	0,257746646	0,31643851
rsd		3,697939514	21,73973396	14,42255474	89,99647859	6,298231497	13,80839944	15,4971105	-0,017271258	11,0938298	35,4222218
4%-1	Hybrid	206,4	166,49	231,64	411,44	971,61	1987,58	3,811751459	3,907260407	4,47	3,71
4%-2	Hybrid	191,91	181,07	290,51	664,93	822,06	2150,48	4,1452554	3,626718296	3,99	4,22
4%-3	Hybrid	196,5	163,1	296,7	439,68	847,57	1943,55	3,721609172	3,715585673	3,91	4,26
mean		198,27	170,22	272,95	505,35	880,4133333	2027,203333	3,89287201	3,749854792	4,12333333	4,063333
sd		7,405383177	9,548031211	35,90913672	138,9197851	80,00196268	109,0069385	0,223169083	0,143376247	0,302875112	0,30664855
rsd		3,734999333	5,609229944	13,15593945	27,48981599	9,086864051	5,377207933	5,732761883	3,823514652	7,345394788	7,54672396
6.2%-1	PDS	686,63	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	6,805558298	5,23	5,97
6.2%-2	PDS	559,79	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	5,553312272	6,31	5,54
6.2%-3	PDS	595,53	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	5,906160529	6,03	6,14
mean		613,983333	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	6,0883437	5,85666667	5,883333
sd		65,40252696	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	0,645695794	0,560475988	0,3092464
rsd		10,6521665	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	10,60544256	9,569880276	5,25631268

Tab. 8.9: kristalliner Gehalt bekannter (4 und 6.2 %) und unbekannter Mischungen für XRPD und NIRS; n.b.: nicht bestimmt

	NIR	Pdev NIR [%]	XRPD Untergrund	Pdev XRPD Ugr [%]	XRPD 10-35 °2θ	Pdev 10-35 °2θ [%]	XRPD klass.	sd Repl. [%]
Flowlac 100	6,89	0,8	1,11	0,86	-1	4,75	12,06	0,8
Granulac 70	0,96	0,71	1,86	0,8	-0,066	6,5	-4,74	0,86
Granulac 140	0,19	0,54	0,99	0,58	0,75	2,34	-3,91	0,25
Granulac 200	0,79	0,22	1,19	0,53	5,49	1,71	-0,78	0,34
Granulac 230	1,92	0,2	2,25	0,61	5,85	1,95	1,51	0,44
Sorbolac 400	3,69	0,22	0,46	0,54	3,66	0,8	5,97	0,84
Tablettose 70	0,72	0,92	-2,78	1,07	-0,38	4,77	4,55	0,44
Tablettose 80	1,37	0,8	-3,35	0,93	-3,8	4,05	4,79	0,66
Tablettose 100	1,81	0,57	-2,76	0,98	-1,34	4,72	5,92	0,22
Capsulac 60	0,75	0,94	-1,29	2,02	-13,8	8,75	-1,83	0,84
Sachelac 80	1,45	0,69	-1,46	1,07	-4,06	6,94	-4,85	0,86
Spherolac 100	0,42	0,67	-1,36	0,86	-12,6	5,67	-5,3	0,8
Prismalac 40	1	0,64	-2,5	1,44	-6,27	8,18	1,16	0,04
Inhalac 70	0,79	0,71	-1,76	1,39	-6,82	9,55	-0,35	0,8
Inhalac 120	1,26	0,71	-1,08	1,12	-9,3	6,5	-6,49	1,9
Inhalac 230	-0,046	0,82	-1,91	0,94	-14,18	5,65	-5,27	0,6

Pdev.: Deviation of Prediction

Tab. 8.10: vorhergesagter Anteil amorpher Lactose in den Lactosen der Meggle Produktpalette

XRPD klassisch					
	I_{net}	I_{obs}	I_{net}/I_{obs}	am Anteil [%]	krist. Anteil [%]
	176183,62	250602,52	0,703040097	-0,970774433	100,9707744
	176107,4	251443,15	0,700386549	-0,582828744	100,5828287
	176417,96	251204,1	0,702289334	-0,861013692	100,8610137
	176240,63	251125,04	0,701804288	-0,790100645	100,7901006
	175409,29	251215,75	0,698241611	-0,269241381	100,2692414
	174934,49	250611,5	0,698030577	-0,238388481	100,2383885
	176596,22	251064,26	0,703390518	-1,022005618	101,0220056
	175447,72	251231,34	0,698351249	-0,285270277	100,2852703
	175448,98	251134,33	0,69862603	-0,325443003	100,325443
	175980,32	251020,32	0,701060058	-0,681294972	100,681295
mean	175876,663	251065,231	0,700522031	-0,602636125	100,6026361
sd	534,83912	267,22827	0,0020912	0,30573474	0,30573474
rsd	0,30409897	0,106437787	0,298523886	-50,73289219	0,303903304

Tab. 8.11: Geräteproduzierbarkeit XRPD klassisch

XRPD klassisch					
	I_{net}	I_{obs}	I_{net}/I_{obs}	am Anteil [%]	krist. Anteil [%]
	176183,62	250602,52	0,703040097	-0,970774433	100,9707744
	174535,59	248840,32	0,701395939	-0,730400493	100,7304005
	179939,37	255310,4	0,704786683	-1,226123273	101,2261233
	176106,14	252452,6	0,697581011	-0,172662463	100,1726625
	175377,64	251119,22	0,698383979	-0,29005537	100,2900554
	175500,32	250664,26	0,700140977	-0,546926523	100,5469265
	179828,51	255087,41	0,704968191	-1,252659517	101,2526595
	178078,43	253288,67	0,703065123	-0,974433229	100,9744332
	177071,66	253312,29	0,699025144	-0,383792986	100,383793
	181995,28	256154,18	0,710491158	-2,060110833	102,0601108
mean	177461,656	252683,187	0,70228783	-0,860793912	100,8607939
sd	2427,8464	2384,3178	0,0038778	0,56693203	0,56693203
rsd	1,368096307	0,943599684	0,552168912	-65,86152855	0,562093561

Tab. 8.12: Probenpräparationseinfluß XRPD klassisch

XRPD klass.: Tagesrepro 1					
	I_{net}	I_{obs}	I_{net}/I_{obs}	am Anteil [%]	krist. Anteil [%]
	152884,57	234257,17	0,652635606	6,398303281	93,60169672
	153098,27	234979,37	0,651539197	6,558596956	93,44140304
	154616,22	236192,13	0,654620541	6,108107992	93,89189201
	165417,64	247919,69	0,66722268	4,265690051	95,73430995
	153058,27	232459,22	0,658430627	5,551077909	94,44892209
	159481,89	239665,36	0,665435714	4,526942369	95,47305763
mean	156426,1433	237578,8233	0,658314061	5,568119759	94,43188024
sd	5067,9478	5607,3337	0,0066615	0,97390975	0,97390975
rsd	3,239834288	2,360199273	1,011909522	17,49081897	1,031335757

Tab. 8.13: Reproduzierbarkeit einer Mischung aus amorpher und kristalliner Lactose Tag 1

XRPD klass.:Tagesrepro 2					
	Inet	lobs	Inet/lobs	am Anteil [%]	krist. Anteil [%]
	156436,54	238766,15	0,655187262	6,025254141	93,97474586
	150732,76	231809,45	0,650244242	6,747917902	93,2520821
	153321,89	234337,96	0,654276797	6,15836294	93,84163706
	152641,1	232758,74	0,655791056	5,936980053	94,06301995
	154410,71	235045,04	0,656940942	5,768868122	94,23113188
	152057,48	233451,81	0,65134419	6,587106781	93,41289322
mean	153266,7467	234361,525	0,653964081	6,204081656	93,79591834
sd	1981,6221	2440,4122	0,0026266	0,38400252	0,38400252
rsd	1,292923705	1,041302387	0,401639373	6,189514274	0,409402164

Tab. 8.14: Reproduzierbarkeit einer Mischung aus amorpher und kristalliner Lactose Tag 2; dieser Tag diente zur Ermittlung des Methodenfehlers

XRPD klass.:Tagesrepro 3					
	Inet	lobs	Inet/lobs	am Anteil [%]	krist. Anteil [%]
	153500,32	235497,48	0,651813005	6,518566588	93,48143341
	153189,45	234243,47	0,653975327	6,202437505	93,7975625
	153696,22	235568,66	0,652447656	6,425781314	93,57421869
	153809,45	237060,95	0,648818163	6,956408979	93,04359102
	154133,07	237216,38	0,649757281	6,819111013	93,18088899
	149475,59	230427,88	0,648687086	6,975572229	93,02442777
mean	152967,35	235002,47	0,65091642	6,649646271	93,35035373
sd	1739,2562	2498,2913	0,0021551	0,31506903	0,31506903
rsd	1,137011383	1,063091524	0,331082779	4,738132191	0,337512412

Tab. 8.15: Reproduzierbarkeit einer Mischung aus amorpher und kristalliner Lactose Tag 3

XRPD klass.:Tagesrepro 4					
	Inet	lobs	Inet/lobs	am Anteil [%]	krist. Anteil [%]
	146800	225801,89	0,650127419	6,764997191	93,23500281
	153883,78	234443,94	0,656377725	5,851209781	94,14879022
	156660,95	237105,04	0,660723829	5,215814414	94,78418559
	156953,85	238483,63	0,658132594	5,594650024	94,40534998
	153360,63	234749,61	0,653294504	6,301973118	93,69802688
	152741,73	233783,31	0,653347452	6,294232107	93,70576789
mean	153400,1567	234061,2367	0,655333921	6,003812772	93,99618723
sd	3674,032	4421,2367	0,0038259	0,55933674	0,55933674
rsd	2,395064071	1,888923091	0,583803642	9,316358795	0,595063221

Tab. 8.16: Reproduzierbarkeit einer Mischung aus amorpher und kristalliner Lactose Tag 4

XRPD: PLSR reflexfreier Untergrund						
	Tagesrepro 1	Tagesrepro 2	Tagesrepro 3	Tagesrepro 4	100% Lac Probenpräp	100% Lac Gerätereprö
	3,93	4,1	3,91	3,24	-1,22	-1,06
	3,46	3,49	3,61	3,73	-0,87	-1,07
	4,15	4,21	3,65	3,38	-0,61	-0,9
	4,93	3,77	4,07	3,17	-0,79	-1,07
	4,16	4,14	3,44	3,68	-0,78	-0,78
	3,85	4,27	3,77	3,28	-0,63	-1
					-0,51	-0,99
					-0,23	-1,18
					-0,79	-1,26
mean	4,08	3,996666667	3,741666667	3,413333333	-0,714444444	-1,034444444
sd	0,4885898	0,3031611	0,225248	0,2364459	0,271574627	0,14196048
rsd	11,97524038	7,585349206	6,019991398	6,927126165	-38,0120006	-13,72335464

Tab. 8.17: Tages-, Probepräparations- und Gerätereproduzierbarkeit von der PLSR über den reflexfreien Untergrund (XRPD)
Ermittlung des Methodenfehlers anhand Tags 2

XRPD: PLSR 10 - 35 °2θ						
	Tagesrepro 1	Tagesrepro 2	Tagesrepro 3	Tagesrepro 4	100% Lac Probenpräp	100% Lac Gerätereprö
	4,91	4,3	4,82	3,23	-0,069	-0,622
	3,97	3,88	3,95	4,32	0,25	-0,566
	4,51	4,14	4,0	4,0	0,114	-0,522
	5,08	4,08	4,45	4,03	-0,65	-0,942
	3,24	4,32	4,03	4,086	-1,29	-0,63
	4,93	4,43	3,59	4,43	-0,74	-0,495
					0,21	-0,627
					-0,795	-0,582
					-0,75	-0,622
mean	4,44	4,191666667	4,14	4,016	-0,413333333	-0,623111111
sd	0,7122359	0,198637	0,4309988	0,4211793	0,549486351	0,129104071
rsd	16,04134946	4,738855405	10,4106	10,48753229	-132,9402462	-20,71926957

Tab. 8.18: Tages-, Probepräparations- und Gerätereproduzierbarkeit von der PLSR über 10 – 35 °2θ (XRPD);
Ermittlung des Methodenfehlers anhand Tags 2

NIRS						
	Tagesrepro 1	Tagesrepro 2	Tagesrepro 3	Tagesrepro 4	100% Lac Probenpräp	100% Lac Gerätereuro
	4,54	4,03	4,11	4,47	0,93	-0,111
	5,17	4,33	4,11	4,4	0,26	-0,127
	5,35	4,76	4,56	4,33	0,66	-0,139
	5,49	3,91	4,64	4,35	0,39	-0,142
	5,08	4,23	4,43	4,45	0,65	-0,147
	4,82	4,34	4,25	4,32	0,77	-0,079
					0,67	-0,173
					0,75	-0,11
					0,87	-0,098
mean	5,075	4,26666667	4,35	4,38666667	0,661111111	-0,125111111
sd	0,3487549	0,2957476	0,2279474	0,063456	0,215142072	0,028598271
rsd	6,872018291	6,931585317	5,240169249	1,44656584	32,54249827	-22,85829841

Tab. 8.19: Tages-, Probepräparations- und Gerätereproduzierbarkeit von NIRS; Ermittlung des Methodenfehlers anhand Tags 2

Tag	XRPD			NIRS
	klass	Untergrund	10 - 35 °2th	
1	5,57	4,08	4,44	5,08
2	6,2	4	4,19	4,27
3	6,65	3,74	4,14	4,35
4	6	3,41	4,02	4,39
mean	6,105	3,8075	4,1975	4,5225
sd	0,4484417	0,3021451	0,176706	0,375
rsd	7,345483153	7,935524849	4,209790839	8,291873964

Tab. 8.20: Zusammenfassung der Tagesreproduzierbarkeit

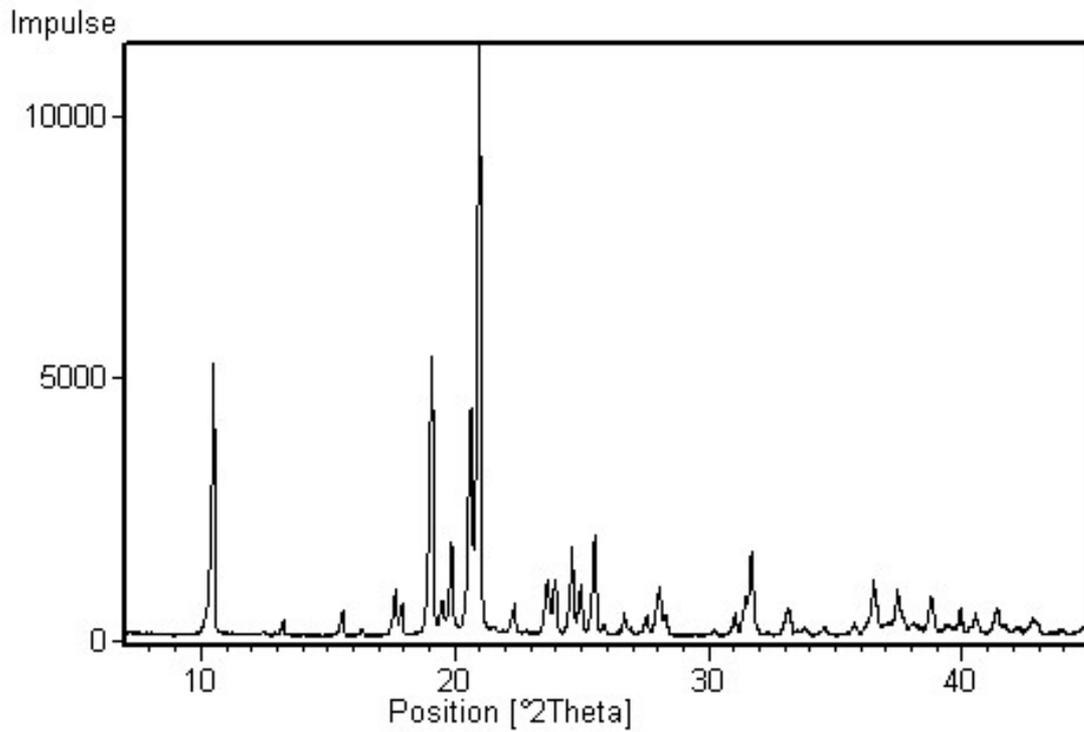


Abb. 8.2: Röntgendiffraktogramm von reiner β -Lactose

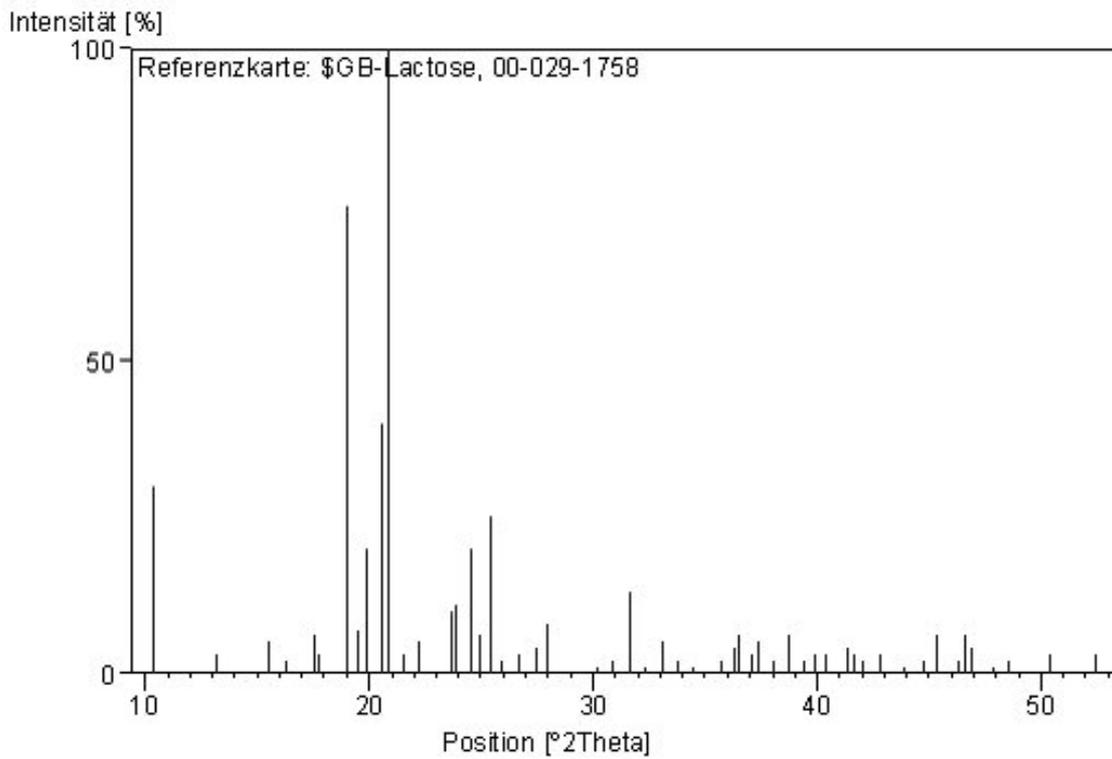


Abb. 8.3: Stickpattern von β -Lactose (PDF-2 Datenbank)

Gehaltsbestimmung in unzerstörter Tablette

Sollgehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]	Sollgehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]
9%-2	1043,69	9,071105646	12%-7	1314,35	11,63102242
9%-3	1054,44	9,172779722	12%-2	1342,99	11,90190107
9%-5	1042,15	9,056540244	12%-3	1354,03	12,00631798
mean	1046,76	9,100141871	mean	1337,123333	11,84641382
sd	6,695498488	0,063326383	sd	20,48020833	0,193702907
rsd	0,63964027	0,695883471	rsd	1,531661876	1,635118524
10%-13	1136,3	9,947015984	12.5%-1	1374,8	12,20276175
10%-15	1114,37	9,73960087	12.5%-2	1425,27	12,68010971
10%-16	1116	9,755017497	12.5%-4	1394,23	12,38653173
mean	1122,223333	9,813878117	mean	1398,1	12,4231344
sd	12,21796355	0,115558153	sd	25,45658854	0,240769777
rsd	1,088728347	1,177497335	rsd	1,820798837	1,938075927
10.5%-5	1218,68	10,72617043	13%-10	1480,21	13,19973517
10.5%-6	1212,55	10,66819257	13%-11	1439,16	12,81148208
10.5%-7	1202,22	10,57049087	13%-12	1461,58	13,02353164
mean	1211,15	10,65495129	mean	1460,316667	13,01158296
sd	8,318828042	0,078679921	sd	20,55413908	0,194402148
rsd	0,686853655	0,738435295	rsd	1,407512463	1,494069924
11%-6	1314,26	11,63017119	13.5%-4	1498,41	13,37187175
11%-5	1222,75	10,76466471	13.5%-5	1503,67	13,42162111
11%-4	1266,48	11,17826539	13.5%-6	1572,32	14,07091649
11%-fort6	1272,97	11,23964816	mean	1524,8	13,62146978
11%-7	1280,87	11,31436678	sd	41,23747931	0,390026287
11%-10	1244,45	10,96990447	rsd	2,704451686	2,863320135
mean	1266,963333	11,18283679	14%-8	1562,26	13,97576847
sd	31,39539053	0,296939284	14%-1	1554,75	13,90473848
rsd	2,478003089	2,655312691	14%-5	1542,48	13,78868817
11.5% fort7	1299,41	11,4897191	mean	1553,163333	13,88973171
11.5%-5	1271,54	11,22612314	sd	9,985000417	0,094438668
11.5%-fort9	1299,45	11,49009742	rsd	0,642881544	0,679917154
11.5%-fort8	1256	11,07914499	15%-2	1696,46	15,24503925
11.5%-7	1292,85	11,42767426	Indo 21.8 15%-3	1664,92	14,94673224
mean	1283,85	11,34255178	2_15%-3	1685,06	15,13721744
sd	19,32376904	0,182765242	mean	1682,146667	15,10966298
rsd	1,505142271	1,61132385	sd	15,97055207	0,151050336
			rsd	0,949414958	0,999693617

Tab. 8.21: XRPD Ergebnisse der Gehaltsbestimmung von mikronisiertem Indomethacin in biplanen Tabletten (13 mm)

Soll Gehalt [%]	9		10		10,5		11		11,5		12	
	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]
	637,78	9,148445462	686,26	10,01519675	726,47	10,73409258	756,43	11,26973343	776,99	11,63731607	776,04	11,62033147
	648,29	9,336348846	677,56	9,859653514	701,08	10,28015662	733,58	10,86120895	769,4	11,50161801	813,89	12,29703395
	623,13	8,886524949	674,79	9,810129977	678,98	9,885041031	755,77	11,2579336	762,81	11,38379847	773,17	11,56902008
mean	636,4	9,123773086	679,53667	9,894993415	702,17667	10,29976341	748,59333	11,12962533	769,73333	11,50757752	787,7	11,82879517
sd	12,6366412	0,225924609	5,98503411	0,107003631	23,7639861	0,424865215	13,0061152	0,232530264	7,09587439	0,126863826	22,726555	0,406317468
rsd	1,985644432	2,476219072	0,880752196	1,081391638	3,384331492	4,12499975	1,737407301	2,089291029	0,921861388	1,102437294	2,885178996	3,434986088
Soll Gehalt [%]	12,5		13		13,5		14		15			
	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]	Peakfläche	Ist-Gehalt [%]		
	824	12,47778592	857,77	13,08154399	880,22	13,48291706	924,43	14,27332702	973,85	15,15688413		
	817,14	12,35513918	866,8	13,24298715	885,72	13,58124899	907,68	13,97386158	949,16	14,71546314		
	837,75	12,72361575	868,26	13,2690898	886,09	13,58786405	897,62	13,79400354	949,7	14,72511755		
	840,51	12,77296051			895,59	13,75771012						
	853,78	13,01020864										
	790,23	11,87402785										
mean	827,235	12,53562298	864,27667	13,19787365	886,905	13,60243506	909,91	14,01373071	957,57	14,86582161		
sd	10,495191	0,187638621	5,68202722	0,101586313	3,28744582	0,058774709	13,5434006	0,242136138	14,1014786	0,252113755		
rsd	1,268707316	1,496843203	0,657431519	0,769717269	0,370664932	0,432089615	1,488432989	1,727849228	1,472631624	1,695928832		

Tab. 8.22: XRPD Ergebnisse der Gehaltsbestimmung von mikronisiertem Indomethacin in gewölbten Tabletten (13 mm)

Sollgehalt [%]	9	10	10,5	11	11,5	12	12,5	13	13,5	14	15
Istgehalt[%]	9,48	9,84	10,68	10,95	11,48	11,99	12,71	13,05	14,11	14,19	14,88
	9,51	9,9	10,16	10,62	11,4	12,02	12,62	12,71	13,72	13,99	14,86
	9,44	10,07	10,18	11,05	11,52	11,48	12,62	12,67	13,66	14,01	14,64
mean	9,47666667	9,93666667	10,34	10,8733333	11,4666667	11,83	12,65	12,81	13,83	14,0633333	14,7933333
sd	0,035118846	0,119303534	0,294618397	0,225018518	0,061101009	0,303479818	0,051961524	0,20880613	0,244335834	0,110151411	0,133166562
rsd	0,370582264	1,200639394	2,849307517	2,069452953	0,532857639	2,565340812	0,410763037	1,630024435	1,766708854	0,783252507	0,900179556
Sollgehalt [%]	8,88	9,78	10,34	11,15	11,47	11,84	12,46	13,13	13,5	13,91	14,68
Ist-Gehalt [%]	9,440	9,819	10,627	10,853	11,401	11,919	12,621	12,938	14,006	14,108	14,918
	9,468	9,875	10,115	10,518	11,317	11,956	12,538	12,604	13,617	13,901	14,903
	9,391	10,040	10,125	10,944	11,441	11,415	12,536	12,561	13,556	13,925	14,670
mean	9,433	9,911	10,289	10,772	11,386	11,763	12,565	12,701	13,726	13,978	14,830
sd	0,039	0,115	0,293	0,224	0,063	0,302	0,049	0,206	0,244	0,113	0,139
rsd	0,413	1,159	2,845	2,083	0,556	2,569	0,386	1,625	1,778	0,810	0,938

Tab. 8.23: XRPD Ergebnisse nach chemometrischer Auswertung des Indomethacingehaltes in gewölbten Tabl. mit mikronisiertem Wirkstoff (13 mm); als Y-Variable wurde entweder der theoretische oder der durch UV nachgewiesene Gehalt gewählt.

Soll-Gehalt [%]	Tabl.-masse [mg]	gefundener Wirkstoff [mg]	Ist-Gehalt [%]
9%	615,2 615,6 607,2	54,965 54,409 53,926	8,934492848 8,838369071 8,881093544
mean	612,6666667	54,43333333	8,884651821
<i>sd</i>	4,738494838	0,519927238	0,048160576
<i>rsd</i>	0,773421356	0,955163329	0,542064872
10%	655,3 655,3 650,7	63,75 64,43 63,71	9,728368686 9,832137952 9,790994314
mean	653,7666667	63,96333333	9,783833651
<i>sd</i>	2,655811238	0,404639757	0,052253913
<i>rsd</i>	0,40623228	0,632612055	0,534084238
10,50%	637,4 639,6 643	65,45 67,15 65,84	10,26827738 10,49874922 10,23950233
mean	640	66,14666667	10,33550964
<i>sd</i>	2,821347196	0,89052419	0,14209986
<i>rsd</i>	0,440835499	1,346287326	1,374870369
11%	631,8 631,3 628,2	72,57 67,61 70,71	11,48622982 10,70964676 11,25596944
mean	630,4333333	70,29666667	11,15061534
<i>sd</i>	1,950213664	2,505700168	0,398867053
<i>rsd</i>	0,309344947	3,564465126	3,57708558
11,50%	647 648,7 647,2	73,94 75,18 73,82	11,42812983 11,58933251 11,40605686
mean	647,6333333	74,31333333	11,4745064
<i>sd</i>	0,929157324	0,752949755	0,10005289
<i>rsd</i>	0,143469657	1,013209502	0,871958116
12%	673,1 677,1 672,9	78,41 81,69 79,5	11,64908632 12,06468764 11,81453411
mean	674,3666667	79,86666667	11,84276935
<i>sd</i>	2,369247419	1,670459019	0,209234406
<i>rsd</i>	0,35132926	2,091559706	1,766769236
12,50%	651,1 652,6 655,2	80,06 80,46 83,49	12,29611427 12,32914496 12,74267399
mean	652,9666667	81,33666667	12,45597774
<i>sd</i>	2,074447718	1,875535479	0,24883491
<i>rsd</i>	0,317695806	2,305891741	1,997714798
13%	644,8 647,7 645,2	83,31 83,69 87,48	12,92028536 12,92110545 13,55858648
mean	645,9	84,82666667	13,13332576
<i>sd</i>	1,571623365	2,305695846	0,368286815
<i>rsd</i>	0,243323017	2,718126194	2,804215943
13,50%	623,3 622,9 628,9	84,854 83,37 84,9	13,61366918 13,38417081 13,49976149
mean	625,0333333	84,37466667	13,49920049
<i>sd</i>	3,354598833	0,870370802	0,114750212
<i>rsd</i>	0,536707189	1,031554656	0,85005191
14%	608,8 608,5 608	86,07 84,02 83,79	14,13764783 13,80772391 13,78125
mean	608,4333333	84,62666667	13,90887391
<i>sd</i>	0,404145188	1,25524234	0,198565722
<i>rsd</i>	0,066423906	1,483270451	1,427618967
15%	658,4 654,4 649,5	95,623 93,644 98,797	14,52354192 14,3099022 15,21123941
mean	654,1	96,02133333	14,68156118
<i>sd</i>	4,457577818	2,599491168	0,470988066
<i>rsd</i>	0,68148262	2,7072017	3,208024406

Tab. 8.24: UV Ergebnisse der Gehaltsbestimmung von mikronisiertem Indomethacin in gewölbten Tabletten (13 mm)

Sollgehalt [%]	biplane Tabl., große Partikel			biplane Tabl., kleine Partikel		gewölbte Tabl., große Partikel		gewölbte Tabl., feine Partikel			
	XRPD		UV	XRPD		UV	XRPD		XRPD		UV
	Mirror-RTMS	Mirror-Mirror		PDS-RTMS			Mirror-Mirror		Mirror-RTMS	Mirror-Mirror	
12	15	14,85	11,71	11,91	11,77	12,95	11,89	11,75	11,15	11,45	
12,5	15,8	14,91	12,17	12,83	12,1	--	12,39	12,81	11,58	12,3	
13	16,8	15,86	12,77	13,08	12,85	13,64	12,99	13,08	12,69	12,31	
13,5	16,7	16,43	13,22	13,28	13,05	15,86	13,56	13,21	13,24	13,25	
14	18,1	17,57	13,9	13,69	13,94	16,07	14	13,72	14,48	13,66	
14,5	18,7	17,7	--	14,68	13,5	--	14,3	14,42	15,48	14,36	
15	19,2	18,04	--	14,99	14,86	16,7	14,57	16,01	16,28	14,75	

Tab. 8.25: quantitative Gehaltsbestimmung von Indomethacin unterschiedlicher Teilchengröße (grob / fein) in biplanen und gewölbten Tabletten (10 mm) mittels XRPD (Verwendung unterschiedlicher Optiken) und UV

	Instrument reproducibility (15% Indo Tabl; n = 6-10)			Sample packing reproducibility (n = 6-9)			Sample packing repro (n = 9)		
	biplan			biplan			gewölbt		
	Fläche des 21.8 °2θ	chemometr. Indom. [%]	klass. Indom. [%]	Fläche 21.8 °2θ	chemometr. Indom. [%]	klass. Indom. [%]	Fläche 21.8 °2th	chemometr. Indom. [%]	klass. Indom. [%]
	1656,87	15,02	14,87059491	1637,6	14,55	14,68833822	1016,25	15,65	15,91493394
	1661,75	15,29	14,91675021	1646,64	14,65	14,77383902	1000,08	15,13	15,62583806
	1658,24	15,25	14,88355244	1653,92	14,64	14,84269365	943,66	14,97	14,61713121
	1645,66	15,3	14,76457013	1631,8	14,51	14,63348151	961,98	15,27	14,94466594
	1656,59	14,94	14,86794666	1682,26	14,65	15,11073489	985,11	15,33	15,35819641
	1673,83	14,91	15,0310035	1624,83	14,81	14,56755888	1008,52	15,39	15,77673288
	1670,23		14,99695451	1681,98		15,10808664	992,32	15,59	15,48710064
	1643,68		14,74584319	1603,22		14,36317034	994,36	14,89	15,52357285
	1677,61		15,06675494	1650,27		14,80817176	972,15	14,93	15,12649062
	1683,29		15,12047669						
mean	1662,775	15,11833333	14,92644472	1645,835556	14,635	14,76623055	986,0477778	15,23888889	15,3749625
<i>sd</i>	13,2120099	0,181484618	0,124959897	25,5953385	0,103874925	0,242082082	23,16387639	0,279662495	0,414136134
<i>rsd</i>	0,794575929	1,200427417	0,837171204	1,555157708	0,709770583	1,639430462	2,349163693	1,835189541	2,693574921

Tab. 8.26: Daten zum Geräte- und Probenpräparationsfehler der biplanen und gewölbten Indomethacintabletten (13 mm) beim Röntgendiffraktometer

Sollgehalt + Tabl.-nr.		Tag 1			Tag 2		
		Fläche 21.8 °2th	klass. Indom. [%]	chemometr. Indom. [%]	Fläche 21.8 °2th	klass. Indom. [%]	chemometr. Indom. [%]
15%-5		973,85	15,15688413	14,95	968,77	15,06606118	14,59
15%-8		949,16	14,71546314	14,94	953,77	14,79788318	14,17
15%-9		949,7	14,72511755	14,71	962,91	14,96129298	14,57
mean		957,57	14,86582161	14,86666667	961,8166667	14,94174578	14,44333333
<i>sd</i>		<i>14,10147865</i>	<i>0,252113755</i>	<i>0,135769412</i>	<i>7,559532613</i>	<i>0,135153355</i>	<i>0,236924742</i>
<i>rsd</i>		<i>1,472631624</i>	<i>1,695928832</i>	<i>0,913247168</i>	<i>0,785963986</i>	<i>0,904535234</i>	<i>1,640374396</i>
Sollgehalt + Tabl.-nr.		Tag 3			Tag 4		
		Fläche 21.8 °2th	klass. Indom. [%]	chemometr. Indom. [%]	Fläche 21.8 °2th	klass. Indom. [%]	chemometr. Indom. [%]
15%-5		947,89	14,69275741	14,01	925,64	14,29496004	13,67
15%-8		937,91	14,51432964	13,44	906,29	13,94901042	13,04
15%-9		931,11	14,39275562	14,02	936,67	14,49216026	13,63
mean		938,97	14,53328089	13,82333333	922,8666667	14,24537691	13,44666667
<i>sd</i>		<i>8,44007109</i>	<i>0,150896092</i>	<i>0,332014056</i>	<i>15,37870714</i>	<i>0,274948727</i>	<i>0,352751093</i>
<i>rsd</i>		<i>0,89886483</i>	<i>1,038279606</i>	<i>2,401837877</i>	<i>1,666406177</i>	<i>1,930090925</i>	<i>2,623334848</i>

Tab. 8.27: Überprüfung der Tagesreproduzierbarkeit des Röntgendiffraktometers anhand biplaner Tabletten mit 15 % Wirkstoffgehalt

Mittelwerte		Mittelwerte	Mittelwerte	Tag
Fläche 21.8 °2th		chemometr.	klass.	
957,57		14,87	14,87	1
961,81		14,44	14,94	2
938,97		13,82	14,53	3
922,87		13,45	14,25	4
mean	945,305	14,145	14,6475	
<i>sd</i>	<i>17,94720684</i>	<i>0,632798019</i>	<i>0,319830684</i>	
<i>rsd</i>	<i>1,898562563</i>	<i>4,473651604</i>	<i>2,183517217</i>	

Tab. 8.28: Tagesreproduzierbarkeit des Röntgendiffraktometers (Forts.)

Stabilitäts- und Kompatibilitätsuntersuchungen in der THC und im Klimaschrank

TA-Gehalt [%]	7,1 °2th	12,6 °2th	Summe
100	2909,47	21039,31	23948,78
100	2746,91	20293,08	23039,99
100	2759,83	20881,17	23641
mean	2805,403333	20737,85333	23543,25667
sd	90,35560267	393,2169292	462,212219
rsd	3,220770489	1,896131306	1,96324674
75	1897,73	14709,07	16606,8
75	2052,92	14970,81	17023,73
75	1999,53	14953,5	16953,03
mean	1983,393333	14877,79333	16861,18667
sd	78,8433766	146,3747978	223,1234067
rsd	3,975176042	0,9838475	1,323295988
50	1493,75	10299,88	11793,63
50	1297,92	10893,1	12191,02
50	1159,76	10170,66	11330,42
mean	1317,143333	10454,54667	11771,69
sd	167,8227709	385,2547491	430,7192969
rsd	12,74142052	3,685044999	3,658941893
25	635,33	5498,72	6134,05
25	740,87	5510,22	6251,09
25	600,47	5610,03	6210,5
mean	658,89	5539,656667	6198,546667
sd	73,10502855	61,21574171	59,42854561
rsd	11,09517955	1,105045771	0,958749668
10	293,2	2396,92	2690,12
10	197,77	2210,84	2408,61
10	224,77	2252,52	2477,29
mean	238,58	2286,76	2525,34
sd	49,19103882	97,65103584	146,7772867
rsd	20,61825753	4,270279165	5,812179221
0	0	0	0

Tab. 8.29: Kalibrierung von TA über die **Peakhöhe** bei automatischer Divergenzblende (THC)

TM-Gehalt [%]	8,7 °2th	13,4 °2th	Summe
100	2398	3968,38	6366,38
100	2101,89	4335,85	6437,74
100	2065,35	3748,41	5813,76
mean	2188,413333	4017,546667	6205,96
sd	182,4245626	296,7902614	341,5240729
<i>rsd</i>	<i>8,335928127</i>	<i>7,387350689</i>	<i>5,503162652</i>
90	1789,44	3535,06	5324,5
90	1590,87	3515	5105,87
90	1643,62	3329,84	4973,46
mean	1674,643333	3459,966667	5134,61
sd	102,8559509	113,138468	177,2759462
<i>rsd</i>	<i>6,141961625</i>	<i>3,26992942</i>	<i>3,452568865</i>
75	1273,92	2990,98	4264,9
75	1555,45	2997,09	4552,54
75	1294,43	3077,57	4372
mean	1374,6	3021,88	4396,48
sd	156,9560668	48,32561536	145,3741559
<i>rsd</i>	<i>11,41830836</i>	<i>1,599190417</i>	<i>3,306603371</i>
50	872,64	2384,24	3256,88
50	1630,35	1948,18	3578,53
50	903,45	1948,37	2851,82
mean	1135,48	2093,596667	3229,076667
sd	428,8467695	251,704528	364,1519258
<i>rsd</i>	<i>37,76788402</i>	<i>12,02258926</i>	<i>11,27727717</i>
25	440,84	938,57	1379,41
25	439,98	903,23	1343,21
25	864,6	937,88	1802,48
mean	581,8066667	926,56	1508,366667
sd	244,9065882	20,20731798	255,3519133
<i>rsd</i>	<i>42,09415296</i>	<i>2,180896864</i>	<i>16,9290345</i>
10	115,5	452,68	568,18
10	201,4	342,56	543,96
10	184,15	271,78	455,93
mean	167,0166667	355,6733333	522,69
sd	45,44079481	91,16014553	59,07051126
<i>rsd</i>	<i>27,20734147</i>	<i>25,63030089</i>	<i>11,30125146</i>
0	0	0	0

Tab. 8.30: Kalibrierung TM über die **Peakhöhe** bei automatischer Divergenzblende

TM-Gehalt [%]	TA 7,1 °2th	TM 8,7 °2th	TA 12,6 °2th	TM 13,2 °2th
100	0	11692,67	0	11859,29
100	0	11782,89	0	11891,51
100	0	12411,86	0	12045,01
mean	0	11962,4733	0	11931,9367
sd	0	391,785904	0	99,240698
rsd	0	3,27512457	0	0,8317233
90	1413,34	8832,35	7019,7	9737,71
90	1525,51	8732,96	7386,23	9764,42
90	1643,43	9199,52	7812,74	9945,2
mean	1527,42667	8921,61	7406,22333	9815,77667
sd	115,056974	245,754083	396,897859	112,876727
rsd	7,53273308	2,75459343	5,35897773	1,14995207
75	3864,88	7835,22	16175,32	8378,15
75	3792,07	8121,58	16314,02	8211,22
75	4148,82	7849,35	16877,62	8545,31
mean	3935,25667	7935,38333	16455,6533	8378,22667
sd	188,500125	161,405741	371,956077	167,045013
rsd	4,79003381	2,03400055	2,26035436	1,99379916
50	7478,42	5055,15	30916,83	5484,11
50	8518,86	5158,96	32009,32	5806,36
50	8421,07	4730,75	32051,55	5563,71
mean	8139,45	4981,62	31659,2333	5618,06
sd	574,553058	223,374006	643,286775	167,85919
rsd	7,05886833	4,48396318	2,03190889	2,98784971
25	11103,07	2217,95	44812,92	2484,38
25	10550,02	2267	44559,51	2379,7
25	11376,03	2312,26	45060,32	2613,52
mean	11009,7067	2265,73667	44810,9167	2492,53333
sd	420,845178	47,1676906	250,41101	117,123037
rsd	3,8224922	2,08178167	0,55881698	4,69895568
10	10475,99	827,18	48609,76	1017,98
10	13478,73	928,74	52283,2	975,74
10	12698,59	866,03	51739,82	967,92
mean	12217,77	873,983333	50877,5933	987,213333
sd	1558,04454	51,2450001	1982,70433	26,9300749
rsd	12,7522824	5,86338413	3,89700889	2,72788808
0	11689,64	0	55552,11	0
0	11446,59	0	55616,7	0
0	13498,47	0	57750,41	0
mean	12211,5667	0	56306,4067	0
sd	1121,09699	0	1250,96051	0
rsd	9,18061559	0	2,2217019	0

Tab. 8.31: Kalibrierung von TA und TM über die **Peakhöhe** bei fester Divergenzblende (sample changer)

TM-Anteil [%]	TA 7,1 °2 th	TM 8,9 °2 th	TA 12,6 °2 th	TM 13,2 °2 th	Summe 7,1 + 12,6	Summe 8,7 + 13,2
100	0	223,08	0	491,7	0	714,78
100	0	229,15	0	507,12	0	736,27
100	0	212,13	0	478	0	690,13
mean	0	221,453333	0	492,273333	0	713,726667
Stdev		8,625812		14,568464		23,088028
rel.Stdev		3,89509244		2,95942572		3,23485572
90	24,76	194,21	259,31	417,92	284,07	612,13
90	27,76	190,78	271,32	416,3	299,08	607,08
90	29,29	207,43	284,48	437,63	313,77	645,06
mean	27,27	197,473333	271,703333	423,95	298,973333	621,423333
Stdev	2,3044088	8,7916229	12,589378	11,874885	14,850287	20,625097
rel.Stdev	8,45034403	4,45205576	4,63350142	2,80101079	4,96709427	3,31900913
75	70,8	169,14	666,28	353,87	737,08	523,01
75	88,17	180,87	680,33	370,88	768,5	551,75
75	73,72	154,39	695,37	381,47	769,09	535,86
mean	77,5633333	168,133333	680,66	368,74	758,223333	536,873333
Stdev	9,300948	13,268671	14,547807	13,92389	18,31304	14,396772
rel.Stdev	11,9914238	7,89175523	2,13730899	3,77607245	2,41525672	2,68159559
50	138,01	103,54	1300,54	231,39	1438,55	334,93
50	160,06	137,31	1387,77	227,53	1547,83	364,84
50	171,79	106,64	1329,68	265,36	1501,47	372
mean	156,62	115,83	1339,33	241,426667	1495,95	357,256667
Stdev	17,150723	18,66669	44,408446	20,816537	54,848723	19,66409
rel.Stdev	10,9505319	16,1155915	3,31572101	8,62230249	3,66648102	5,50419118
25	233,9	58,83	1923,37	92,09	2157,27	150,92
25	280,58	71,26	2089,52	95,95	2370,1	167,21
25	249,19	67,36	1986,24	99,85	2235,43	167,21
mean	254,556667	65,8166667	1999,71	95,9633333	2254,26667	161,78
Stdev	23,798244	6,3570932	83,890025	3,8800172	107,6581	9,4050359
rel.Stdev	9,34889848	9,65878929	4,19510954	4,04322885	4,77574836	5,81347255
10	219,27	17,91	2100,61	54,56	2319,88	72,47
10	235,63	19,28	2167,4	44,85	2403,03	64,13
10	186,69	16,27	2017,03	41,61	2203,72	57,88
mean	213,863333	17,82	2095,01333	47,0066667	2308,87667	64,8266667
Stdev	24,913951	1,5070169	75,341066	6,7389935	100,10956	7,3199066
rel.Stdev	11,6494727	8,45688508	3,59620938	14,3362505	4,33585568	11,2915055
0	318,64	0	2700,79	0	3019,43	0
0	314,82	0	2610,33	0	2925,15	0
0	304,61	0	2694,31	0	2998,92	0
mean	312,69	0	2668,47667	0	2981,16667	0
Stdev	7,253475		50,460616		57,7140907	
rel.Stdev	2,31970163		1,89098958		4,21069121	

Tab. 8.32: Kalibration TM-TA über die **Peakfläche** bei automatischer Divergenzblende (THC)

TM-Anteil [%]	TA 7,1°20	TM 8,9 °20	TA 12,6 °20	TM 13,4 °20	Summe 8.7+13.2	Summe 7.1+12.6
100	0	1363,57	0	1648,32	3011,89	0
100	0	1374,3	0	1656,04	3030,34	0
100	0	1404,97	0	1625,15	3030,12	0
mean	0	1380,946667	0	1643,17	3024,116667	0
Stdev		21,4854284		16,07606606	10,58917529	0
rel.Stdev		1,555847805		0,978356838	0,350157631	0
90	169,84	1119,14	971,61	1387,81	2506,95	1141,45
90	191,74	1106,99	1015,18	1364,48	2471,47	1206,92
90	200,09	1137,76	1057,9	1374,12	2511,88	1257,99
mean	187,2233333	1121,296667	1014,896667	1375,47	2496,766667	1202,12
Stdev	15,62260648	15,49795578	43,14569774	11,72344233	22,04579854	58,4180871
rel.Stdev	8,344369372	1,382145889	4,251240462	0,852322648	0,882973921	4,859588651
75	472,02	990,96	2227,48	1167,75	2158,71	2699,5
75	466,3	1000,5	2254,12	1133,28	2133,78	2720,42
75	497,59	973,87	2307,01	1152,27	2126,14	2804,6
mean	478,6366667	988,4433333	2262,87	1151,1	2139,543333	2741,506667
Stdev	16,66136949	13,49219898	40,48057682	17,2647589	17,03271069	55,63261753
rel.Stdev	3,481005667	1,364994687	1,788904216	1,499848745	0,796090942	2,029271649
50	953,62	654,82	4454,53	734,39	1389,21	5408,15
50	1062,57	639,85	4463,63	765,31	1405,16	5526,2
50	1045,42	622,09	4537,48	741,77	1363,86	5582,9
mean	1020,536667	638,92	4485,213333	747,1566667	1386,076667	5505,75
Stdev	58,58251303	16,38480699	45,49237116	16,14849013	20,82752586	89,15179471
rel.Stdev	5,740363374	2,564453607	1,014274412	2,161325843	1,502624376	1,619248871
25	1442,05	293,48	6580,53	268,26	561,74	8022,58
25	1391,75	305,41	6595,27	264,5	569,91	7987,02
25	1492,11	301,54	6583,2	278,58	580,12	8075,31
mean	1441,97	300,1433333	6586,333333	270,4466667	570,59	8028,303333
Stdev	50,18004783	6,086397402	7,853676422	7,290249196	9,208849005	44,42238662
rel.Stdev	3,479964758	2,027830282	0,119242013	2,695632853	1,613916999	0,553322225
10	1458,15	105,36	7588,11	65,73	171,09	9046,26
10	1813,84	132,21	7845,01	63,17	195,38	9658,85
10	1710,24	117,06	7802,8	56,44	173,5	9513,04
mean	1660,743333	118,21	7745,306667	61,78	179,99	9406,05
Stdev	182,937924	13,46189065	137,7625313	4,798447666	13,38249229	320,0027689
rel.Stdev	11,01542426	11,38811493	1,778658189	7,766992013	7,435131004	3,402095129
0	1557,52	0	8740,99	0	0	10298,51
0	1520,73	0	8780,8	0	0	10301,53
0	1761,31	0	8925,79	0	0	10687,1
mean	1613,186667	0	8815,86	0	0	10429,04667
Stdev	129,5907691		97,26079734	0	0	223,4858435
rel.Stdev	8,03321598		1,10324798	0	0	2,142917283

Tab. 8.33: Kalibrierung von TA und TM über die **Peakfläche** bei fester Divergenzblende (sample changer)

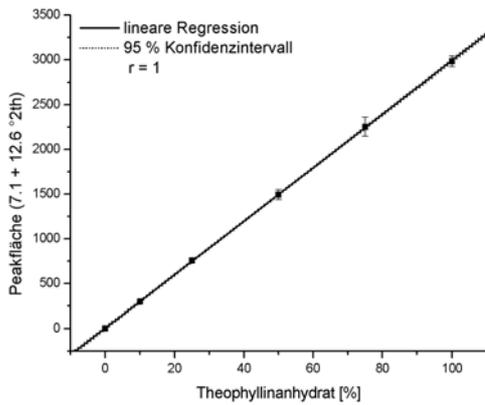


Abb. 8.4: Kalibrierkurve von TA über die Peakflächen des 7.1 und 12.6er Reflexes, THC

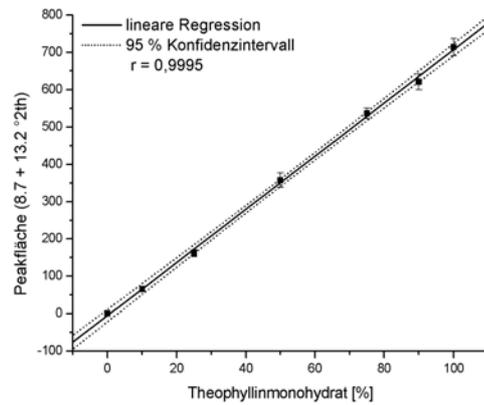


Abb. 8.5: Kalibrierkurve von TM über die Peakfläche des 8.7 und 13.2er Reflexes, THC

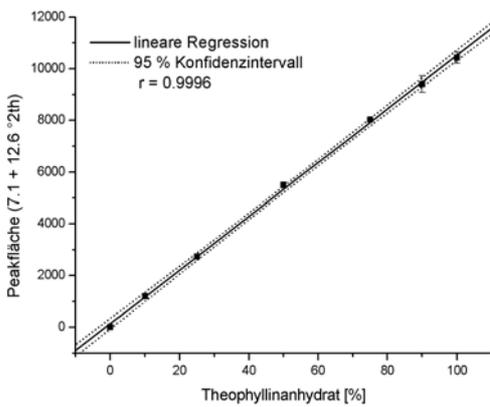


Abb. 8.6: Kalibrierkurve von TA über die Peakflächen des 7.1 und 12.6er Reflexes, Sample Changer

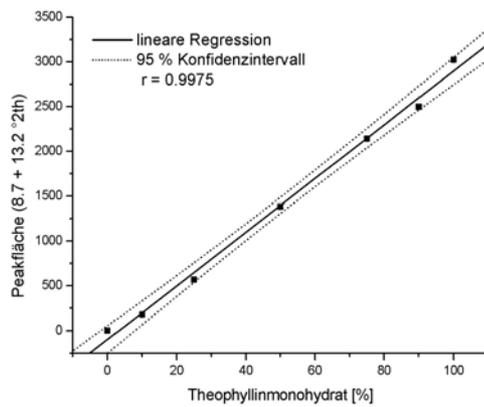


Abb. 8.7: Kalibrierkurve von TM über die Peakflächen des 8.7 und 13.2er Reflexes, Sample Changer

rF (%)	TA (%)	TM (%)	TX (%)
10	100	0	0
20	100	0	0
30	100	0	0
40	100	0	0
50	100	0	0
60	100	0	0
70	100	0	0
80	70,93	29,07	0
90	66,55	29,45	4

Tab. 8.34: Feuchtegradient Theophyllinhydrat

rF (%)	TM (%)	TA (%)	TX (%)
90	100	0	0
80	100	0	0
70	100	0	0
60	100	0	0
50	100	0	0
40	100	0	0
30	94,53	0	5,47
20	41,81	0,3	57,9
10	44,42	4,22	51,36

Tab. 8.35: Feuchtegradient Theophyllinmonohydrat

Temp. (°C)	TM (%)	TA (%)	TX (%)
25	98,20582198	0	0
40	99,6796044	0	0
50	86,5279903	0	13,4720097
60	27,74911364	45,37632374	26,87456262
70	0	77,91810245	22,08189755
80	0	79,3707798	20,6292202
90	0	81,74146001	18,25853999
100	0	83,6674966	16,3325034
110	0	87,02725492	12,97274508
120	0	89,4604787	10,5395213

Tab. 8.36: Temperaturscan TM 25 – 120 °C; die Temperatur wurde nur während des Scans gehalten

Temp. (°C)	TA (%)	TM (%)
25	0	100
40	0,3	99,7
50	75,4	24,6
60	99,1	0,9
70	100	0
80	100	0
90	100	0
100	100	0
110	100	0
120	100	0

Tab. 8.37: Temperaturscan TM 25 – 120 °C; die Temperatur wurde zusätzlich zur Scanzeit noch 15 min gehalten

Zeit [min]	TM 40°C	TM 45°C	TM 50°C	TM 55°C	TM 60°C	TA 40°C	TA 45°C	TA 50°C	TA 55°C	TA 60°C
0	1	1	1	1	0,958	0	0	0	0	0,042
10	--	--	--	0,972	--	--	--	--	0,028	--
20	--	--	--	0,878	--	--	--	--	0,122	--
30	0,992	--	0,943	0,707	0,21	0,008	--	0,057	0,293	0,79
40	--	--	--	0,488	--	--	--	--	0,512	--
50	--	--	--	0,319	--	--	--	--	0,681	--
60	0,965	0,966	0,709	0,157	0,004	0,035	0,034	0,291	0,843	0,996
70	--	--	--	0,074	--	--	--	--	0,926	--
80	--	--	--	0,018	--	--	--	--	0,982	--
90	0,91	--	0,316	1,00E-03	0	0,09	--	0,684	0,999	1
100	--	--	--	0	--	--	--	--	1	--
120	0,844	0,847	0,073	--	--	0,156	0,154	0,927	--	--
150	0,764	--	0,02	--	--	0,236	--	0,98	--	--
180	0,673	0,602	0,0025	--	--	0,327	0,398	0,9975	--	--
210	0,571	--	0	--	--	0,429	--	1	--	--
240	0,478	0,336	0	--	--	0,522	0,664	1	--	--
270	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
300	0,276	0,13	--	--	--	0,724	0,87	--	--	--
330	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
360	0,155	0,024	--	--	--	0,845	0,976	--	--	--
390	--	0	--	--	--	--	1	--	--	--
420	0,098	--	--	--	--	0,902	--	--	--	--
480	0,058	--	--	--	--	0,942	--	--	--	--
540	0,029	--	--	--	--	0,971	--	--	--	--
600	0,015	--	--	--	--	0,985	--	--	--	--

Tab. 8.38: Auflistung der TM sowie der TA Anteile während der Dehydratation von TM bei verschiedenen Temperaturen. Die Berechnung der Anteile erfolgt nach dem Prinzip des Autoflushings über die Peakflächen des 8,7er (TM) und 12.6er (TA) Reflex (nach Umrechnung der automatischen in eine feste Divergenzblende)

Zeit [min]	[-ln(1-x)] ^{0.25}				
	TM 40°C	TM 45°C	TM 50°C	TM 55°C	TM 60°C
0	1,3517	1,6035	1,5591	1,5749	1,3352
10	--	--	--	1,3736	--
20	--	--	--	1,2044	--
30	1,2461	--	1,3005	1,0524	0,6969
40	--	--	--	0,9043	--
50	--	--	--	0,7877	--
60	1,1676	1,3572	1,0538	0,6424	0,2499
70	--	--	--	0,5257	--
80	--	--	--	0,3689	--
90	1,0962	--	0,7847	0,1819	--
120	1,0282	1,1698	0,5255	--	--
150	0,9591	--	0,3766	--	--
180	0,8981	0,9797	0,2233	--	--
240	0,7539	0,7997	--	--	--
300	0,6408	0,611	--	--	--
360	0,567	0,393	--	--	--

Tab. 8.39: nach Avrami Erofeev linearisierte Daten der TM Anteile (x) aus Tab. Für die Berechnung des Dehydratationsmechanismus wurden nur Werte zwischen 5 und 95% herangezogen, die auf den Zeitpunkt null als gemeinsamen Ausgangspunkt bezogen wurden

T (°C)	1/T (K)	k (min)	ln k
40	3,20E-03	0,0022	6,11929792
45	3,15E-03	0,0033	5,71383281
50	3,10E-03	0,0076	4,87960703
55	3,05E-03	0,0147	4,21990779
60	3,00E-03	0,0181	4,01184334

Tab. 8.40: die sich aus der Linearisierung (s.o.) ergebenden Geschwindigkeitskonstanten k werden als natürlicher Logarithmus gegen 1/T(K) aufgetragen, um den Arrhenius-Plot zu erhalten

Zeit (h)	rF (%)	TA (%)	TM (%)	TX (%)
0	10	0	100	0
0,5	10	0	81,39773333	18,60226667
1	10	0	50,52923333	49,47076667
3,5	10	5,25819601	39,31823333	55,42357066
4	10	6,003555941	34,83823333	59,15821073
4,5	10	7,169037294	31,02773333	61,80322937
5	10	8,55320902	28,46506667	62,98172431
5,5	10	11,11630529	22,99273333	65,89096138
6,5	10	13,50490026	18,68856667	67,80653307
7,5	10	15,84418907	15,9539	68,20191093
8,5	10	18,82367736	11,91856667	69,25775597
9,5	10	21,80516045	8,562733333	69,63210622
10,5	10	24,79843886	7,858733333	67,34282781
13,5	10	31,90424978	0	68,09575022
15,5	10	35,09856895	0	64,90143105
17,5	10	39,02675629	0	60,97324371
19,5	10	41,08577624	0	58,91422376
21,5	10	43,24874241	0	56,75125759
23,5	10	46,64991327	0	53,35008673
25,5	10	49,29032958	0	50,70967042
28,5	10	52,74349523	0	47,25650477
30,5	10	52,786817	0	47,213183
32,5	10	55,19475282	0	44,80524718
34,5	10	58,165915	0	41,834085
36,5	10	59,85923677	0	40,14076323
38,5	10	61,33135299	0	38,66864701
40,5	10	60,54557676	0	39,45442324
43,5	10	58,77	0	41,23
46,5	10	65,09032958	0	34,90967042
47,5	10	65,17914137	0	34,82085863
49,5	10	67,76058109	0	32,23941891
51,5	10	69,52406765	0	30,47593235
53,5	10	71,44865568	0	28,55134432
54,5	90	50,14	49,86	0
55,5	90	11,26	88,74	0
56,5	90	6,81	93,19	0
57,5	90	5,25	94,75	0
58,5	90	4,5	95,5	0
59,5	90	3,91	96,1	0
60,5	90	3,83	96,17	0
61,5	90	3,46	96,54	0
62,5	90	3,28	96,72	0
63,5	90	3,21	96,78	0
64,5	90	3,32	96,68	0

Tab. 8.41: TM Dehydratation bei 25 °C und 10 % rF und anschließende Hydratation bei 90 % rF

Zeit (min)	TA (%)	TM (%)
0	0	100
3120	0,1236671	99,8763329
3960	0,22630563	99,7736944
4260	0,44236765	99,5576323

Tab. 8.42: Dehydratation von TM bei 25 °C und 50 % rF

Zeit (min)	TA (%)	TM (%)	TX (%)
0	0	100	0
50	0	100	0
100	0	100	0
150	0	100	0
200	0	100	0
210	0,21373138	99,7862686	0
315	1,11037015	98,8896298	0
420	2,27748163	97,7225184	0
485	3,27152842	96,7284716	0
550	4,74816722	95,2518328	0
680	7,06587333	92,9341267	0
745	9,11661794	90,8833821	0
875	13,1241416	86,8758584	0
1005	18,0037176	81,9962824	0
1070	19,3958629	80,6041371	0
1200	23,9311816	76,0688184	0
1290	27,775138	72,224862	0
1395	30,9657457	69,0342543	0
1520	35,2717653	64,7282347	0
1580	38,3202038	61,6797962	0
1760	44,5026244	55,4973756	0

Tab. 8.43: Dehydratation von TM bei 25 °C und 30 % rF

Zeit (min)	TA (%)	TM (%)	TX (%)
0	0	100	0
35	0	81,39773333	18,60226667
70	0	50,52923333	49,47076667
245	5,25819601	39,31823333	55,42357066
280	6,003555941	34,83823333	59,15821073
315	7,169037294	31,02773333	61,80322937
350	8,55320902	28,46506667	62,98172431
415	11,11630529	22,99273333	65,89096138
480	13,50490026	18,68856667	67,80653307
545	15,84418907	15,9539	68,20191093
610	18,82367736	11,91856667	69,25775597
675	21,80516045	8,562733333	69,63210622
740	24,79843886	7,858733333	67,34282781
935	31,90424978	0	68,09575022
1135	35,09856895	0	64,90143105
1265	39,02675629	0	60,97324371
1395	41,08577624	0	58,91422376
1525	43,24874241	0	56,75125759
1655	46,64991327	0	53,35008673
1785	49,29032958	0	50,70967042
1985	52,74349523	0	47,25650477
2115	52,786817	0	47,213183
2245	55,19475282	0	44,80524718
2375	58,165915	0	41,834085
2505	59,85923677	0	40,14076323
2635	61,33135299	0	38,66864701
2830	58,77	0	41,23
3160	65,09032958	0	34,90967042
3225	65,17914137	0	34,82085863
3355	67,76058109	0	32,23941891
3485	69,52406765	0	30,47593235
3615	71,44865568	0	28,55134432

Tab. 8.44: Dehydratation von TM bei 25 °C und 10 % rF

Zeit [min]	TA (%)	TM (%)	TX (%)
0	0	100	0,5
35	18,0843814	81,9156186	0,5
70	69,5904598	30,4095402	0
105	94,1823473	5,81765267	0
140	97,8367115	2,16328849	0
175	100	0	0
210	100	0	0

Tab. 8.45: Dehydratation von TM bei 40 °C und 50 % rF

Zeit (min)	TA (%)	TM (%)	TX (%)
0	0	104,173039	0
1	0	85,9677656	14,0322344
15	2,32476149	64,2903763	33,3848622
30	17,3859931	43,6883563	38,9256507
45	48,8759757	19,9628988	31,1611255
60	70,0724198	2,5469849	27,3805953
75	76,3781006	0	23,6218994
90	77,8964441	0	22,1035559
105	79,8074154	0	20,1925846
150	80,1502168	0	19,8497832
195	81,2682134	0	18,7317866
240	83,2083261	0	16,7916739
285	84,2592801	0	15,7407199
330	85,6771032	0	14,3228968
375	86,1650911	0	13,8349089
435	86,8202949	0	13,1797051

Tab. 8.46: Dehydratation von TM bei 40 °C und 30 % rF

Zeit (min)	TA (%)	TM (%)	TX (%)
0	0	104,173039	0
1	0	81,4737825	18,5262175
16	0	60,8017601	39,1982399
31	4,11869037	33,9116971	61,9696126
46	18,7475282	24,9457315	56,3067403
61	36,7611448	9,44354812	53,795307
76	43,8822637	0	56,1177363
91	46,5003036	0	53,4996964
136	52,4820902	0	47,5179098
166	50,373634	0	49,626366
181	53,0861232	0	46,9138768
211	57,6565481	0	42,3434519
241	58,5847788	0	41,4152212
271	60,2389419	0	39,7610581
301	60,5207285	0	39,4792715
316	61,5215525	0	38,4784475
346	62,4464007	0	37,5535993
376	64,2000867	0	35,7999133
406	64,6595403	0	35,3404597
436	66,8173027	0	33,1826973
466	66,6474848	0	33,3525152
511	68,3536427	0	31,6463573
556	69,3629662	0	30,6370338
571	69,3900694	0	30,6099306

Tab. 8.47: Dehydratation von TM bei 40 °C und 10 % rF

Zeit (h)	rF (%)	TA (%)	TM (%)	TX (%)
0	95	100	0	0
0,5	95	98,3	1,7	0
1	95	89,4	10,6	0
1,5	95	69,5	30,5	0
2	95	46,5	53,5	0
2,5	95	28,2	71,8	0
3	95	15,4	84,6	0
4	95	8,3	91,7	0
5	95	4,2	95,8	0
6	95	2,4	97,6	0
7	95	1,7	98,3	0
8	95	0,7	99,3	0
9	95	0,4	99,5	0
10	95	0,3	99,7	0
11	95	0,1	99,9	0
12	95	0	100	0
13	95	0	100	0
14	95	0	100	0
15	95	0	100	0
16	95	0	100	0
17	95	0	100	0
18	10	2,97	21,96	75,07
19	10	3	0	97
20	10	4,35	0	95,65
22	10	8,07	0	91,93
23	10	10	0	90
24	10	11,9	0	88,1
25	10	13,8	0	86,2
26	10	15,23	0	84,77
28	10	19,1	0	80,9
30	10	21,8	0	78,2
32	10	25,1	0	74,9
35	10	28,6	0	71,4
38	10	30,9	0	69,1
42	10	35,4	0	64,6
44	10	38,9	0	61,1
46	10	41,6	0	58,4
48	10	45,2	0	54,8
50	10	47,3	0	52,7
52	10	49,4	0	50,6
54	10	53	0	47
56	10	52,9	0	47,1
58	10	54,7	0	45,3
60	10	55,7	0	44,3
62	10	58	0	42
64	10	62,1	0	37,9
66	10	66,1	0	33,9

Tab. 8.48: Hydratation von TA bei 95 % rF und 25 °C; anschließende Dehydratation des gebildeten TM bei 10 % rF

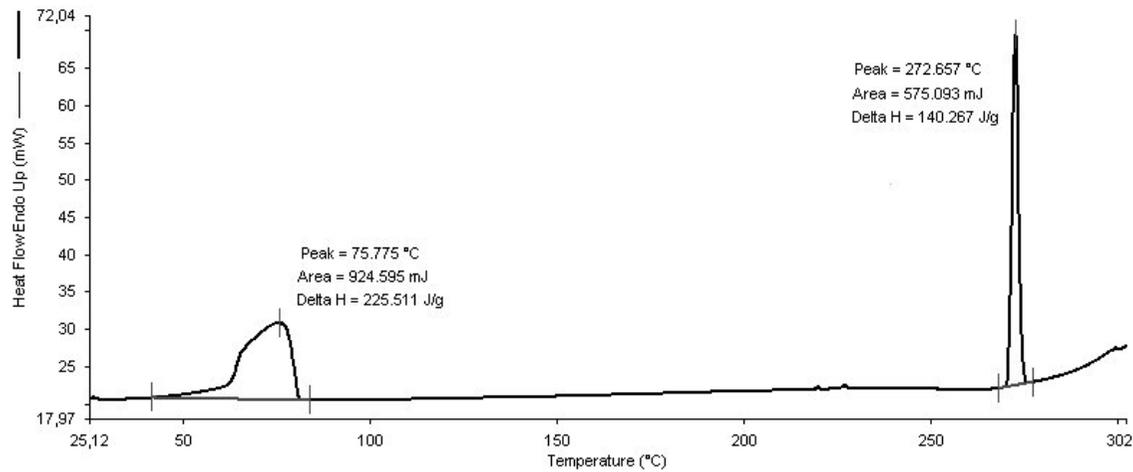


Abb. 8.8: DSC Thermogramm von frisch hydratisiertem TA, d.h. frisch gebildetem TM: der Kristall-wasserverlust findet im Vergleich zu nativem TM früher statt

203

Zeit (min)	TM 1 (%)	TM 2 (%)	TM 3 (%)	mean	sd	TA 1 (%)	TA 2 (%)	TA 3 (%)	mean	sd	Avrami (TA 1)	Avrami (TA 2)	Avrami (TA 3)
0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	--	--	--
30	0,018144	0	0	0,006048	0,010475	0,981856	1	1	0,993952	0,010475	1,415047142	--	--
60	0,047191	0,068981	0	0,038724	0,035261	0,952809	0,931019	1	0,961276	0,035261	1,321908569	1,278754237	--
90	0,12136	0,16373	0,029386	0,104825	0,068681	0,87864	0,83627	0,970614	0,895175	0,068681	1,205088299	1,159823269	1,370435953
120	0,224871	0,268464	0,058095	0,18381	0,111033	0,775129	0,731536	0,941905	0,81619	0,111033	1,105245279	1,070864834	1,298811256
150	0,341277	0,417655	0,101396	0,286776	0,165024	0,658723	0,582345	0,898604	0,713224	0,165024	1,018259043	0,966642303	1,229980668
180	0,469148	0,547315	0,180498	0,398987	0,193211	0,530852	0,452685	0,819502	0,601013	0,193211	0,932718744	0,881111367	1,143873615
210	0,633946	0,676143	0,281971	0,530687	0,216425	0,366054	0,323857	0,718029	0,469313	0,216425	0,821658618	0,790936003	1,060728239
240	0,749221	0,784212	0,398362	0,643932	0,213388	0,250779	0,215788	0,601638	0,356068	0,213388	0,733026831	0,702158646	0,979475097
270	0,839544	0,878118	0,521609	0,746424	0,195649	0,160456	0,121882	0,478391	0,253576	0,195649	0,646688307	0,600432098	0,898189945
300	0,946034	0,934484	0,647896	0,842805	0,168895	0,053966	0,065516	0,352104	0,157195	0,168895	0,485320367	0,510204384	0,811668541
360	0,984696	0,98137	0,831389	0,932485	0,087567	0,015304	0,01863	0,168611	0,067515	0,087567	0,352403167	0,370316143	0,655528436
420	0,996169	0,996031	0,937451	0,97655	0,033861	0,003831	0,003969	0,062549	0,02345	0,033861	0,248910355	0,251123901	0,504130432
480	1	0,999246	0,976768	0,992005	0,013201	0	0,000754	0,023232	0,007995	0,013201	--	0,165702331	0,391556725
540	1	1	0,991249	0,997083	0,005052	0	0	0,008751	0,002917	0,005052	--	--	0,306187705
600	1	1	0,996246	0,998749	0,002167	0	0	0,003754	0,001251	0,002167	--	--	0,247642271
660	1	1	0,998228	0,999409	0,001023	0	0	0,001772	0,000591	0,001023	--	--	0,205213756

Tab. 8.49: Reproduzierbarkeitsuntersuchungen anhand der Hydratation von TA bei 95 %iger Feuchte

Inkompatibilitätsuntersuchungen TM + DPCA (Emcompressanhydrat[®] bzw. Fujicalin[®])

Untersuchungen im Klimaschrank

25 °C / 2 % rF

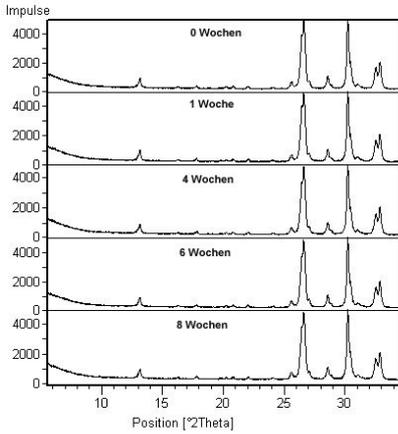


Abb. 8.9: DPCA

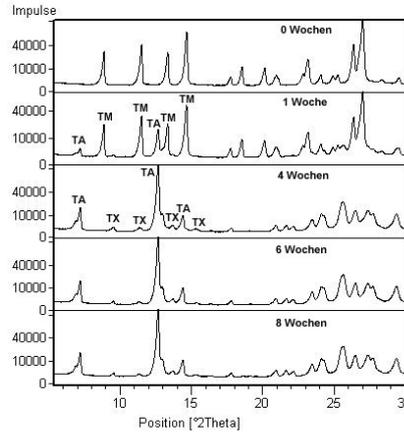


Abb. 8.10: TM

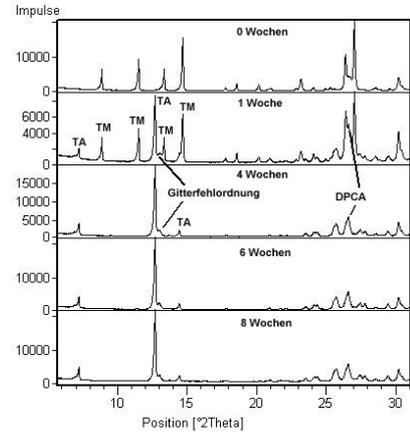


Abb. 8.11: TM + DPCA

25 °C / 60 % rF

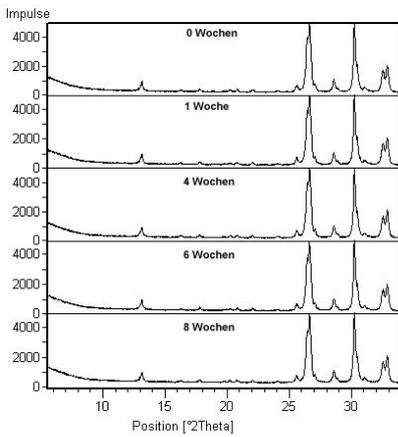


Abb. 8.12: DPCA

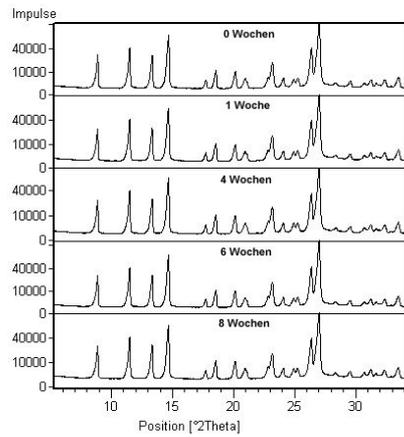


Abb. 8.13: TM

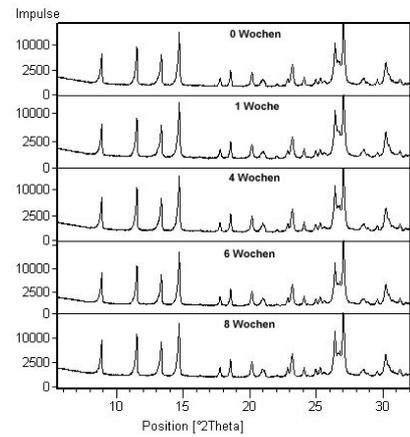


Abb. 8.14: TM + DPCA

40 °C / 75 % rF

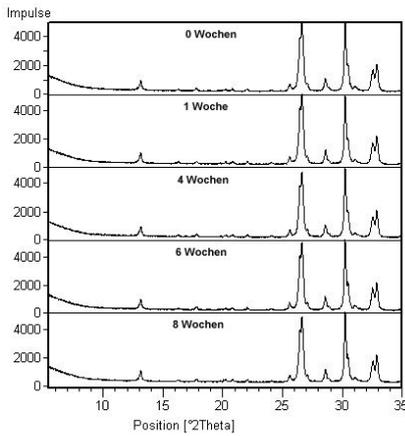


Abb. 8.15: DPCA

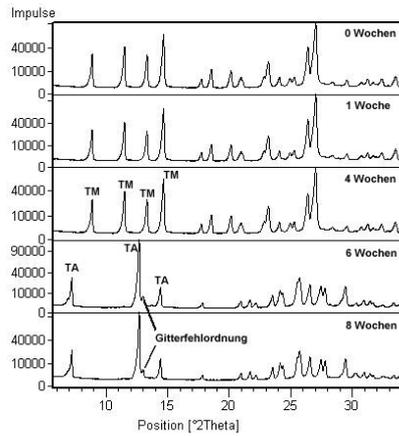


Abb. 8.16: TM

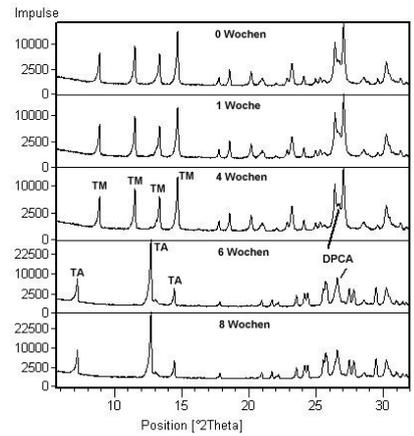


Abb. 8.17: TM + DPCA

Inkompatibilitätsuntersuchungen TA + DPCD

25 °C / 2 % rF

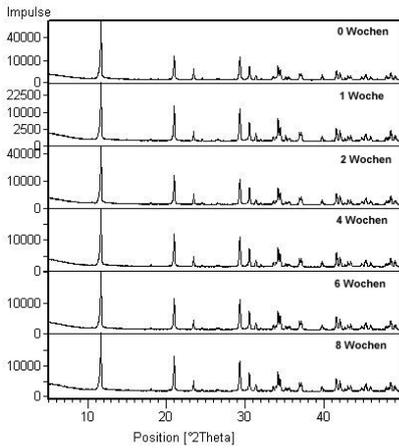


Abb. 8.18: DPCD

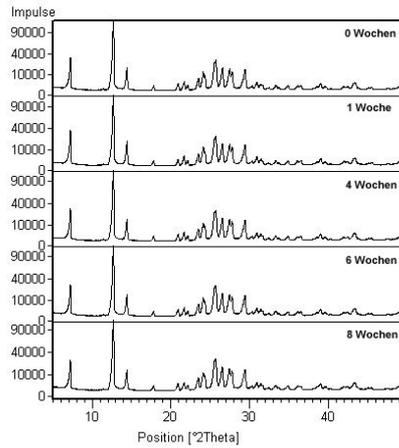


Abb. 8.19: TA

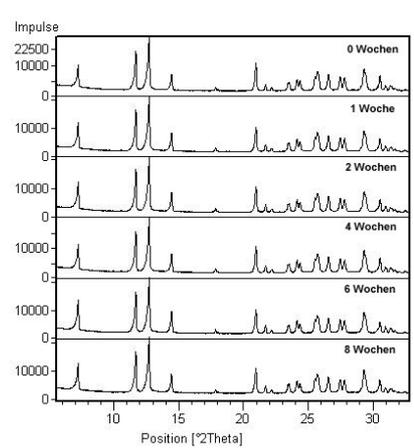


Abb. 8.20: TA + DPCD

25 °C / 60 % rF

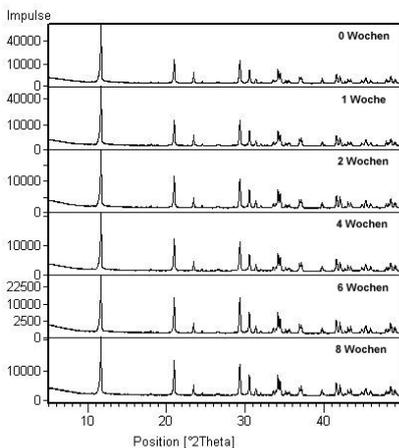


Abb. 8.21: DPCD

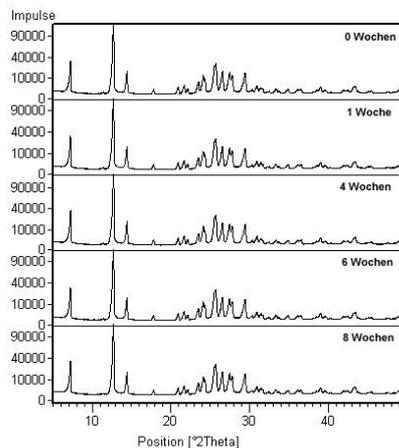


Abb. 8.22: TA

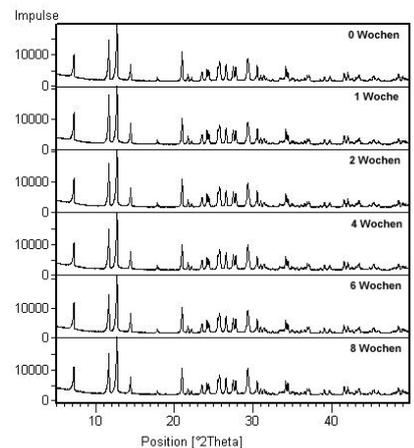


Abb. 8.23: TA + DPCD

25 °C / 75 % rF

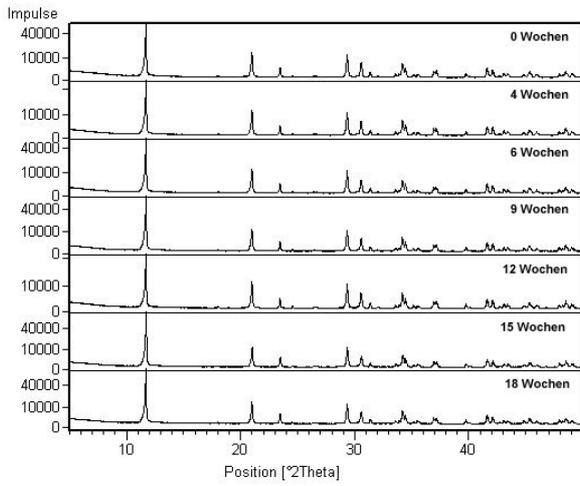


Abb. 8.24: DPCD

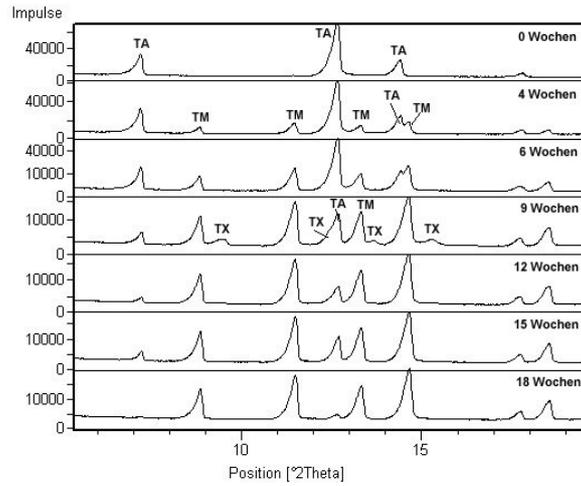


Abb. 8.25: TA

25 °C / 90 % rF

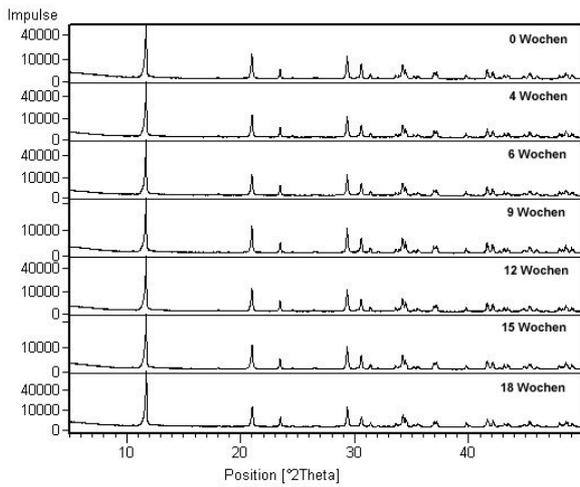


Abb. 8.26: DPCD

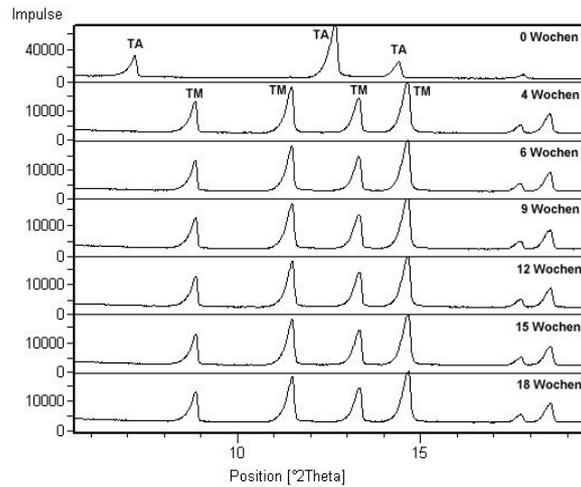


Abb. 8.27: TA

40 °C / 90 % rF

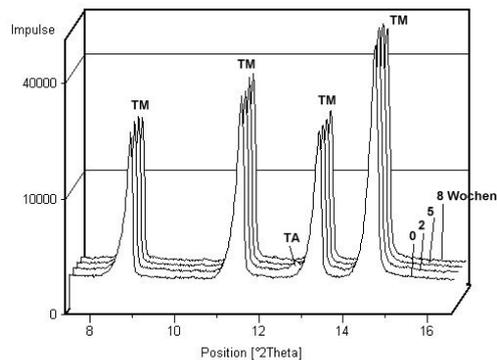


Abb. 8.28: TM