

Inhaltsverzeichnis

Vorwort.....	V
Abkürzungsverzeichnis.....	IX
Prolog.....	X
1 Überblick und Einstieg.....	1
1.1 IR-Spektroskopie im Europäischen Arzneibuch.....	2
1.1.1 NIR-Spektrometer-Gerätetypen.....	6
1.1.2 Messverfahren für NIR-Geräte.....	7
2 Probenvorbereitung und Probenpräsentation in der NIRS.....	12
2.1 Einflussfaktoren auf NIR-Messungen im Laboralltag.....	15
2.2 Qualitative Analyse (Identifizierung und Charakterisierung) mittels NIR.....	17
3 Überprüfung der Funktionsfähigkeit eines NIR-Geräts.....	20
3.1 Anforderungen bei der Anwendung und Entwicklung individueller Methoden.....	22
3.1.1 Betriebssicherheit von NIR-Geräten.....	24
3.1.2 NIRS in der Defekturanalytik.....	25
3.2 Reicht NIRS alleine aus?.....	27
4 Installation und Praxistipps.....	31
4.1 Hiperscan apo-ident.....	31
4.1.1 Praktische Tipps.....	34
4.2 Sentronic Sentroid APO.....	36
4.3 Dokumentation der Validierung.....	37
4.3.1 Betrieb von NIR- und MIR-Spektrometern.....	37
5 NIRS und Chemometrie.....	43
5.1 Vergleich von Spektren.....	43
5.2 Datenvorbehandlung.....	44
5.2.1 Rauschen.....	44
5.2.2 Verzerrung: Multiplikative Signal-Korrektur (MSC).....	45
5.3 Spektrenvergleich.....	47

6	Validierung und Kalibrierung	52
6.1	Prüfmittelüberwachung gemäß Arzneibuch	52
6.2	Dokumentation, Validierung und Instrumentenqualifizierung	54
6.2.1	Prüfprotokoll	54
6.2.2	Instrumentenqualifizierung.....	55
6.2.3	Validierung	56
6.2.4	Ablage der Roh-Messdaten, der Daten zur Gerätequalifizierung und Validierung, und der generierten Prüfprotokolle	57
	Glossar	58
	Literaturverzeichnis	63
	Sachregister	65
	Die Autoren	67

Abkürzungsverzeichnis

ATR	Attenuated total reflection (abgeschwächte Totalreflexion)
CIE	International Commission on Illumination
EDQM	European Directorate for the Quality of Medicines
FT	Fourier-Transformation
FTIR	Fourier-Transformations Infrarotspektroskopie (im MIR-Bereich)
IR	Infrarot
MSC	Multiplikative Signal-Korrektur (engl. Multiplicative Scatter Correction)
MIR	Mittleres Infrarot
MIR	Multiple internal reflectance (Multiple interne Reflexion)
MIRS	Infrarotspektroskopie im MIR-Bereich
NIR	Nahinfrarot
NIRS	Nahinfrarotspektroskopie/Nahinfrarotspektrometrie
PCA	Principal Component Analysis
PLS	Partial Least Square
PLSR	Partial Least Square Regression
SOP	Standard Operating Procedure (Standardarbeitsanweisung)

1 Überblick und Einstieg

Infrarotspektroskopie ist für die schnelle und zerstörungsfreie Identifizierung von Ausgangsstoffen im Apothekenlabor hervorragend geeignet. Dieses Handbuch gibt Ihnen einen schnellen Überblick über die Einsatzmöglichkeiten, Tipps für den Betrieb in der Praxis sowie Hintergrundinformationen über die für die Anwendung notwendige Installation und Dokumentation der Validierung marktüblicher Instrumente. Details zur Software und spezifische Informationen über die grundsätzlich sehr einfache Bedienung der Geräte sollten Sie vom Gerätehersteller erfragen!

Voraussetzung für schnelle und zerstörungsfreie Analytik in der Apotheke ist, dass die Probe direkt identifiziert werden kann, ohne die Substanz z. B. vorher mit Kaliumbromid zu verreiben. Diese Voraussetzung kann durch die Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) sowie mit Einschränkung auch durch Spektroskopie im mittleren Infrarot (MIR) erfüllt werden. Allerdings wird im MIR-Bereich dazu ein ATR-Probenkopf (Attenuated total reflection, abgeschwächte Totalreflexion) benötigt. In diesem Buch werden daher neben Geräten für die NIR-Spektroskopie nur ATR-FTIR-Geräte für den MIR-Bereich behandelt. Während der Umgang mit ATR-FTIR-Geräten seit Jahrzehnten fester Bestandteil der universitären Ausbildung ist, sind NIR-Spektrometer in Praktika der instrumentellen Analytik häufig noch nicht vorhanden und daher den potenziellen Anwendern nicht vertraut. Wie NIR-Geräte eingesetzt und bedient werden sollten, wird daher in diesem Buch erklärt.

NIRS: Optimal für kleine Zeitfenster

Da anders als in Auftragslabors in der Apotheke mit Analytik kein Geld verdient wird, kann nur selten pharmazeutisches Personal speziell für die Analytik beschäftigt werden. Zwangsläufig muss Analytik im Apothekenlabor zwischen Beratungsgespräche und andere nicht aufschiebbare Tätigkeiten in der Offizin eingetaktet werden. Bei chromatographischen Analysen ist das schwierig. Wenn eine DC-Kammer verwendet wird, muss man sich die Zeit nehmen, die DC-Platte genau rechtzeitig zu entnehmen oder man ist gezwungen die Analyse zu wiederholen. Bei NIRS ist das anders. NIRS-Analytik kann problemlos unterbrochen werden und lässt sich optimal in kleine Zeitfenster im Apothekenalltag einpassen.

Das Problem: Im Prinzip könnte man ein kommerziell verfügbares NIR-Spektrometer einfach aufstellen, den Stecker in die Steckdose stecken und Proben messen, auch wenn man noch nie mit einem NIR-Spektrometer gearbeitet hat. Es ist weder eine spezielle technische Expertise wie bei der Bedienung eines NMR-Geräts noch experimentelles Geschick wie bei der nass-chemischen Analytik erforderlich. Im einfachsten Fall könnte eine Rezeptursubstanz im Originalgefäß ohne Probenvorbereitung oder Umfüllen im Handumdrehen durch für den Anwender unbemerkt im Computer ablaufende statistische Methoden chemometrisch identifiziert werden. Dieses Vorgehen entspricht allerdings nicht der Guten NIR-Praxis und wird bei einer Inspektion in der Apotheke zu Recht nicht akzeptiert werden.

Chemometrie

Anders als bei der Infrarotspektroskopie im mittleren IR-Bereich (MIR) werden die bandenarmen aber informationsreichen NIR-Spektren nicht visuell sondern durch statistische Methoden computergestützt, also chemometrisch, bewertet. Die chemischen und physikalischen Informationen werden dazu vorbehandelt, gewichtet und aus den experimentellen Messdaten von Vergleichsspektren extrahiert und zu einem chemometrischen Modell bzw. Identifizierungsmodul verarbeitet. Idealerweise werden dabei Proben aller Lieferanten berücksichtigt, von denen Ausgangsstoffe bezogen werden sollen. Der hohe zeitliche und finanzielle Aufwand der Erstellung eines auf einer Spektrensammlung der gängigen Ausgangsstoffe und Drogen beruhenden Identifizierungsmoduls muss nicht von pharmazeutischem Personal bewältigt werden, sondern wird gerätespezifisch von den Herstellern der NIR-Geräte als Dienstleistung angeboten.

Die Lösung: Dieses Handbuch bietet den Einstieg in Gute NIR-Praxis in verständlicher Form. Es ist unverzichtbar, sich etwas näher mit der Methode zu beschäftigen, um Möglichkeiten und Grenzen zu erkennen und die wissenschaftlich und regulatorisch erforderlichen Maßnahmen zur Gerätequalifikation und Validierungsdokumentation treffen zu können. Insbesondere ist die NIR-Spektroskopie die erste Anwendung in der Pharmazeutischen Analytik, bei der routinemäßig eine Auswertung gemessener Spektren nicht durch visuellen Spektrenvergleich sondern durch chemometrische Methoden erfolgt. Dieses mathematische Vorgehen ist erklärungsbedürftig und wird in einem der folgenden Kapiteln praxisgerecht erläutert.

1.1 IR-Spektroskopie im Europäischen Arzneibuch

Die Infrarotspektrometrie im nahen Infrarotbereich fand etwas später Eingang in die Arzneimittel-Qualitätskontrolle als die Spektrometrie im mittleren IR-Bereich. Umfangreiche Untersuchungen lagen aber schon früh im Bereich der Lebensmitteltechnologie vor, und 1993 wurde auch eine Validierungsstudie publiziert, die an dem pharmazeutischen Beispiel Ampicillin-Trihydrat [Plugge 1993] zeigen konnte, dass die NIR-Spektroskopie eine geeignete Alternative zu anderen offizinellen Methoden darstellt. Die FDA akzeptierte diese Ergebnisse und der Einsatz der NIR-Analytik für die beschriebenen Anwendungsbereiche, und die Technik wurde dann sehr schnell Bestandteil verschiede-

2 Probenvorbereitung und Probenpräsentation in der NIRS

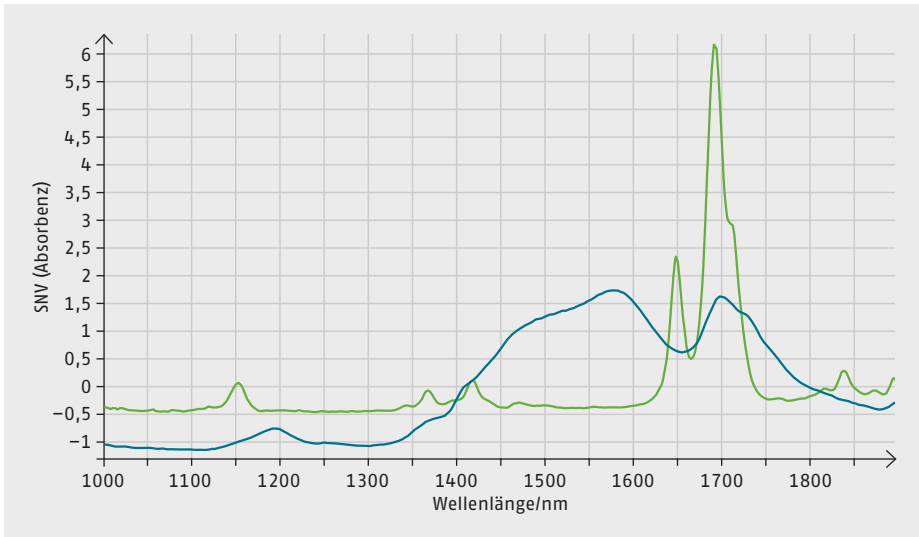
Die mit einem NIRS-Gerät durchführbaren Messmethoden haben Einfluss auf die Probenvorbereitung und -präsentation.

Die Probenvorbereitung in der NIRS ist häufig minimal. Bei Pulvern ist in der Regel ein Umfüllen in ein Glasgefäß, das auf das Messfenster gestellt werden kann, ausreichend. Unterschiedliche Schüttdichten können allerdings die Messung beeinflussen und auch hier ist es hilfreich, für eine technisch sehr einfach durchführbare Operation wie das Einfüllen in ein Glasgefäß den wissenschaftlichen Hintergrund kurz zu durchdenken. Bei Einstichgeräten muss lediglich sichergestellt werden, dass die Einstichsonde in ausreichenden Kontakt mit der Probe gebracht werden kann. Feste Arzneiformen wie Tabletten könnten bei unterschiedlicher Anordnung über dem Messfenster unterschiedliche Spektren ergeben und bei diesem in der Apotheke eher unüblichen Problem müsste eine optimale Probenpräsentation in Bezug auf ein reproduzierbares Einspannen der Tablette gefunden werden.

Der Großteil der Proben in der Apotheke sind Feststoffe, die im Reflexionsmodus gemessen werden, bei denen die Probenvorbereitung minimal und die Probenpräsentation unkritisch ist. Trotzdem ist es an dieser Stelle sinnvoll, mit einer allgemeinen und systematischen Betrachtung zum Thema Probenpräsentation zu beginnen, bevor in ►Kap. 2.2 auf diesen häufigsten Spezialfall näher eingegangen wird.

Das Arzneibuch gibt Hinweise für die Methodenoptimierung und die ordnungsgemäße Durchführung der Messung, die von den Geräteherstellern umgesetzt werden. So wird die geeignete Aufnahmedauer und Anzahl der Scans für Ausgangsstoffe in der Regel voreingestellt und muss nicht vom Anwender gewählt werden. Bei der Erstellung einer Ausgangsstoff-Spektrensammlung wird entschieden, ob eine Messung der Transmission, diffuser Reflexion oder Transflexion am ehesten zielführend ist. In der Apotheke muss dann für ein Pulver oder eine klare Probe der gleiche Messmodus wie bei der Erstellung der Spektrensammlung angewendet werden. In der Regel ist dieser Prozess Software-geführt.

Bei Rezeptur- und Defekturarzneimitteln, für die keine Identifizierungsmodule bestehen, muss in der Apotheke ein geeigneter Messmodus ausgewählt werden. Während Messungen von in der Apotheke hergestellten Salben häufig unproblematisch sind, ist die Probenpräsentation fester Arzneiformen wie Kapseln oder Tabletten komplizierter. Besonders bei Messungen von Tabletten ist zusätzlicher Aufwand erforderlich, da hier die Orientierung der Probe und die Schichtdicke bei Transmission oder Transflexion beach-



● **Abb. 2.1** Die Spektren von Methanol (blau) und Dichlormethan (grün) unterscheiden sich sehr stark

tet werden müssen. Dieser Nachteil fällt in der Praxis deshalb kaum ins Gewicht, weil die Herstellung von Tabletten im Apothekenlabor eine Ausnahmesituation ist.

Neben Hinweisen zur Auswahl und Bedeutung eines geeigneten Hintergrundmaterials wird auf die Gefahr der unbemerkten Ablagerung von Material auf einem Messfenster, sogenanntes Fouling, hingewiesen.

■ **DEFINITION** Fouling ist wie die Probenpräsentation von Tabletten ein Problem bei Anwendungen im Industrielabor, z. B. beim Einsatz von NIR-Detektoren zur Überwachung von Leitungen durch ein Messfenster. Hier können sich von innen Partikel auf einer Scheibe ablagern, die ohne Unterbrechung des Prozesses von außen nicht zu entfernen sind und schließlich das Messergebnis beeinträchtigen.

Praxistipps

- Das Messfenster routinemäßig mit einem Tuch von Staub reinigen und Zerkratzen vermeiden.
- Das Probengefäß mit einem Abstandsring aus Kunststoff vom direkten Kontakt mit dem Glasfenster der Messzelle fernhalten.
- Auf sorgfältige Reinigung aller verwendeten Materialien, der Berührungsfläche des Messgeräts bzw. der Einstichsonde achten, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten und Kreuzkontaminationen zu vermeiden.

Neben organischen Arznei- und Hilfsstoffen in Form von Pulvern können auch Drogen, Flüssigkeiten und halbfeste Rezepturgrundlagen identifiziert werden. So lassen sich einerseits Methanol und Dichlormethan leicht differenzieren (● Abb. 2.1) als auch Ethanol-spezifikationen mit unterschiedlichem Wassergehalt sofort erkennen (● Abb. 2.2).