



# **Wirkstoffüberzug von OROS-Tabletten**

—

## **In-line Prozessüberwachung mittels Raman Spektroskopie und ihr Transfer vom Labor- zum Produktionsmaßstab**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

**Markus Wirges**

aus Krefeld

Düsseldorf

2012

aus dem Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. Peter Kleinebudde

Koreferent: Prof. Dr. Jörg Breitzkreutz

Tag der mündlichen Prüfung: 06.07.2012

“There is variation in everything, even the exact sciences.  
Something unknown is doing something. We don't know what [...]”

Walter A. Shewhart



---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einführung</b> .....	<b>- 1 -</b>
<b>2. Allgemeiner Teil</b> .....	<b>- 3 -</b>
2.1. Kombinationsprodukte.....	- 3 -
2.1.1. Einleitung.....	- 3 -
2.1.2. Technologische Verfahren zur Herstellung von Kombinationsprodukten .	- 4 -
2.1.2.1. Monolithische Systeme.....	- 4 -
2.1.2.2. Mehrschichttabletten .....	- 5 -
2.1.2.3. Multipartikuläre Arzneiformen.....	- 6 -
2.1.2.4. Active coating.....	- 6 -
2.2. Prozessanalytische Technologien .....	- 7 -
2.2.1. Chemometrie.....	- 8 -
2.2.2. Prozessanalytische Methoden zur Bestimmung der Gleichförmigkeit.....	- 10 -
2.2.3. Prozessanalytische Methoden zur Endpunktbestimmung.....	- 11 -
2.3. Raman Spektroskopie .....	- 13 -
2.3.1. Grundlagen.....	- 13 -
2.3.2. Implementierung der Methodik zur Endpunktbestimmung.....	- 15 -
2.4. Transfer von multivariaten Modellen .....	- 16 -
<b>3. Ergebnisse und Diskussion</b> .....	<b>- 19 -</b>
3.1. Modellerstellungsstrategien .....	- 19 -
3.1.1. Einleitung.....	- 19 -
3.1.2. Spektrenvorbehandlung .....	- 21 -
3.1.2.1. Pearson-Vorbehandlung .....	- 22 -

3.1.2.2. SNV-Vorbehandlung .....	- 25 -
3.1.3. In-line Prozessanalytik .....	- 34 -
3.1.3.1. Zielsetzung .....	- 34 -
3.1.3.2. Univariate Modellerstellung .....	- 34 -
3.1.3.3. Multivariate Modellerstellung: off-line / in-line .....	- 38 -
3.1.3.4. Multivariate Modellerstellung: in-line / in-line .....	- 48 -
3.1.4. Zusammenfassung .....	- 50 -
3.2. Implementierung der Methodik im Labormaßstab .....	- 51 -
3.2.1. Einleitung .....	- 51 -
3.2.2. Arzneiform GITS 20 mg .....	- 51 -
3.2.3. Arzneiform GITS 30 mg .....	- 56 -
3.2.4. Arzneiform GITS 60 mg .....	- 58 -
3.2.5. Zusammenfassung .....	- 60 -
3.3. Überführung der Methodik in den Produktionsmaßstab .....	- 61 -
3.3.1. Einleitung .....	- 61 -
3.3.2. Versuchsaufbau .....	- 62 -
3.3.3. Arzneiform GITS 30 mg .....	- 65 -
3.3.4. Arzneiform GITS 60 mg .....	- 74 -
3.3.5. Transfer vom Labormaßstab in den Produktionsmaßstab .....	- 77 -
3.3.6. Zusammenfassung .....	- 82 -
3.4. Entwicklung einer SOP zur Validierung und Modellpflege .....	- 83 -
3.4.1. Einleitung .....	- 83 -
3.4.2. Validierung der Methode nach EMA .....	- 84 -
3.4.2.1. Richtigkeit, Spezifität und Linearität .....	- 84 -

---

3.4.3.	Spezielle Validierungskriterien für die in-line / in-line Modellerstellung	- 89 -
3.4.3.1.	Präzision	- 89 -
3.4.3.2.	Robustheit	- 94 -
3.4.4.	Modellpflege und Rekalibrierung	- 100 -
3.4.5.	Endpunktbestimmung	- 109 -
3.4.6.	Zusammenfassung	- 112 -
<b>4.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>- 115 -</b>
<b>5.</b>	<b>Summary</b>	<b>- 117 -</b>
<b>6.</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>- 119 -</b>
6.1.	Materialien	- 119 -
6.1.1.	Arzneistoffe und Arzneiformen	- 119 -
6.1.2.	Weitere Hilfsstoffe	- 120 -
6.2.	Herstellungsmethoden	- 121 -
6.2.1.	Überzugsverfahren im Labormaßstab (BFC 5)	- 121 -
6.2.1.1.	Zusammensetzung und Herstellung der Lacksuspension	- 121 -
6.2.1.2.	Prozessparameter im Labormaßstab	- 122 -
6.2.2.	Überzugsverfahren im Produktionsmaßstab (BFC 400)	- 122 -
6.2.2.1.	Herstellung der Lacksuspension	- 122 -
6.2.2.2.	Prozessparameter im Produktionsmaßstab	- 123 -
6.2.3.	Herstellung uniformer Nifedipin Kerne	- 124 -
6.2.4.	Filmherstellung	- 125 -
6.2.5.	Modellerstellung	- 126 -
6.2.5.1.	Univariate Modellerstellung	- 126 -
6.2.5.2.	Multivariate Modellerstellung	- 127 -

6.3. Analytische Methoden.....	- 129 -
6.3.1. Raman Spektroskopie.....	- 129 -
6.3.1.1. Messparameter .....	- 129 -
6.3.1.2. Spektrenvorbehandlung .....	- 130 -
6.3.1.3. Validierung der Methode nach EMA.....	- 130 -
6.3.2. HPLC.....	- 133 -
6.3.2.1. Methodenentwicklung.....	- 133 -
6.3.2.2. Validierung der Methode .....	- 134 -
6.3.3. Bestimmung der Filmdicke .....	- 139 -
<b>7. Literatur .....</b>	<b>- 141 -</b>
<b>8. Danksagung .....</b>	<b>- 153 -</b>

---

## Abkürzungsverzeichnis

API	Arzneistoff (engl. active pharmaceutical ingredient)
ASTM	American Society for Testing and Materials
AV	Akzeptanzwert (engl. acceptance value)
BCS	Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem (engl. biopharmaceutical classification system)
BIAS	systematischer Fehler
CCD	charge coupled device
cP	Centipoise
CTR	Mittenzentrierung (engl. centering)
DIN	Deutsches Institut für Normung
DModX	Distance to model
EMA	Europäische Arzneimittel Agentur (engl. European Medicines Agency)
FBRM	fokussierte Laserrückstreuungsmethode (engl. focused beam reflectance method)
FDA	Food and Drug Administration
GITS	Gastro-Intestinal Therapeutic System
GMP	Gute Herstellungspraxis (engl. Good Manufacturing Practice)
HAART	hochaktive antiretrovirale Therapie (engl. Highly Active Antiretroviral Therapy)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose, Hypromellose
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use
KI	Konfidenzintervall
LCL	untere Eingriffsgrenze (engl. lower control limit)
LWL	untere Warngrenze (engl. lower warning limit)
MSC	Multiplicative Scatter Correction
MSPC	Multivariate statistische Prozesskontrolle
NIR	Nahinfrarot
OROS	orales osmotisches System
PAT	Prozessanalytische Technologie
PC	Hauptkomponente (engl. Principle Component)
PCA	Principle Component Analysis

Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch
PLS	Partial Least Squares
$Q^2$	Vorhersagegenauigkeit
QbD	Quality by Design
$R^2$	Bestimmtheitsmaß
$r_D$	Punktprodukt
r.F.	relative Luftfeuchtigkeit
RMSEC	Root Mean Square Error of Calibration
RMSEP	Root Mean Square Error of Prediction
$r_P$	Produktmoment
SFV	Ortsfilter-Geschwindigkeits-Messverfahren (engl. spatial filter velocimetry)
SIMCA	Soft Independent Modeling of Class Analogy
SNV	Standard Normal Variate
SOP	Standardarbeitsanweisung (engl. Standard Operating Procedure)
TPI	Terahertz Pulsed Imaging
UCL	obere Eingriffsgrenze (engl. upper control limit)
USP	United States Pharmacopeia
UV	Skalierung auf Einheitsvarianz (engl. unit variance)
UWL	obere Warngrenze (engl. upper warning limit)
VK	Variationskoeffizient
W	Wiederfindungsrate
yDev	Vorhersageintervall

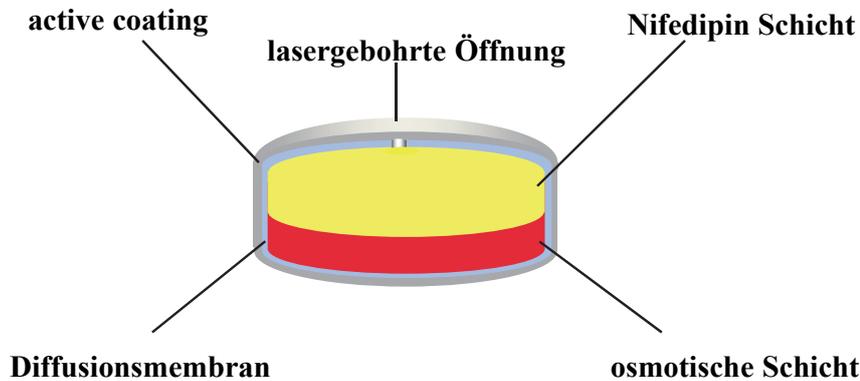
# 1. Einführung

Die PAT-Initiative (Process Analytical Technology) der United States Food and Drug Administration (FDA) [1] und der QbD-Ansatz (Quality by Design) der ICH (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) wurden Anfang dieses Jahrhunderts eingeleitet, um die vorherrschenden qualitätssichernden Maßnahmen, u.a. im Rahmen des Herstellungsprozesses eines Arzneimittels, zu reformieren. Umfangreiche Tests und validierte, unflexible Herstellungsschritte sicherten bisher die Qualität. Dies sollte verändert werden, indem Anreize von regulatorischer Seite geschaffen werden, so dass neue und innovative prozessanalytische Methoden zur Überwachung von Herstellungsprozessen eingesetzt werden, die variable, qualitätskorrelierte Produktionsverfahren ermöglichen. Unter Anwendung des QbD-Ansatzes ist jede Prozessführung innerhalb des zuvor definierten Design Spaces [2] aus regulatorischer Sicht als konform zu betrachten. Diese neue Sichtweise bezieht auch den Schritt der Prozessvalidierung mit ein, wie eine Neuentwicklung der „Guideline on Process Validation“ (Draft) der EMA (European Medicines Agency) zeigt. Darin wird ausdrücklich eine kontinuierliche Prozessvalidierung mit Hilfe von prozessanalytischen Technologien und multivariater statistischer Prozesskontrolle gegenüber der traditionellen Prozessvalidierung hervorgehoben [3, 4]. Zusammen mit der fortschreitenden Entwicklung der Gerätetechnologie ermöglichten weiterführende Forschungsarbeiten in den letzten 15 Jahren vermehrt raman-spektroskopische Prozessapplikationen in der pharmazeutischen Industrie. Jedoch blieben die Forschungsarbeiten auf dem Niveau von Machbarkeitsstudien für einfache Modellsysteme stehen.

Ziel dieser Arbeit ist es, an einem aus analytischer Sicht anspruchsvollen Probensystem die Raman Spektroskopie als prozessanalytische Technologie (PAT) für einen active coating Prozess, bei dem ein Wirkstoff während eines Überzugsverfahrens auf Tabletten aufgetragen wird, im industriellen Maßstab zu implementieren. Hierbei soll der active coating Prozess (Wirkstoff: Candesartancilexetil) eines oralen osmotischen Systems (OROS), das aus einer Zweischichttablette, überzogen mit einer semipermeablen Membran, besteht, überwacht werden (vgl. Abbildung 1-1). Eine besondere Herausforderung stellt dabei der Zweischichtcharakter des Probensystems dar, der neue Ansätze zur Prozessüberwachung erfordert. Um diesen Sachverhalt zu verdeutlichen, wird

im Folgenden von Zweischichttabletten gesprochen. Aufbauend auf bisherige Machbarkeitsstudien soll in dieser Arbeit eine Modellerstellungsstrategie für die oben beschriebene Arzneiform entwickelt und deren Leistungsfähigkeit für den Einsatz im Produktionsmaßstab überprüft werden.

#### **Nifedipin GITS (Zweischichttabletten)**



**Abbildung 1-1: Schematischer Aufbau des Arzneimittels Nifedipin GITS**

Da die Methode im Rahmen von Herstellungsprozessen im Produktionsmaßstab etabliert werden soll, ergeben sich dementsprechend Anforderungen u.a. an die Robustheit und Langzeitstabilität der ramanspektroskopischen Methode in Verbindung mit einer multivariaten Datenanalyse. In diesem Zusammenhang ist eine Validierung der Methodik, die speziell an die verwendete Modellerstellungsstrategie angepasst werden muss, erforderlich, um zu gewährleisten, dass die entwickelte prozessanalytische Technologie den Anforderungen entspricht.

Übergeordnetes Ziel ist es, die analytische Methode nicht nur zur Prozessverfolgung einzusetzen, sondern auch eine Prozesssteuerung zu ermöglichen. Für das pharmazeutische Herstellungsverfahren des active coatings entspricht dies einer korrekten Endpunktbestimmung des Überzugsverfahrens. Mit Hilfe der multivariaten statistischen Prozesskontrolle und Regelkreisen zur Modellpflege bzw. Rekalibrierung sollen Werkzeuge zur Überwachung der Modellvalidität erarbeitet werden.

## 2. Allgemeiner Teil

### 2.1. Kombinationsprodukte

#### 2.1.1. Einleitung

In der Therapie von kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes, Asthma und Infektionskrankheiten gehören Kombinationspräparate heutzutage zum bevorzugten Therapieschema. Im Jahre 2000 wurde ein Konzept zur Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen entwickelt, das auf einem Kombinationsprodukt, der Polypill (vgl. Tabelle 2-1), basiert. Kombinationsprodukte weisen zahlreiche therapierelevante Vorteile auf: Synergieeffekte durch die gleichzeitige Einnahme der Wirkstoffe in einer einzigen Arzneiform, eine Verringerung von Resistenzbildungen insbesondere bei der hochaktiven antiretroviralen Therapie, HAART, und eine deutliche Verbesserung der „adherence“ aufgrund einer Vereinfachung der Dosierungsschemata sind dabei zu nennen. Des Weiteren sind auch Effizienzsteigerungen in der Herstellung und eine elegante Form des Lifecycle-Managements einer Produktlinie positive Aspekte von Kombinationsprodukten. In Tabelle 2-1 sind die Unterformen der Therapie mit Wirkstoffkombinationen gelistet.

**Tabelle 2-1: Unterschiedliche Terminologien und ihre Definitionen in der Kombinationsprodukt-Therapie nach [5]**

	<b>Terminologie</b>	<b>Definition</b>	<b>Literatur</b>
<b>1</b>	Freie Kombination	- mehrere Wirkstoffe in jeweils eigener Arzneiform - gleichzeitige Einnahme	[6]
<b>2</b>	Freie Kombinationen in Primärverpackung	- mehrere Wirkstoffe in jeweils eigener Arzneiform - in einer gemeinsamen Primärverpackung verpackt - gleichzeitige Einnahme	[7]
<b>3</b>	Kombinationsprodukt	- eine Arzneiform, die mehrere Wirkstoffe enthält	[5, 6]
<b>4</b>	Polypill	- Kombinationsprodukt aus drei oder mehr Wirkstoffen in einer Arzneiform zur Behandlung von kardio-vaskulären Erkrankungen	[8, 9]

## **2.1.2. Technologische Verfahren zur Herstellung von Kombinationsprodukten**

Neben Entscheidungen bezüglich des Portofolio-Managements innerhalb einer Firma, der marktstrategischen Ausrichtung und regulatorischen Überlegungen, sind letztlich klinische und pharmazeutische Überlegungen maßgeblich am Entscheidungsprozess beteiligt, ob es zu einer Entwicklung von Kombinationsprodukten kommt. Vom Standpunkt der pharmazeutisch-technologischen Formulierungsentwicklung aus nehmen die prozesstechnologischen und galenischen Probleme mit der Anzahl an Wirkstoffe in einer Zubereitung zu. Es treten Inkompatibilitäten zwischen den einzelnen Wirkstoffen, aber auch Wechselwirkungen zwischen Wirk- und Hilfsstoffen in der Tablettiermischung auf [10-12]. Die pharmazeutische Qualität der zu entwickelnden Arzneiform wird durch ihre chemische, physikalische und mikrobiologische Stabilität bestimmt, wodurch die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes und die Gleichförmigkeit des Gehaltes beeinflusst werden können [13]. Die chemische und physikalische Kompatibilität der einzelnen Bestandteile einer Zubereitung muss daher in der Frühphase der galenischen Entwicklung beachtet werden. Aus zulassungstechnischen Gründen sollten die Bemühungen dahin gehen, die zuvor bestehende Arzneiform der einzelnen Wirkstoffe beizubehalten und sie gegebenenfalls den Anforderungen der Wirkstoffkombinationen anzupassen.

Bestehen Inkompatibilitäten oder liegen z.B. Unterschiede in den physikalisch-chemischen Eigenschaften der einzelnen Wirkstoffe des Kombinationsproduktes vor, die Einfluss auf ihre Bioverfügbarkeit haben, ist eine Arzneiformentwicklung in Richtung einer Mehrschichttablette oder einer multipartikulären Arzneiform angezeigt [14]. Ebenso erfordern stark unterschiedliche Eigenschaften in Bezug auf das prozesstechnische Verhalten der Wirkstoffe eine Neuentwicklung des Herstellungsverfahrens und unter Umständen der Arzneiform selbst. Im Folgenden sollen die wichtigsten Entwicklungsstrategien für die Herstellung von Kombinationsprodukten näher erläutert werden.

### **2.1.2.1. Monolithische Systeme**

Für kompatible Wirkstoffe, die sowohl derselben BCS-Klasse (Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem) angehören als auch für die entsprechenden Herstellungsprozesse vergleichbare Eigenschaften, wie z.B. Fließfähigkeit und Tablettierbarkeit, aufweisen,

bietet sich für die Entwicklung eines Kombinationsproduktes eine monolithische Arzneiform an [14]. Jedoch sind dieser Entwicklungsstrategie u.a. dann Grenzen gesetzt, wenn die jeweiligen Wirkstoffe bezüglich ihrer Normdosierungen sehr unterschiedlich sind. Eine gute Gleichförmigkeit des Wirkstoffgehaltes für eine solche Kombination zu erzielen, stellt für Pulvermischungen eine große Herausforderung dar.

Aus pharmakologischer Sicht besteht für einige Wirkstoffe der Bedarf, eine Arzneiform mit verlängertem Freisetzungsverhalten zu entwickeln. Im vorliegenden Beispiel gilt dies für den Arzneistoff Nifedipin. Da eine schnelle Abgabe von Wirkstoffen mit kurzer biologischer Halbwertszeit zu einem schnellen Aufbau und einem ebenso schnellen Abfallen der Plasmaspiegel führt, können größere Wirkstoffspiegelschwankungen entstehen, wodurch es in Abhängigkeit von der therapeutischen Breite des Arzneistoffs zu einem vermehrten Auftreten von Nebenwirkungen kommen kann [15, 16]. Der zweite Wirkstoff im Kombinationsprodukt dieser Arbeit, Candesartancilexetil, erfordert aufgrund seines pharmakokinetischen Wirkprofils keine verlängerte Freisetzung, sondern soll in einer schnellfreisetzenden Zubereitung appliziert werden. Für dieses Beispiel stellt die monolithische Tablette nicht die optimale Arzneiform dar. Eine mögliche Alternative wäre die Entwicklung einer Mehrschichttablette.

### **2.1.2.2. Mehrschichttabletten**

Diese Herstellungsplattform adressiert zwei wichtige Problemstellungen in der pharmazeutischen Entwicklung. Inkompatible Arzneistoffe können in den entsprechenden Schichten der Arzneiform getrennt voneinander vorliegen ohne die Gefahr, dass u.a. durch hydrolytische oder pH-abhängige Abbauprozesse die chemische Stabilität der Arzneiform beeinträchtigt wird. Der Schutzmechanismus kann verstärkt werden, indem zusätzlich eine Trennschicht eingearbeitet wird, die bei Bedarf Hilfsstoffe mit puffernden Eigenschaften enthalten kann [17, 18].

Ein weiterer Grund für die Auswahl einer Mehrschichttablette als geeignete Arzneiform ist die Steuerung des Freisetzungsortes und -verhaltens. So können Magenverweilarzneiformen [19] oder gezielt Arzneiformen mit modifizierter Freisetzung entwickelt werden (z.B. Kinetik nullter Ordnung oder eine bimodale Freisetzung) [20-23].

Die entscheidenden Einflussgrößen auf den Herstellungsprozess und die Produktqualität sind in einer Vielzahl von Forschungsarbeiten diskutiert worden [23-25].

Mehrschichttabletten können auf entsprechend modifizierten Tablettenpressen in hohen Stückzahlen hergestellt werden und eignen sich somit auch für Arzneimittel mit großen Stückzahlen.

### **2.1.2.3. Multipartikuläre Arzneiformen**

Multipartikuläre Arzneiformen lassen sich dadurch charakterisieren, dass sie entweder direkt aus Partikeln kleiner 2 mm oder aus größeren Formkörpern, die unmittelbar nach der Einnahme durch den Patienten in Partikel kleiner 2 mm zerfallen, bestehen [26]. Insbesondere Pellets als funktionelle Untereinheit [27] lassen sich häufig abgefüllt in Kapseln oder Sachets oder verpresst in Tabletten finden. Die Herstellung dieser Arzneiform kann unter Verwendung verschiedener Verfahren erfolgen: In Wirbelschichtapparaturen lassen sich Pellets durch Granulations- und Beschichtungsprozesse herstellen. Außerdem sind Extrusion und Sphäronisation und das Verpressen auf Tablettenmaschinen (Minitabletten) von Bedeutung [28]. Multipartikuläre Arzneiformen wie Pellets, Pulver oder auch Granulate weisen einige Vorteile gegenüber monolithischen Systemen auf. Im Hinblick auf die Herstellung von Kombinationsprodukten besteht bei dieser Technologieplattform die Möglichkeit durch die Kombination von Partikeln mit zeitlich unterschiedlichem Freisetzungsverhalten, multipartikuläre Systeme mit gesteuerten Freisetzungsprofilen zu erhalten [29]. Innerhalb einer Arzneiform können Inkompatibilitäten zwischen Arzneistoffen verhindert werden, indem gemischte multipartikuläre Systeme verwendet werden [30, 31].

### **2.1.2.4. Active coating**

Um mehrere Wirkstoffe in einer Arzneiform zu inkorporieren, ist das Überziehen einer Tablette mit einem Wirkstoff (active coating) eine elegante Form der galenischen Entwicklung. Inkompatibilitäten werden umgangen und Kombinationen aus niedrigdosierten und hochdosierten Wirkstoffen können realisiert werden. Darüber hinaus lassen sich unterschiedliche Freisetzungsprofile in einer Arzneiform verbinden. So kann ein wirkstoffhaltiger Tablettenkern mit einem zweiten Wirkstoff, der z.B. temperaturlabil ist und sich mit gängigen Herstellungsverfahren, wie der Granulation oder Tablettierung, schlecht verarbeiten lässt, unter Beachtung der kritischen Prozessparameter überzogen werden [14, 30, 32, 33]. Zusätzlich können die Wirkstoffe im Kern verlängert freigesetzt werden, indem z.B. Retardierungsprinzipien wie erodierende Matrixsysteme [34] oder orale osmotische Systeme [35] eingesetzt werden.

Die Vorteile, die diese Technologie mit sich bringt, gehen jedoch einher mit einer herausfordernden Prozessführung. Ohne eine korrekte Endpunktbestimmung und einen gleichmäßigen Filmauftrag innerhalb einer Charge, lässt sich diese Technologie nicht im Produktionsmaßstab implementieren: Der Prozess muss kontrollierbar sein. Einhergehend mit einem Paradigmenwechsel in der pharmazeutischen Industrie zu mehr Prozessverständnis und dem QbD-Ansatz [2, 36-38] gewannen prozessanalytische Technologien [1] und Verfahren wie die Dimensionsanalyse [39], statistische Versuchsplanung und numerische Simulationsmodelle, wie die Diskrete Elemente Methode (DEM), für diese Problemstellung zunehmend an Bedeutung [40-46]. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, eine Prozesskontrolle und Endpunktbestimmung für ein active coating Verfahren von oralen osmotischen Systemen zu implementieren und dessen Einsatzfähigkeit unter den realitätsnahen Bedingungen einer pharmazeutischen Produktion zu verifizieren.

## **2.2. Prozessanalytische Technologien**

Zunächst soll die Taxonomie der Prozessanalytik, wie sie im weiteren Verlauf verwendet wird, beschrieben werden (vgl. [47] und Abbildung 2-1).

Für eine off-line Analytik müssen Proben gezogen und zu einem entsprechenden zentralen Labor transportiert werden. Dem Vorteil dieser Art der Analytik, bei der die Untersuchungen von hochqualifiziertem Personal in einer geeigneten, den Ansprüchen der Analytik gerechten Umgebung durchgeführt werden, stehen Zeitverluste entgegen. Auch ist hier keine direkte Prozesslenkung möglich.

Die at-line Methode, eine Unterform der off-line Analytik, hat den Vorteil, dass einzelne Proben in räumlicher Nähe zum Produktionsort vermessen werden. Dadurch sind zeitnahe Ergebnisse möglich. Es können Informationen über die Chargenhomogenität und über den Wirkstoffgehalt einzelner Tabletten erhalten werden.

Bei der on-line Prozessanalytik ist die Probenziehung und –vermessung automatisiert. Per Bypass können die Proben nach der Messung dem Prozess wieder zugeführt werden. So können die Proben in einer rauscharmen, auf die entsprechende analytische Methode ausgerichteten Umgebung vermessen werden. Der Kalibrieraufwand ist dadurch deutlich geringer als bei einer in-line Prozessanalytik. Voraussetzung für den Einsatz einer on-line

Analytik zur Prozesssteuerung ist, dass die Messzeit kürzer ist als die Zeit, in der sich während des laufenden Prozesses die Produkteigenschaften ändern.

Im Fall der in-line Prozessanalytik ist die Messmethode in den Prozess integriert, so dass Informationen über die Prozess- oder Produkteigenschaften in Echtzeit erhalten werden. Dies ermöglicht eine Prozesskontrolle und -steuerung, erfordert jedoch eine robuste prozessanalytische Technologie, die eventuelle Störungen und Schwankungen von Prozessparametern bei der Kalibrierung berücksichtigt.

In den Modellerstellungsstrategien, wie sie in dieser Arbeit beschrieben werden, wird eine off-line kalibrierte Methode, die auf in-line Messungen während eines Prozesses angewendet wird, als off-line / in-line Methode charakterisiert. Demnach stellt eine in-line / in-line Methode ein in-line kalibriertes Modell dar, das auf in-line gemessene Spektren angewendet wird.

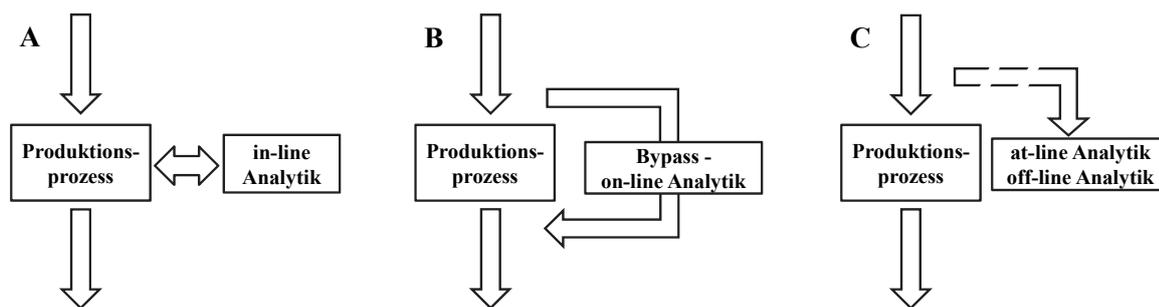


Abbildung 2-1: Taxonomie der Prozessanalytik (A: in-line, B: on-line, C: at-line / off-line)

### 2.2.1. Chemometrie

Die Chemometrie verbindet mathematische und statistische Elemente, um chemische Daten zu analysieren [48]. Dazu gehören drei Elemente:

- Versuchsplanung
- Multivariate Datenanalyse
- Modellierung wie Korrelations- oder Regressionsanalysen

Ihre Anwendungsbereiche beschränken sich nicht nur auf die Lösung von Problemstellungen im Hinblick auf die chemische Analytik, viel mehr bezieht die Chemometrie auch die experimentelle Versuchsplanung und Optimierung von Prozessen mit ein. Geprägt wurde der Begriff Chemometrie in den 1970er Jahren von Bruce



Aus der X-Datenmatrix wird über eine PCA (Principle Component Analysis) eine Matrix T (die "Score"-Matrix) und eine Matrix P (die "Loadings"-Matrix) plus einer Fehlermatrix E (Residuen) berechnet. Loadings können als Gewichte der Originalvariablen verstanden werden, um die Hauptkomponente zu berechnen (vgl. Abbildung 2-2).

$$Y = X * \hat{B} + \text{Fehlermatrix} \quad \text{Gl. 2-1}$$

Die Zielgrößenmatrix Y besteht eventuell nur aus einem einzigen Vektor als Zielgröße. Ist mehr als ein Vektor in der Matrix vorhanden, so wird mit Hilfe einer PCA die Matrix Y in die Matrizen U (Y-Scores) und Q (Y-Loadings) und den Fehlerterm F zerlegt. Das Ziel von PLS ist es, die Norm von F zu minimieren und gleichzeitig eine Korrelation zwischen X und Y zu erhalten, indem die Matrizen U und T in Beziehung zueinander gesetzt werden. Die Matrix der Regressionskoeffizienten,  $\hat{B}$ , verbindet die Matrizen U und T. So werden Varianzen erkannt, während die Korrelation zwischen den abhängigen und unabhängigen Daten beobachtet wird, die ein prädiktives Modell darstellen (vgl. Gl. 2-1).

### **2.2.2. Prozessanalytische Methoden zur Bestimmung der Gleichförmigkeit**

Prozessanalytische Technologien können für eine Vielzahl von Herstellungsverfahren in der pharmazeutischen Industrie eingesetzt werden [56-58]. Dabei sollte die Auswahl der am besten geeigneten Technologie in direktem Zusammenhang mit der Problemstellung stehen. Demnach stellt eine Bestimmung der Gleichförmigkeit des kritischen Qualitätsattributs innerhalb einer Charge fundamental andere Anforderungen an ein PAT-Instrument als die korrekte Endpunktbestimmung. Soll ersteres in-line ohne Prozessunterbrechung erfolgen, so benötigt man z.B. im Rahmen eines Überzugsprozesses eine nicht destruktive Methode, die mit einer kurzen Messzeit einzelne Tabletten vermessen und die erhaltenen Daten verarbeiten kann. Erste Ergebnisse einer solchen Methode sind in Form einer in-line Terahertz Pulsed Imaging (TPI) Applikation in der Literatur veröffentlicht [59]. May et al. konnten mit Hilfe eines in-line Terahertz Sensor-Prototyps erste Echtzeitdaten bezüglich der Schichtdicke während eines Überzugsprozesses im Produktionsmaßstab generieren. Des Weiteren wurden einzelne Tabletten off-line vermessen, um Aussagen zur Gleichförmigkeit der Schichtdicke innerhalb einer Tablette bzw. einer Charge zu treffen ohne auf multivariate Modellerstellungen angewiesen zu sein.

Malaterre et al. [60] verwendeten TPI Messungen, um die Eigenschaften von Filmüberzügen am Beispiel von oralen osmotischen Systemen zu untersuchen. Sie implementierten diese Methode als ein off-line PAT-Instrument zur Vorhersage des Einflusses der Schichtdicke auf die Wirkstofffreisetzungskinetik. Spektroskopische Methoden wie NIR und Raman können während eines Prozesses aufgrund deutlich längerer Messzeiten keine Angaben zu einzelnen Tabletten machen. Untersuchungen von Romero-Torres et al. und El Hagrasy et al. zeigten jedoch die Leistungsfähigkeit der Raman Spektroskopie in Bezug auf off-line / at-line Messungen der Gleichförmigkeit des Filmüberzugs [61, 62].

**Tabelle 2-2: Übersicht verschiedener PAT-Instrumente für den Einsatz in pharmazeutischen Grundoperationen zur Bestimmung der Gleichförmigkeit**

<b>Grundoperation</b>	<b>PAT-Instrument</b>	<b>kritische Prozess- und Qualitätsmerkmale</b>	<b>Literatur</b>
<b>Mischprozesse</b>	NIR Raman	Prozessüberwachung (Homogenität der Mischung) at-line / in-line	[63-70]
<b>Tablettierung</b>	NIR Raman	Gleichförmigkeit des Gehaltes at-line	[71, 72]
<b>Überzugsprozesse</b>	NIR Raman TPI	Gleichförmigkeit des Filmauftrags (Masseauftrag, Filmdicke) at-line / in-line	[61, 62, 73] [74-77]

Die Gleichförmigkeit von Mischprozessen und des Gehaltes von Tabletten kann auch mit Hilfe spektroskopischer Methoden bestimmt werden (vgl. Tabelle 2-2). Dies ist aber nicht Ziel dieser Arbeit und wird somit im Rahmen der Einführung nicht weiter behandelt.

### **2.2.3. Prozessanalytische Methoden zur Endpunktbestimmung**

Die Bestimmung eines Prozessendpunktes anhand von Echtzeit-Prozessdaten erfordert die Auswahl eines geeigneten PAT-Instruments, um eine gleichbleibenden Qualität gewährleisten zu können. Dies gilt für Mischprozesse, Granulationsverfahren sowie für Trocknungs- und Überzugsprozesse. Die NIR Spektroskopie als PAT-Instrument ist die am weitesten verbreitete Technologie für die Bestimmung der Gutfeuchte bei Granulationsverfahren und Trocknungsprozessen und damit für deren

Endpunktbestimmung. Neben der NIR Spektroskopie werden auch Methoden basierend auf der Mikrowellenresonanz-Technologie [78], akustische Messungen [79] und in-line Partikelmessungen [80] für die Endpunktbestimmung von Granulationsverfahren eingesetzt.

**Tabelle 2-3: Übersicht verschiedener PAT-Instrumente für den Einsatz zur Endpunktbestimmung**

<b>Grundoperation</b>	<b>PAT-Instrument</b>	<b>kritische Prozess- und Qualitätsmerkmale</b>	<b>Literatur</b>
<b>Mischprozesse</b>	NIR Raman	Homogenität der Mischung at-line / in-line	[63-70]
<b>Granulierung</b>	akustisch in-line Partikelgröße (FBRM/SFV) Mikrowellen NIR	Endpunktbestimmung (Gutfeuchte, Partikelgröße) in-line	[78-82]
<b>Trocknung</b>	Mikrowellen NIR	Endpunktbestimmung (Gutfeuchte) in-line	[83-85]
<b>Überzugsprozesse</b>	NIR Raman TPI	Endpunktbestimmung (Massezuwachs, Schichtdicke, Wirkstoffmenge) at-line / in-line	[59, 86-91]

Gendre et al. zeigten in einer kürzlich veröffentlichten Arbeit eine NIR Methodik zur in-line Prozessüberwachung und Endpunktbestimmung eines funktionellen Überzugverfahrens. Sie korrelierten NIR Spektren mit den Zielparametern Masseauftrag und Schichtdicke, die mit Hilfe von Terahertz Pulsed Imaging erhalten wurden, [92] in entsprechenden PLS Modellen. In einem weiteren Schritt entwickelten sie ein multivariates Modell zur Vorhersage des Freisetzungsverhaltens von befilmten Tabletten anhand von in-line NIR Messungen [87]. Dies wurde in Form von Machbarkeitsstudien im Labormaßstab durchgeführt. Jedoch betonten sie, dass weitere Untersuchungen unter produktionsnahen Umgebungsbedingungen notwendig seien. Möltgen et al. [74] untersuchten den Einsatz der NIR Spektroskopie im Produktionsmaßstab anhand einer uniformen Arzneiform. Neben off-line Analysemethoden setzten sie eine in-line Prozessanalytik ein, um qualitative und quantitative Informationen bezüglich eines

funktionellen Überzugverfahrens zu erhalten. Einzelne Prozessschritte des Verfahrens konnte dabei anhand der in-line gemessenen NIR Spektren unterschieden werden. Mit Hilfe eines PLS Modells konnten dünne HPMC-Schichten quantitativ bestimmt, und somit der Prozess verfolgt werden. Aussagen zur Übertragbarkeit zwischen Labor- und Produktionsmaßstabsmodellen und der Leistungsfähigkeit der beschriebenen Methode bei deutlich höheren Schichtdicken wurden nicht getroffen.

Eine weitere wichtige Methode, die für die Endpunktbestimmung von pharmazeutischen Grundoperationen verwendet wird, ist die in dieser Arbeit verwendete Raman Spektroskopie. Sie wird im Folgenden näher erläutert.

## **2.3. Raman Spektroskopie**

### **2.3.1. Grundlagen**

Trifft Licht einer bestimmten Wellenlänge auf eine Probe, so können neben Absorptions- und Transmissionsvorgängen auch Streueffekte auftreten. Bei allen Effekten findet eine Wechselwirkung zwischen der elektromagnetischen Lichtwelle und der Elektronenhülle des Moleküls bzw. Atoms statt. Im Fall der elastischen Streuung induziert das elektrische Feld des Lichts ein Dipolmoment im Molekül, das zu einer Schwingung mit der gleichen Frequenz wie das einfallende Licht angeregt wird. Durch den schwingenden Dipol wird Licht der gleichen Wellenlänge emittiert. Man bezeichnet diesen Vorgang als elastische Lichtstreuung oder auch als Rayleigh Streuung.

Zusätzlich zu dem elastisch gestreuten Anteil findet sich in den Streuspektren ein geringer Anteil, der frequenzverschoben ist. Dabei treten rechts und links von der Anregungsfrequenz  $\nu_0$  paarweise Linien bei  $(\nu_0 + \nu_s)$  und  $(\nu_0 - \nu_s)$  auf. Man bezeichnet diese Zusatzlinien als Stokes- bzw. Antistokes-Linien. Da die Energie des Lichtes direkt proportional zu seiner Frequenz ist (mit dem Planckschen Wirkungsquantum als Proportionalitätskonstante), bedeutet dies, dass das Licht durch die Interaktion mit dem Molekül sowohl Energie verlieren als auch Energie gewinnen kann. Erklärt werden kann dies durch die Anregung bzw. Vernichtung von Molekülschwingungen. Man bezeichnet dies als Raman Effekt. Der Raman Effekt wurde 1928 durch den indischen Physiker C. V. Raman erstmals nachgewiesen [93]. Raman erhielt dafür 1930 den Nobelpreis für Physik. Notwendige Bedingung für die Raman Aktivität ist die Polarisierbarkeit des Moleküls,

d.h. die Deformierbarkeit der Elektronenhülle eines Moleküls unter Einwirkung eines elektrischen Feldes [94].

Stellt man die Prozesse der Rayleigh und der Raman Streuung in Form eines Energieschemas dar, so kann die Rayleigh Streuung als virtuelle Absorption eines Photons der Energie  $h\nu_0$  und nachfolgende Reemission eines Photons gleicher Energie aufgefasst werden. Wenn ein Molekül durch Aufnahme von Energie des eingestrahlt Lichtes vom Grundzustand ( $v=0$ ) in einen angeregten virtuellen Zwischenzustand übergeht, so entstehen bei der Relaxation in einen angeregten Schwingungszustand die sogenannten Stokes-Linien. Die Streustrahlung befindet sich demnach bei größeren Wellenlängen (kleineren Frequenzen) als die Rayleigh-Linie. Das Licht ist um den Energiebetrag ärmer, der zur Anregung einer Schwingungsmode genutzt wurde. Befindet sich das Molekül vor der Anregung im schwingungsangeregten Zustand ( $v=1$ ) und relaxiert danach in den Grundzustand ( $v=0$ ), so tritt Anti-Stokes-Raman-Streuung auf. Die Streustrahlung befindet sich dann bei kleineren Wellenlängen (größeren Frequenzen). Das Licht hat Energie gewonnen, die aus der Vernichtung einer Schwingung stammt. Da sich bei Raumtemperatur deutlich mehr Moleküle im Grundzustand als im schwingungsangeregten Zustand befinden, ist die Intensität von Anti-Stokes-Streuung geringer als die der Stokes-Streuung [94, 95]. Mit steigender Temperatur befinden sich nach der Boltzmann-Verteilung mehr Moleküle im angeregten Zustand. Die Intensität der Anti-Stokes Linie nimmt entsprechend zu. Die Anzahl der Wellenzahlverschiebungen und das Ausmaß sind abhängig von den möglichen Schwingungszuständen des Moleküls. Ein beispielhaftes Energiediagramm des Streuvorgangs ist in Abbildung 2-3 dargestellt.

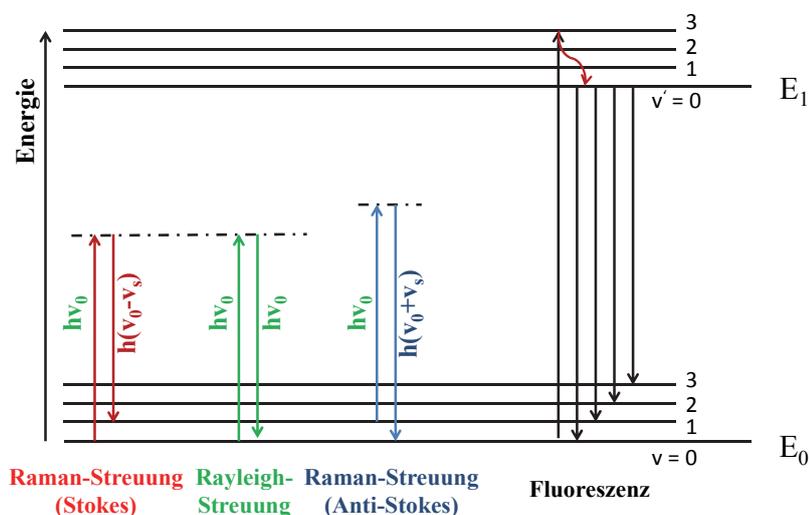


Abbildung 2-3: Energiediagramm für die elastische und inelastische Streuung modifiziert nach [96]

Eine verwandte Methode ist die NIR- Spektroskopie, bei der durch polychromatisches Licht ebenfalls Molekülschwingungen angeregt werden, die zu Absorptionslinien (= Einbrüchen der Intensität) im gemessenen Spektrum führen.

### **2.3.2. Implementierung der Methodik zur Endpunktbestimmung**

Zusammen mit NIR Spektroskopie gilt die Raman Spektroskopie als eine vielversprechende Methode zur Endpunktbestimmung von Überzugsprozessen. Jedoch befassten sich die veröffentlichten Forschungsarbeiten ausschließlich mit Modellsystemen in Placebo Form [86, 89] oder mit einfachen, wirkstoffhaltigen Modellsystemen [86, 97]. Aufwendige technologische Arzneiformen, wie z.B. Zweisechichttabletten, wurden im Rahmen dieser Fragestellung bislang nicht in die Untersuchungen einbezogen.

Romero-Torres et al. [62, 98] untersuchten, inwieweit ein Zusammenhang zwischen der Coatingdauer, die hier als Surrogatparameter für die Filmdicke benutzt wurde, und den aufgenommenen Raman Spektren im Hinblick auf die Gleichförmigkeit des Filmauftrages besteht. Dazu entwickelten sie multivariate Modelle zur off-line Analytik, die auf einer multivariaten Regressionsmethode (Partial Least Squares) beruhen.

El Hagrasy et al. [89] untersuchten im Gegensatz dazu nicht die Korrelation von Coatingdauer und Raman Spektren, sondern entwickelten ein off-line kalibriertes Modell im Labormaßstab zur Bestimmung des Massezuwachses. Dieses Modell konnte auf in-line gemessene Spektren angewendet werden, wodurch eine Prozessverfolgung ermöglicht wurde. Im Produktionsmaßstab wurden lediglich at-line Untersuchungen zur Gleichförmigkeit des Filmauftrages durchgeführt. Anhand dieser Ergebnisse leiteten sie die Mischeffizienz der Tabletten im Trommelcoater ab.

Müller et al. implementierten Raman Spektroskopie zur in-line Überwachung eines Wirkstoffcoatings und eines funktionellen Überzugsverfahrens [99, 100]. Für die Modelle zur Prozessüberwachung eines active coating Verfahrens wurden einfache Modellarzneiformen verwendet und eine Korrelation der Zielparameter Massezuwachs und Wirkstoffauftrag mit off-line gemessenen Raman Spektren aufgestellt. Grundlegende in-line ramanspektroskopische Untersuchungen im Produktionsmaßstab von realitätsnahen Modellarzneiformen wurden nicht durchgeführt.

## 2.4. Transfer von multivariaten Modellen

Um spektroskopische Methoden als PAT-Instrumente für Prozessapplikationen zu implementieren und die Variation der spektroskopischen Signale mit den entsprechenden Zielgrößen, wie z.B. der aufgetragenen Menge an Wirkstoff in einem active coating Prozess, korrelieren zu können, wird in den meisten Fällen auf multivariate Kalibriermodelle zurückgegriffen.

Mögliche Einschränkungen der Vorhersagekraft von multivariaten Modellen, z.B. bei der Endpunktbestimmung, treten insbesondere dann auf, wenn ein Modell auf Spektren angewendet werden soll, die von einem anderen Spektrometer oder mit einer anderen instrumentellen Ausrüstung des Überzugsprozesses, z.B. während eines Scale-ups, aufgenommen wurden. Folgende Situationen können dazu führen, dass ein Modell keine validen Ergebnisse liefert [101]:

- Veränderungen der physikalischen oder chemischen Eigenschaften des Analyten
- Veränderungen der Umgebungsbedingungen (Temperatur, Feuchte)
- Veränderungen der Messtechnik (Spektrometer, Reparaturen, Austausch von Sonden)

Dieser Problematik kann man mit zwei Lösungsansätzen begegnen: So besteht die Möglichkeit, für jede Gerätekonfiguration und jeden Einsatzort getrennt Modelle zu erstellen. Dieses Vorgehen ist sehr aufwändig, teuer und zeitintensiv, so dass diese Variante keine praktikable Lösung darstellt. Als Alternative kann mit dem Einsatz chemometrischer Standardisierungsmethoden und einer auf die Fragestellung zugeschnittenen Modellerstellungsstrategie die Robustheit von multivariaten Modellen und damit ihre Transferierbarkeit verbessert werden. Dies setzt voraus, dass der eigentlichen Modellerstellung eine wohlüberlegte Planung vorausgeht. Möglichst kompatible Messgeräte sollten als PAT-Instrumente eingesetzt werden. Für die Erstellung eines robusten multivariaten Modells ist die Auswahl des spektralen Datensets, das die Grundlage für die Kalibrierung bildet, entscheidend. Die im Nachhinein als störende Parameterschwankungen angesehene Variabilität, sollte von Beginn an in die Modellerstellung miteinbezogen werden. Falls dies nicht geschehen ist, besteht während der Modellpflege die Möglichkeit, ein im Prozess implementiertes Modell in

regelmäßigen Zeitabständen zu aktualisieren, indem das vorhandene Modell mit neu gemessenen Spektren ergänzt wird.

Des Weiteren stehen im Nachhinein zahlreiche Standardisierungsmethoden zur Verfügung, um gegebenenfalls bei einem Spektrometerwechsel die Regressionskoeffizienten [102], die spektrale Antwort (X-Datenmatrix) [103] oder die vorhergesagten Daten (Y-Datenmatrix) [104] durch mathematische Algorithmen zu korrigieren. Dies setzt jedoch voraus, dass eine gewisse Anzahl an Proben unter identischen Bedingungen, d.h. im Hinblick auf einen Spektrometerwechsel jeweils mit beiden Geräten oder bei Parameterschwankungen unter definierten Bedingungen, vermessen werden kann. Für off-line Messungen kann die Bedingung erfüllt werden, jedoch lassen sich die angesprochenen Standardisierungsmethoden nicht ohne weiteres auf in-line kalibrierte Modelle übertragen. Wenn solche Transferstandardisierungen nicht möglich sind, stehen Spektrenvorbehandlungsmethoden zur Verfügung mit deren Hilfe Basislinieneffekte oder gerätebedingte Intensitätsschwankungen vermindert werden können. Im Folgenden (vgl. Abschnitt 3.1) wird auf diese Methoden näher eingegangen und deren Vor- und Nachteile aufgezeigt.

---

## 3. Ergebnisse und Diskussion

### 3.1. Modellerstellungsstrategien

#### 3.1.1. Einleitung

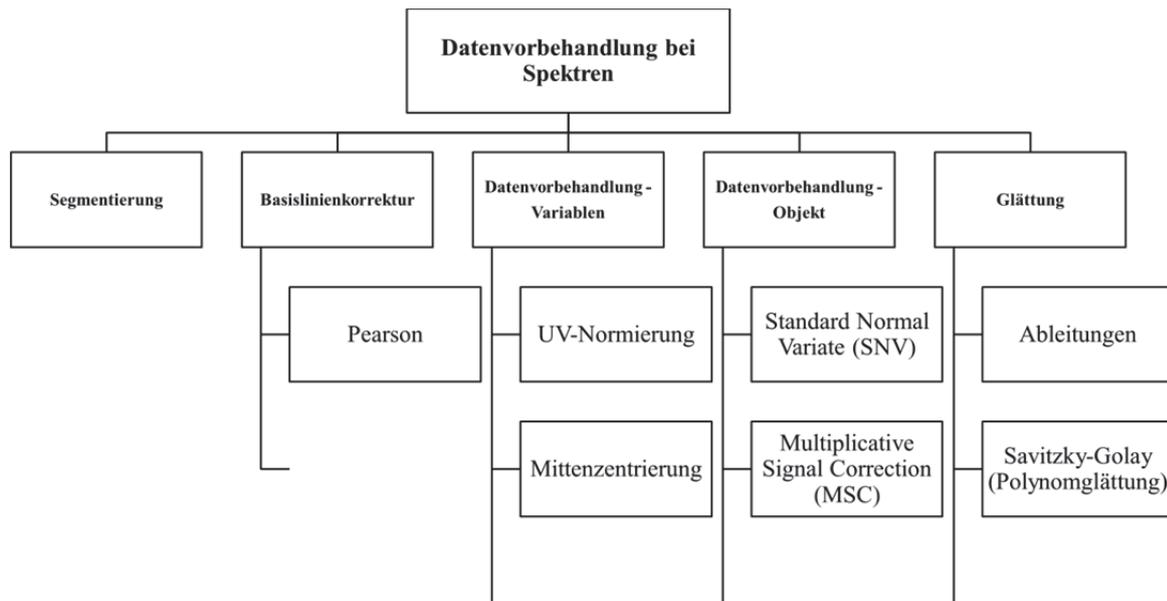
Es hängt in erster Linie von der richtigen Datenerhebung ab, ob eine analytische Methode in Bezug auf ihre Richtigkeit, Präzision und Robustheit wertvolle Ergebnisse liefern kann. Die experimentelle Planung zur Gewinnung von spektralen Daten bedarf hoher Aufmerksamkeit, da es wie bei jeder analytischen Methode zunächst das Ziel sein muss, bestmögliche Daten über das zu untersuchende System zu erhalten. Im Anschluss an eine repräsentative Datengewinnung lässt sich das Ergebnis durch eine wohlüberlegte Datenvorbehandlung so verbessern, dass methodenspezifische systematische und zufällige Fehler vermindert werden können [105].

Bevor beispielhaft Nutzen und Risiken anhand der Anwendung zweier typischer Vorbehandlungsmethoden dieser Techniken aufgezeigt werden sollen, werden im Folgenden die unterschiedlichen Ursachen systematischer und zufälliger Fehler, wie sie im Rahmen des Einsatzes der Raman Spektroskopie auftauchen, kurz erläutert:

- materialabhängiges Rauschen
- instrumentenabhängiges Rauschen
- Rauschen durch mathematische Datenbehandlung
- externes Rauschen

Ein wichtiger Parameter zur Beurteilung der Spektrenqualität ist das Signal-Rausch-Verhältnis. Es ist definiert als der Quotient aus der gemessenen Signalintensität und dem durch verschiedene Effekte verursachten Rauschen. Im Fall der Raman Spektroskopie sind u.a. Fluoreszenz (materialabhängiges Rauschen bzw. externes Rauschen), Detektorrauschen (instrumentenabhängiges Rauschen), Signalverarbeitungsmethoden und externe Faktoren, wie z.B. Lichteinstrahlung oder kosmische Strahlung, relevante Einflussgrößen. Abhängig von der Ursache der unerwünschten Messereignisse werden unterschiedliche Arten der Datenvorbehandlung eingesetzt, die den Einfluss der unerwünschten Messereignisse reduzieren. Jedoch lässt sich nicht jeder Fehler durch eine

entsprechende Vorbehandlungsmethode entfernen. Systematische Fehler, wie z.B. unregelmäßige Wellenzahl-Verschiebungen aufgrund einer fehlerbehafteten Achsen-Kalibrierung des Spektrometers, bedürfen grundlegender Überprüfungen im experimentellen Design. Treten jedoch z.B. Intensitätsänderungen im Raman Signal aufgrund von Schwankungen der Leistung des Lasers, Basislinienverschiebungen oder Fluoreszenzen auf, stehen die folgenden Vorbehandlungsmethoden zur Verfügung (vgl. Abbildung 3-1):



**Abbildung 3-1: Übersicht gängiger Datenvorbehandlungsmethoden**

Jedoch, wie schon im vorhergehenden Abschnitt angedeutet, bergen auch mathematische Vorbehandlungsmethoden mit dem Ziel, Rauschen zu minimieren, grundsätzlich die Gefahr in sich, artifizielles Rauschen zu erzeugen. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurden folgende Methoden angewendet: Mittenzentrierung, Segmentierung des Spektrums, Basislinienkorrektur nach Pearson und die Korrektur von Streueffekten (SNV).

Unter der Segmentierung von Spektren versteht man die Auswahl eines bestimmten Wellenzahlbereiches (vgl. Abschnitt 6.3.1.2). Sie wird eingesetzt, um die spektrale Datenmenge zu komprimieren. Bereiche im Spektrum, die nicht spezifisch für die interessierende Zielgröße sind, können so für die Modellerstellung ausgeschlossen werden. Dadurch kann verhindert werden, dass Bereiche im Spektrum mit einem hohen Rauschanteil das entwickelte Modell negativ beeinflussen, indem die zufällige Variation des Rauschens gleichzeitig modelliert wird. Bei der Anwendung dieser Methode ist jedoch

darauf zu achten, dass die Vorteile der multivariaten Datenanalyse bewahrt werden und nicht zu schmale Bereiche, die sich ausschließlich auf die interessierende Zielgröße beziehen, ausgewählt werden.

Sowohl die Basislinienkorrektur als auch die Korrektur von Streueffekten dienen dem Ziel, Rauschen von chemischer Information zu trennen. Vor- und Nachteile dieser Methoden werden im Folgenden näher erläutert. Ziel der Untersuchungen ist es durch die Auswahl der richtigen Spektrenvorbehandlung und Modellerstellungsstrategie, Raman Spektroskopie als PAT-Instrument für die Überwachung und Endpunktbestimmung eines active coating Prozesses von Zweischichttabletten zu implementieren.

### **3.1.2. Spektrenvorbehandlung**

Die gängigen Datenvorverarbeitungsmethoden bei Spektren lassen sich in fünf Kategorien einteilen [106]: Neben Algorithmen zur Basislinienkorrektur wird hauptsächlich zwischen Vorbehandlungsmethoden, die variablenabhängig, und denen, die objektabhängig durchgeführt werden, unterschieden. Die variablenabhängigen Methoden werden auch als Zentrierungs- bzw. Normierungsverfahren bezeichnet. Ihr Einsatz ist dann unabdingbar, wenn Variablen mit einem sehr unterschiedlichen Wertebereich multivariat ausgewertet werden. Die bekanntesten variablenabhängigen Vorbehandlungsmethoden sind die UV (unit variance)-Normierung und die Autoskalierung. Dabei verbindet die Autoskalierung eine UV-Normierung, d.h. eine Normierung auf die Standardabweichung einer Variable  $i$ , mit einer Mittenzentrierung. Für die Entwicklung einer Modellerstellungsstrategie wurde im Rahmen dieser Arbeit auf eine UV-Normierung verzichtet, da im Kontext der Spektrenvorbehandlung diese Methode den Einfluss spektraler Bereiche mit geringer Informationsdichte überproportional erhöht und dafür den Einfluss von Bereichen mit hoher Informationsdichte dementsprechend erniedrigt. Dies kann im Rahmen der multivariaten Modellbildung zu falschen Ergebnissen führen.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wird im Rahmen der variablenabhängigen Vorbehandlungsmethoden ausschließlich eine Mittenzentrierung durchgeführt. Dazu wird über jede Spalte der Datenmatrix  $X$ , also von jeder Variablen, der Mittelwert gebildet. Dieser Mittelwert wird dann von jedem Originalwert der Datenmatrix  $X$  abgezogen. Vorteil dieser Methode ist, dass der Schwerpunkt der Datenmatrix durch einzelne Variablen nicht verschoben und dadurch weniger Einfluss auf das entsprechende Modell genommen wird [55]. Glättungs- und Datenkomprimierungsverfahren werden für die

folgenden Modellerstellungsstrategien nicht verwendet und hier auch nicht weiter behandelt.

### 3.1.2.1. Pearson-Vorbehandlung

Pearson entwickelte im Jahre 1976 einen Algorithmus, der eine automatische computergestützte Basislinienkorrektur ermöglicht [107]. Ausgangspunkt einer Basislinienkorrektur ist die Annahme, dass das gemessene Spektrum zusammengesetzt ist aus einem Untergrund, der für die Messung nicht relevant ist, und dem eigentlichen zu messenden Signal. Ziel der Basislinienkorrektur ist es, den Verlauf des Untergrundes zu identifizieren und durch Subtraktion des Untergrundes vom gemessenen Spektrum das ungestörte relevante Messsignal zu erhalten. Früher beruhten Basislinienkorrektur-Methoden auf der subjektiv vom Menschen getroffenen Auswahl signalfreier Bereiche, die dann computergestützt durch Polynome angenähert, in die signalbehafteten Bereiche extrapoliert und schließlich von den Ursprungsdaten subtrahiert wurden. Bei der Pearson Methode wird die Basislinie automatisch durch einen Algorithmus identifiziert, sodass eine subjektive Auswahl überflüssig wird. Der Pearson Algorithmus beruht auf einem iterativen Prozess, der in Abbildung 3-2 veranschaulicht ist.

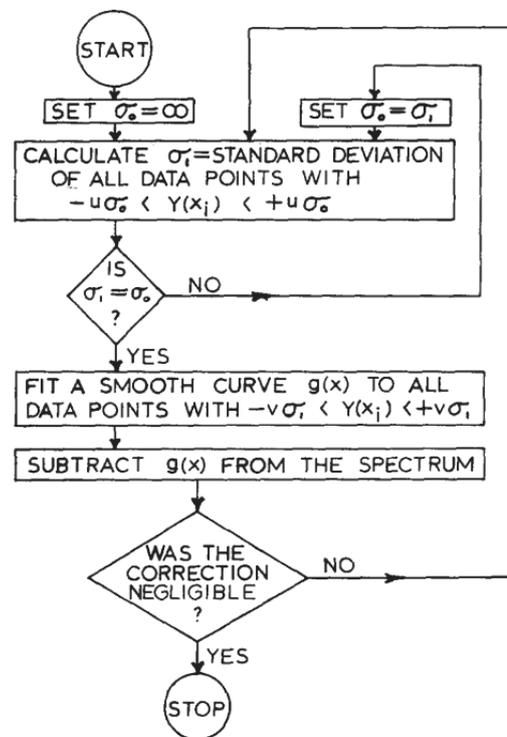


Abbildung 3-2: Flussdiagramm für den Basislinienkorrektur-Algorithmus nach Pearson [107]

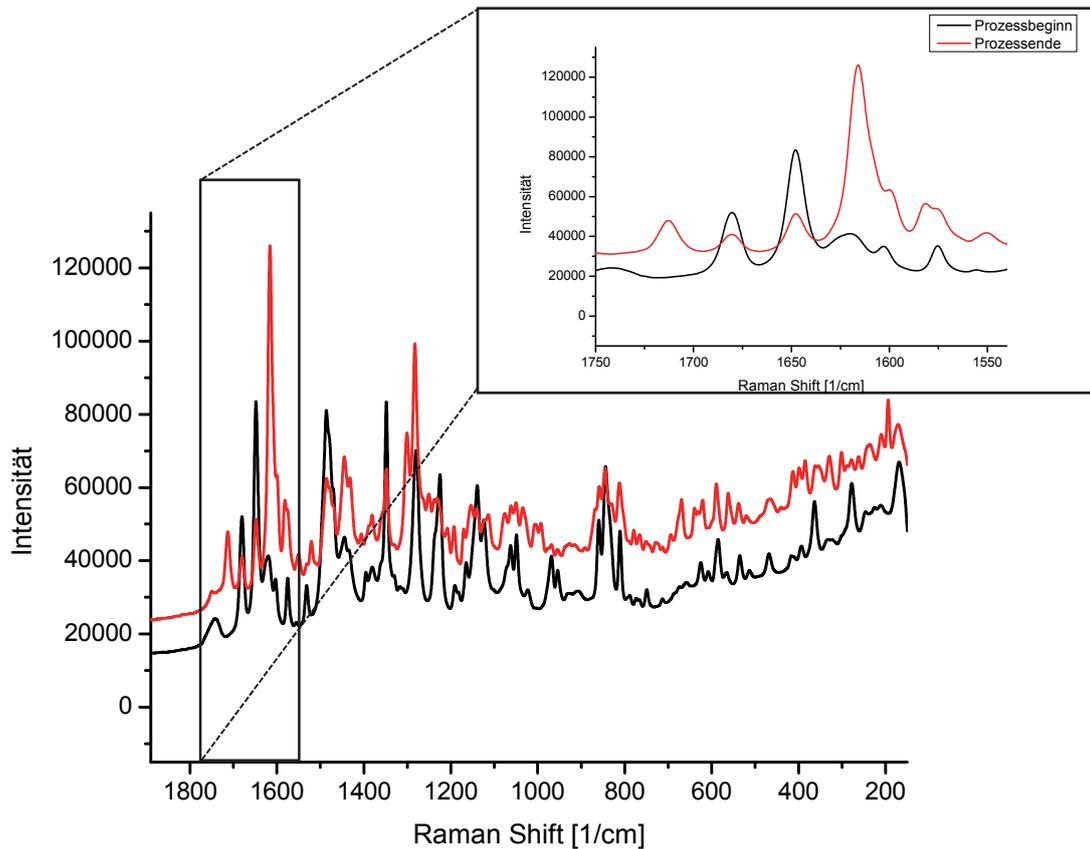
Kernelement ist die Heaviside Funktion, auch Einheitssprungfunktion genannt (vgl. Gl. 3-1):

$$\theta(x) = \begin{cases} 0: x < 0 \\ 1: x \geq 0 \end{cases} \quad \text{Gl. 3-1}$$

$$\sigma_1 = \left[ \frac{\sum_i [Y(x_i)]^2 \theta(u\sigma_1 - |Y(x_i)|)}{1 + \sum_i \theta(u\sigma_1 - |Y(x_i)|)} \right]^{1/2} \quad \text{Gl. 3-2}$$

Um die Punkte  $Y(x_i)$  zu identifizieren, die Teil der Basislinie sind, wird eine Basislinien „Standardabweichung“ ( $\sigma$ ) berechnet (vgl. Gl. 3-2). Alle Punkte, die zwischen  $\pm v\sigma$  ( $v$  ist eine Konstante) liegen, werden als Teil der Basislinie erkannt; Peaks und Banden, die über den oben berechneten Basislinienbereich hinausgehen, werden für die Basislinien-Annäherung nicht herangezogen. Diese Unterscheidung wird mit Hilfe der Heaviside Funktion erreicht. Ist der Punkt  $Y(x_i)$  größer als  $u\sigma_1$  ergibt die Funktion das Ergebnis 0 (vgl. Gl. 3-1) und geht nicht mit in die Berechnung der Basislinien „Standardabweichung“ ein. Um die Basislinie zu korrigieren, wird anschließend eine Kurve durch den Basislinienbereich gelegt und vom jeweiligen Spektrum abgezogen.

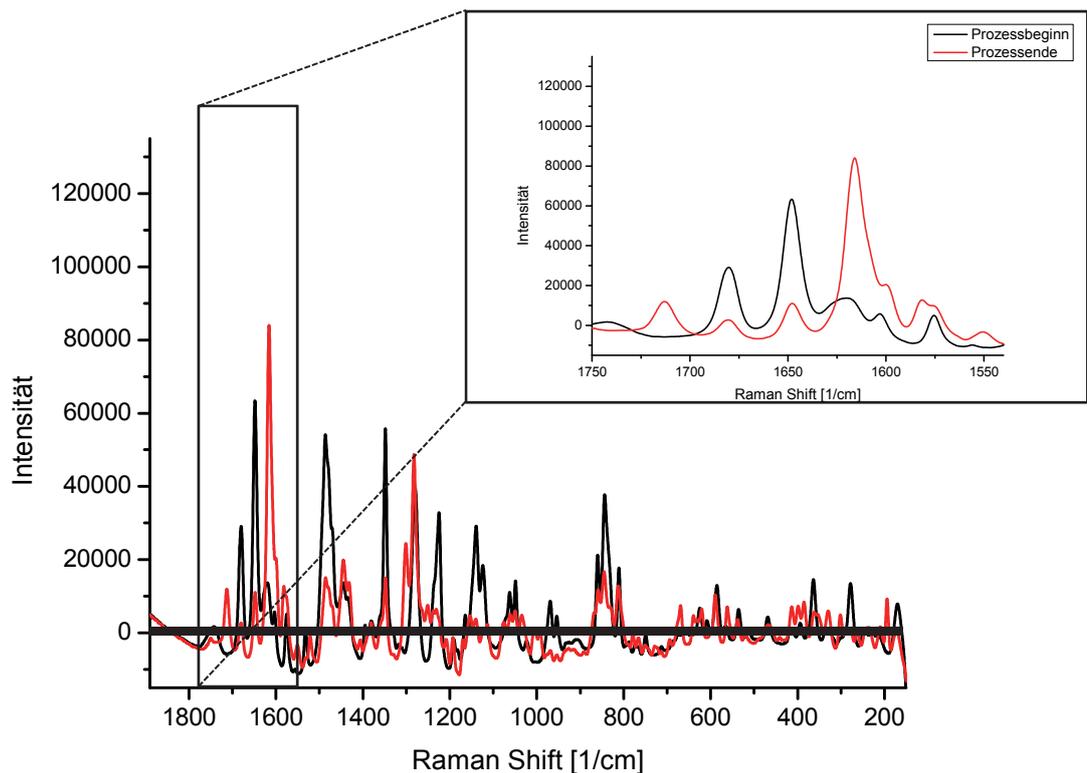
Abbildung 3-3 und Abbildung 3-4 zeigen im Prozess gemessene in-line Raman Spektren der Tablettenkerne als Rohdaten und das Ergebnis der Pearson Basislinienkorrektur. Die Raman Spektren zeigen den Anfang und das Ende eines active coating Prozesses. Das schwarze Spektrum illustriert den Prozessbeginn, zu dem noch kein Wirkstoff aufgetragen worden ist. Das rote Spektrum ist zum Prozessende aufgenommen worden. Sowohl zu Beginn als auch zum Ende des Prozesses zeigen die Rohspektren eine starke, nicht linear verlaufende Basislinienverschiebung. Solche Verschiebungen, die u.a. durch Fluoreszenzeffekte entstehen können, gehören zu den häufigsten spektralen Varianzen im Kontext der Raman Spektroskopie. Je nach Ursache können diese systematischen Basislinieneffekte unterschiedlich stark ausgeprägt sein und die gewünschte Analytik so stark dominieren, dass eine multivariate Datenanalyse keine validen Ergebnisse liefert [108].



**Abbildung 3-3: In-line Raman Spektren aus Rohdaten von Prozessbeginn und -ende (Messzeit: 1 min)**

Eine mögliche Ursache für die ausgeprägte Basislinienverschiebung kann in der qualitativen Zusammensetzung des Probensystems gefunden werden (vgl. Abschnitt 6.1.1): In dem mit Celluloseacetat überzogenen Tablettenkern ist in der osmotischen Quellschicht Eisenoxid als Pigment enthalten. Dieses ermöglicht es, bei der späteren, lasergesteuerten Lochbohrung über eine Bilderkennungssoftware die jeweils richtige Seite zu treffen. Dieses Pigment ist analog zu vielen organischen Farbstoffen in der Literatur [109, 110] bekannt für seine Neigung zur Fluoreszenzbildung. Die Fluoreszenz tritt verstärkt auf, weil Eisenoxid in der Nähe der Anregungswellenlänge des Lasers selbst Absorptionsbanden aufweist. Diese Fluoreszenz führt in den gemessenen Raman Spektren zu einem strukturlosen Untergrund, der eine Verschiebung der Basislinie bewirkt. Möglichkeiten zur Vermeidung bzw. Verminderung dieser Fluoreszenz bestehen im Wechsel der Laseranregungswellenlänge von 785 nm auf 1065 nm. Neben der Verringerung der Fluoreszenz (also des Rauschens) führt dies jedoch auch zu einer geringeren Intensität der Raman-Linien (des Signals), sodass das Signal-Rausch-Verhältnis sich durch diese Maßnahme nicht notwendigerweise verbessert. Als mathematisches Verfahren zur Reduzierung der Basislinieneffekte wird die oben beschriebene Pearson Transformation angewandt. Abbildung 3-4 zeigt das Ergebnis dieser

Vorbehandlungsmethode. Die Basislinienverschiebung kann durch das Verfahren vollständig entfernt werden. Jedoch zeigen nun einzelne spektrale Bereiche negative Intensitäten. Dies verdeutlicht, dass mathematische Vorbehandlungsmethoden gegebenenfalls zu unphysikalischen Ergebnissen führen können. Bereiche mit negativer Intensität könnten so in die multivariate Modellbildung miteinbezogen werden, was letztlich zu einer Verfälschung der Ergebnisse bzw. einer Verschlechterung der Vorhersagekraft der entwickelten Modelle führt.



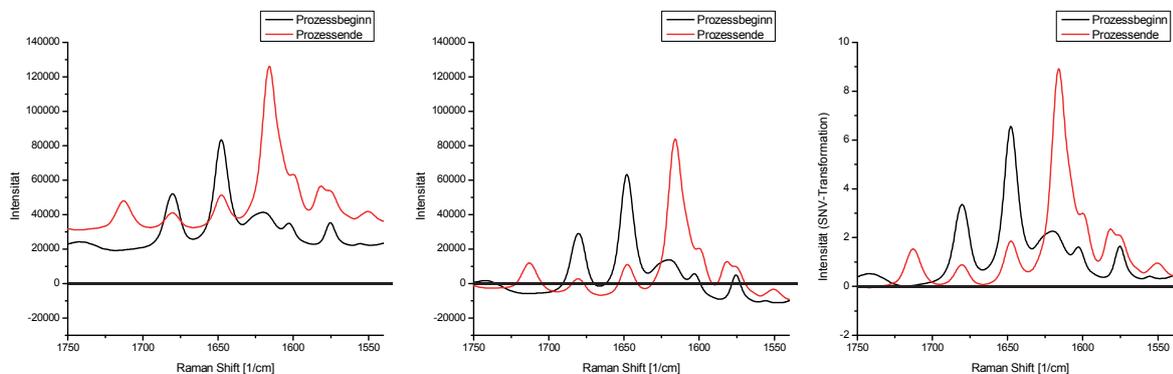
**Abbildung 3-4:** In-line Raman Spektren von Prozessbeginn und -ende nach Pearson-Vorbehandlung (Messzeit: 1 min)

### 3.1.2.2. SNV-Vorbehandlung

Bei der Standard Normal Variate (SNV) - Transformation werden sowohl multiplikative als auch additive Korrekturen vorgenommen. Dabei wird jedes Spektrum separat transformiert. Die additive Korrektur erfolgt durch die Zentrierung des Spektrums um die Nulllinie. Die multiplikative Korrektur stellt eine Normierung dar, die durch Division jedes Datenpunktes durch die Standardabweichung seiner Datenpunkte (vgl. Gl. 3-3) erreicht wird [111, 112]. Hierbei steht  $x_i$  für die errechnete Intensität bei der Wellenzahl  $i$  und  $\bar{x}$  ist der Mittelwert aller Intensitäten der  $p$  Wellenzahlen des gegebenen Spektrums.

$$x_{i,SNV} = \frac{(x_i - \bar{x})}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^p (x_i - \bar{x})^2}{p-1}}} \quad \text{Gl. 3-3}$$

Wie die Gl. 3-3 zeigt, handelt es sich anders als bei der Pearson Vorbehandlung bei der SNV-Transformation um ein Standardisierungsverfahren, d.h. jedes einzelne Spektrum wird normiert. Normierungsverfahren sind in der Raman Spektroskopie sowohl in der qualitativen als auch in der quantitativen Analytik von großer Bedeutung. Schwankungen in der Leistung des Lasers, Temperaturveränderungen, aber auch Veränderungen des Brechungsindex oder der Orientierung einer Probe haben direkten Einfluss auf die Raman Intensität. Mit Hilfe der SNV-Transformation können solche Effekte minimiert werden.



**Abbildung 3-5: Vergleich der unterschiedlichen Vorbehandlungsmethoden (von links nach rechts: Rohdaten, Pearson-Vorbehandlung und SNV-Transformation).**

Die Auswirkungen der SNV-Transformation im Vergleich zum Ergebnis der Pearson-Vorbehandlung auf die spektralen Daten zeigt zusammenfassend Abbildung 3-5. Basislinienseffekte werden durch beide Vorbehandlungsmethoden effektiv vermindert, jedoch führt nur die SNV-Vorbehandlung die für die in-line Prozessanalytik wichtige Normierung durch. Somit zeigt eine Kombination beider Vorbehandlungsmethoden keinen Vorteil gegenüber der alleinigen SNV-Transformation. Es besteht eher die Gefahr, dass durch zusätzliche Datenvorverarbeitungsmethoden bei Spektren artifizielles Rauschen erzeugt wird, das die Vorhersagekraft der Modelle gefährden kann. Im Folgenden wird der Einfluss der Vorbehandlungsmethode auf die Modellerstellung und die Vorhersagekraft näher untersucht.

Beispielhaft an einer Inprozess-Überwachung lässt sich der Effekt der richtigen Spektrenvorbehandlung anschaulich erklären:

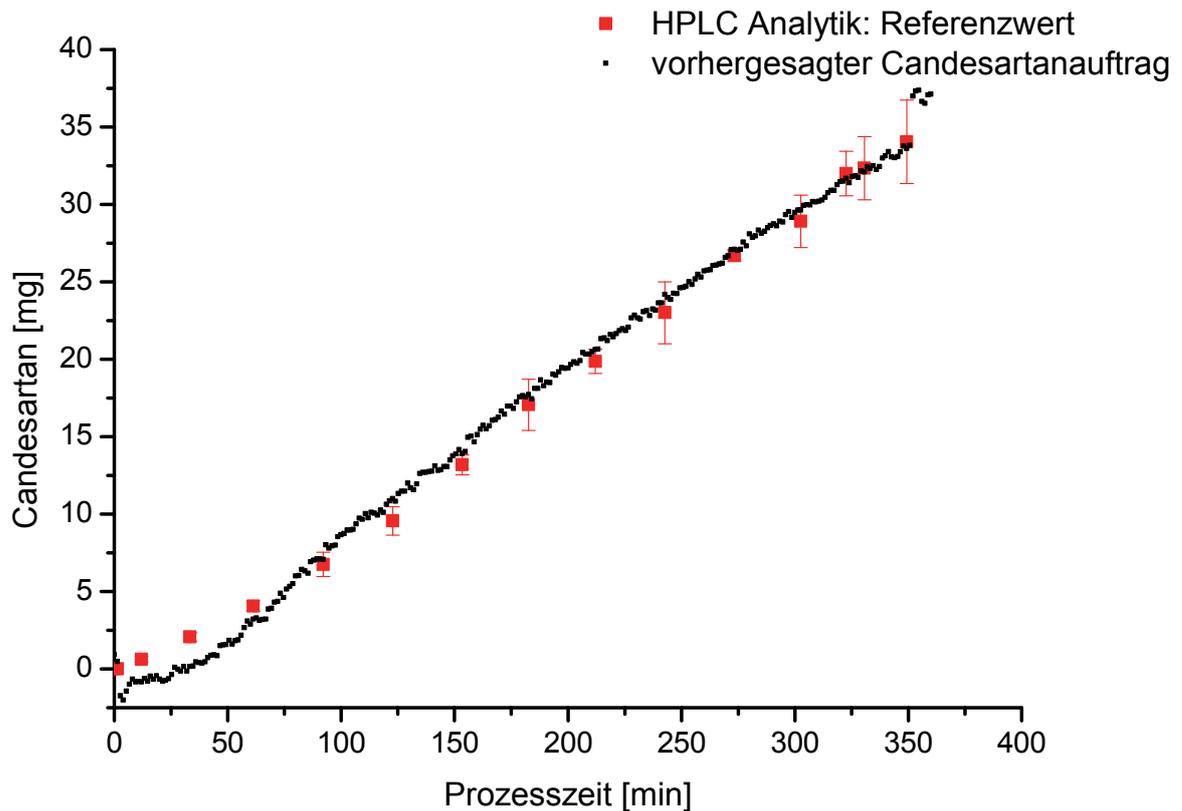
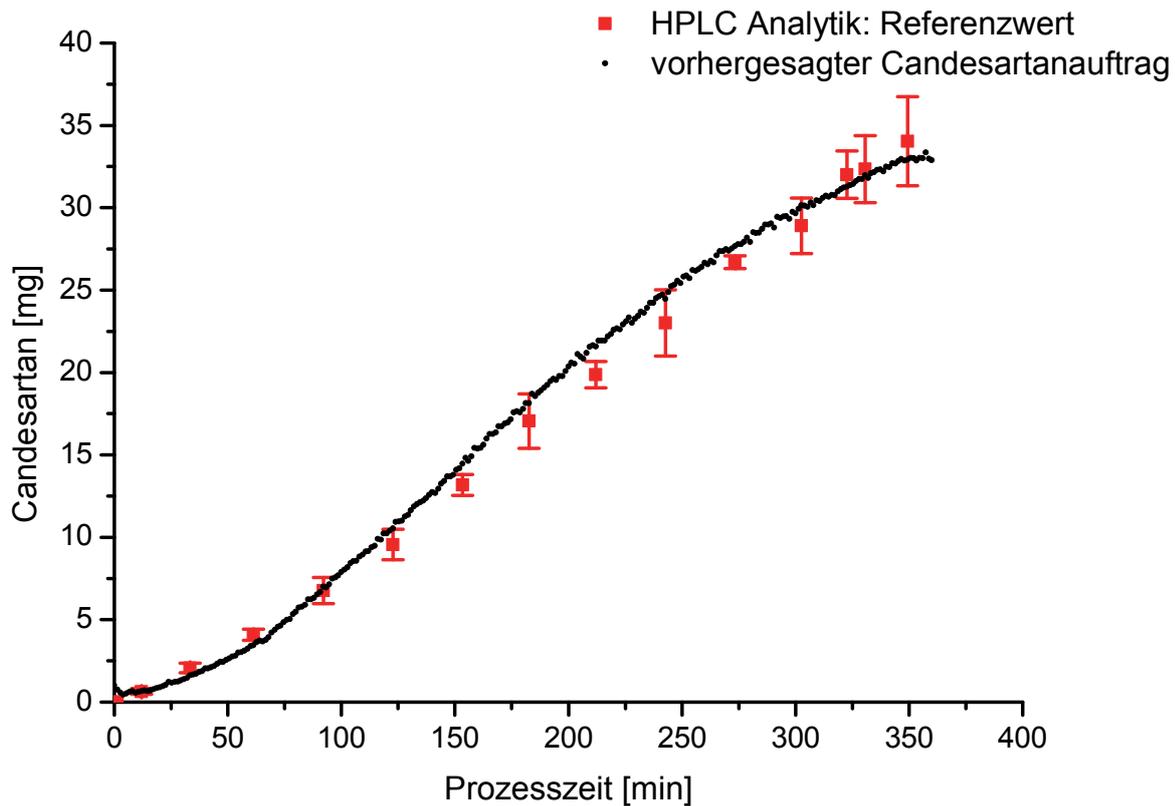


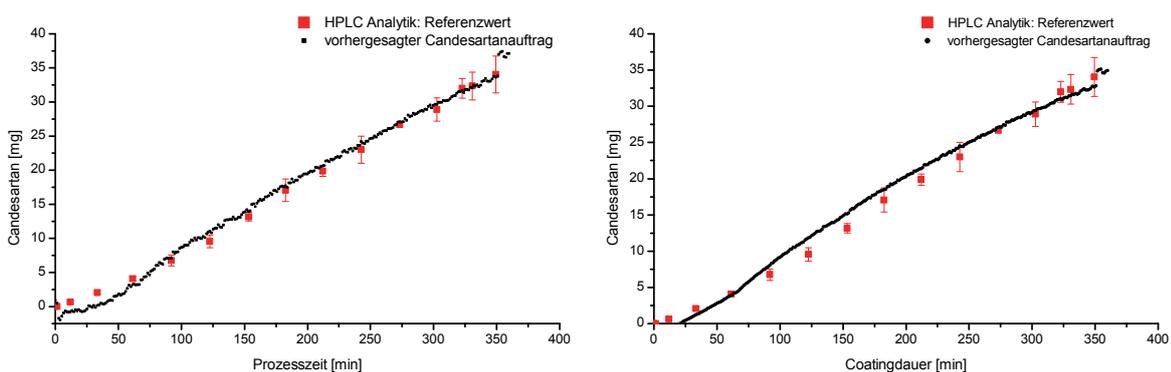
Abbildung 3-6: Vorhersage der aufgetragenen Candeseartancilexetilmenge [mg] anhand der Rohspektren aus in-line Messungen: Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x} \pm s$ ).

Der Nutzen eines Normierungsverfahrens ist besonders prägnant, wenn sich während des Prozesses Veränderungen in der Packungsdichte der Kerne bzw. der Orientierung ergeben. Solche Veränderungen treten u.a. dann auf, wenn nach Beendigung der Sprühphase die Trommeldrehzahl für die Trocknungs- bzw. Abkühlphase erniedrigt wird [86]. Ohne Normierung der Spektren zeigt sich während der oben beschriebenen Veränderungen ein sprunghafter Anstieg der Raman Intensität (vgl. Abbildung 3-6). Werden SNV-transformierte Spektren für die Modellerstellung verwendet, wie in Abbildung 3-7 dargestellt, so ist kein Stufeneffekt bei einem Wechsel zwischen Aufwärm- und Coatingphase bzw. Coating- und Trocknungsphase erkennbar. Die vorliegende Intensitätsänderung des gesamten Spektrums lässt sich somit durch eine Normierung, wie sie bei der angewandten SNV-Transformierung stattfindet, ausgleichen. Zusätzlich zur Packungsdichte hat bei diesem Prozessschrittwechsel auch die Temperaturänderung einen Einfluss auf die Raman Intensität. Dieser Parameter wird ausführlich in Abschnitt 3.4.3.2 behandelt.



**Abbildung 3-7: Vorhersage der aufgetragenen Candesartancilexetilmenge [mg] anhand der SNV-transformierten Spektren aus in-line Messungen: Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen (n = 10;  $\bar{x} \pm s$ ).**

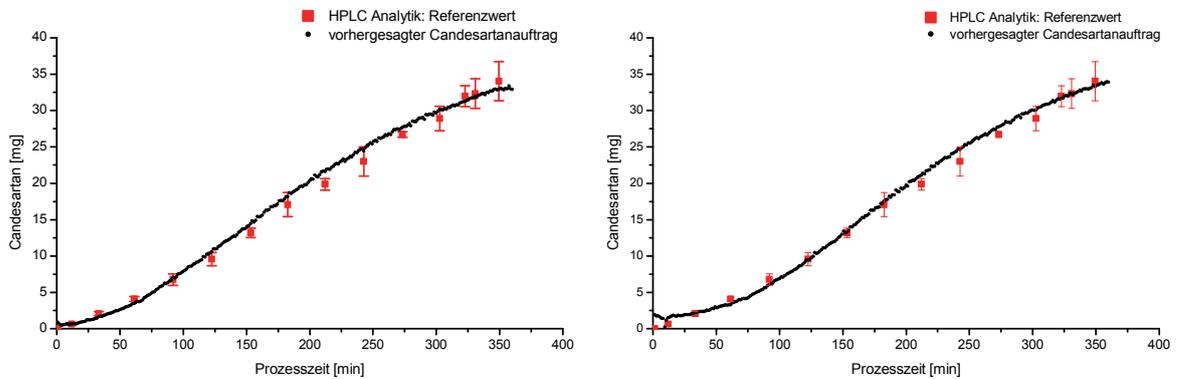
In Abbildung 3-6 und Abbildung 3-7 konnte der Nutzen des SNV-Vorbehandlungsmethode gezeigt werden. Dabei gilt es abschließend zu klären, ob eine zusätzliche Pearson Vorbehandlung in Hinblick auf eine Prozessüberwachung Vorteile aufweist.



**Abbildung 3-8: Vergleich der unterschiedlichen Vorbehandlungsmethoden: Modellerstellung ohne Datenvorbehandlung (links) und mit Pearson Vorbehandlung (rechts)**

Die fehlende Normierung bei Anwendung des Pearson-Algorithmus (vgl. Abbildung 3-5) wird auch anhand von Abbildung 3-8 ersichtlich. Dabei sind die Ergebnisse ohne Spektrenvorbehandlung denen mit Pearson Vorbehandlung gegenübergestellt. Die hohen

mittleren Vorhersagefehler (RMSEP, vgl. Abschnitt 6.3.1.3.1) von 0,93 mg für das Modell ohne Vorbehandlung und 1,32 mg für das Pearson-vorbehandelte Modell zeigen, dass beide Modellerstellungsstrategien ungeeignet sind und auch kein Zusatznutzen der Pearson Vorbehandlung vorliegt.



**Abbildung 3-9: Vergleich der unterschiedlichen Vorbehandlungsmethoden: Modellerstellung auf Basis von SNV-transformierten Spektren (links) und einer Kombination aus SNV-Transformation und Pearson Vorbehandlung (rechts)**

Wird nun für die Modellerstellung vor der SNV-Transformation der Raman Spektren zusätzlich eine Pearson-Vorbehandlung durchgeführt, hat dies keine deutlichen Auswirkungen auf die Vorhersagekraft, ausgedrückt als RMSEP (vgl. Abbildung 3-9). Der RMSEP erhöhte sich durch die zusätzliche Vorbehandlung um 0,06 mg. In Anbetracht des nicht detektierbaren Vorteils einer Kombination aus SNV- und Pearson Vorbehandlung bei der Modellerstellung und der in Abbildung 3-4 (S. 25) gezeigten zum Teil unphysikalischen Ergebnisse der Pearson Vorbehandlung, wird im Rahmen der weiteren Modellerstellungen allein die SNV-Transformation als objektbezogene Vorbehandlungsmethode verwendet. Dennoch muss auch bei der SNV-Transformation sorgfältig auf die Auswirkungen dieser Vorbehandlungsmethode geachtet werden. Bevor eine Vorbehandlungsmethode ausgewählt wird, müssen abhängig von dem verwendeten Algorithmus Änderungen in den spektralen Daten überprüft werden. Wie stark sich solche Methoden auswirken können, zeigt folgendes Beispiel:

Im Rahmen der Entwicklung einer Modellerstellungsstrategie, die in den folgenden Abschnitten näher erläutert wird, wurde neben den Zweischiichttablett-Kernen auch das Überzugsmaterial als freier Film untersucht, um den Einfluss der Filmdicke auf die Modellerstellung zu bestimmen. Hierzu wurden Filme, die qualitativ und quantitativ denen des Überzugsverfahrens entsprachen, mit definierter Dicke hergestellt (vgl. Abbildung 3-10). Die Filme wurden mit zwei verschiedenen Techniken hergestellt: Filme

mit einer definierten Dicke geringer als 200  $\mu\text{m}$  wurden im Filmziehverfahren, größer als 200  $\mu\text{m}$  im Gießverfahren hergestellt (vgl. Abschnitt 6.2.5.1.1).

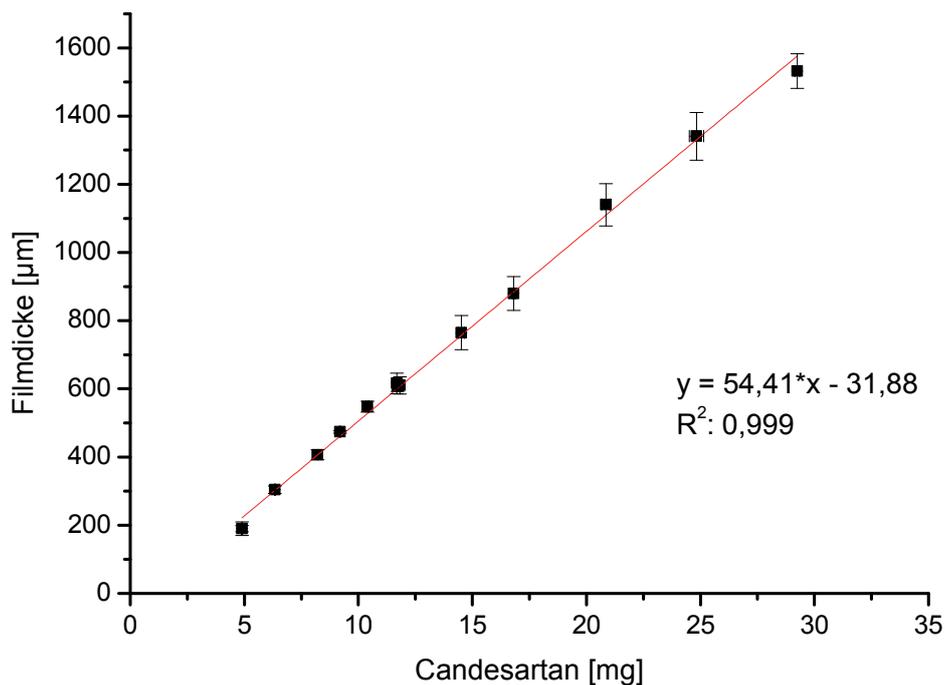


Abbildung 3-10: Im Gieß- bzw. Filmziehverfahren hergestellte Filme ( $d = 190, 304, 1532 \mu\text{m}$ )

Tabelle 3-1 und Abbildung 3-11 zeigen, dass unabhängig von der Herstellungsmethode im Bereich von 190 – 1532  $\mu\text{m}$  ein linearer Zusammenhang zwischen der Filmdicke, die manuell mit einer Mikrometerschraube bestimmt wurde, und dem Wirkstoffgehalt im Film besteht. Dieser lineare Zusammenhang ist grundlegend für die weiteren spektroskopischen Untersuchungen und die Evaluation der Vorbehandlungsmethodik.

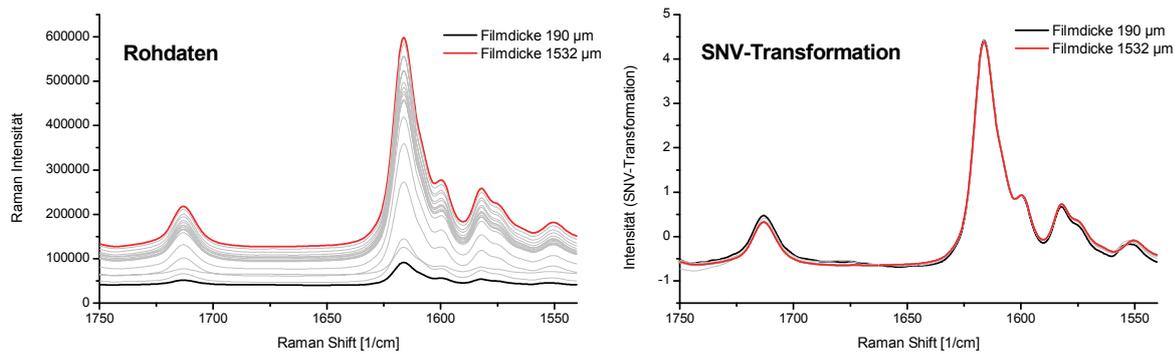
Tabelle 3-1: Übersicht zu Herstellungsmethoden und Filmdicken (Mikrometerschraube) bzw. resultierenden Wirkstoffmengen (HPLC)

	Herstellung	Filmdicke [ $\mu\text{m}$ ]	Candesartancilexetil [mg]
Film 1	Filmziehbank	190	3,80
Film 2	Filmziehbank	190	4,19
Film 3	Gießverfahren	304	6,34
Film 4	Gießverfahren	407	8,21
Film 5	Gießverfahren	474	9,19
Film 6	Gießverfahren	548	10,39
Film 7	Gießverfahren	607	11,72
Film 8	Gießverfahren	610	11,82
Film 9	Gießverfahren	616	11,69
Film 10	Gießverfahren	650	13,08
Film 11	Gießverfahren	730	14,56
Film 12	Gießverfahren	765	14,52
Film 13	Gießverfahren	880	16,81
Film 14	Gießverfahren	1140	20,85
Film 15	Gießverfahren	1341	24,82
Film 16	Gießverfahren	1532	29,25



**Abbildung 3-11: Mittlere Filmdicke  $\bar{d} \pm s$  (an drei verschiedenen Messstellen bestimmt) in Abhängigkeit von der Wirkstoffmenge pro Film**

Ramanspektroskopische Messungen wurden an unterschiedlich dicken Filmen mit unterschiedlichem Wirkstoffgehalt durchgeführt, um den Einfluss der Filmdicke, wie er auch bei Überzugsprozessen eine Rolle spielen kann, auf die Raman Intensität zu beurteilen. Dieses Probensystem wurde ausgesucht, um einen Einfluss des Tablettenkerns zu eliminieren. Vergleicht man den Ausschnitt der Spektren vom Film (vgl. Abbildung 3-12) mit denen der kompletten Arzneiform (Tablettenkern und Filmüberzug, vgl. Abbildung 3-5, S. 26) erkennt man zwei Regionen, die während des Prozesses an Intensität zunehmen: Die Banden bei einem Raman Shift von  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  und  $1713,3 \text{ cm}^{-1}$  können dem Wirkstoff Candesartancilexetil zugeordnet werden. So führt die Valenzschwingung der C=C – Bindung im Benzengerüst von Candesartancilexetil zu einer charakteristischen Bande bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  und die der Carbonyl-Gruppe eines Esters zu einer Bande bei  $1713,3 \text{ cm}^{-1}$ . Im Bereich von  $1749,9 \text{ cm}^{-1}$  bis  $1540,2 \text{ cm}^{-1}$  wird somit das Raman Spektrum des freien Films ausschließlich vom Wirkstoff bestimmt.

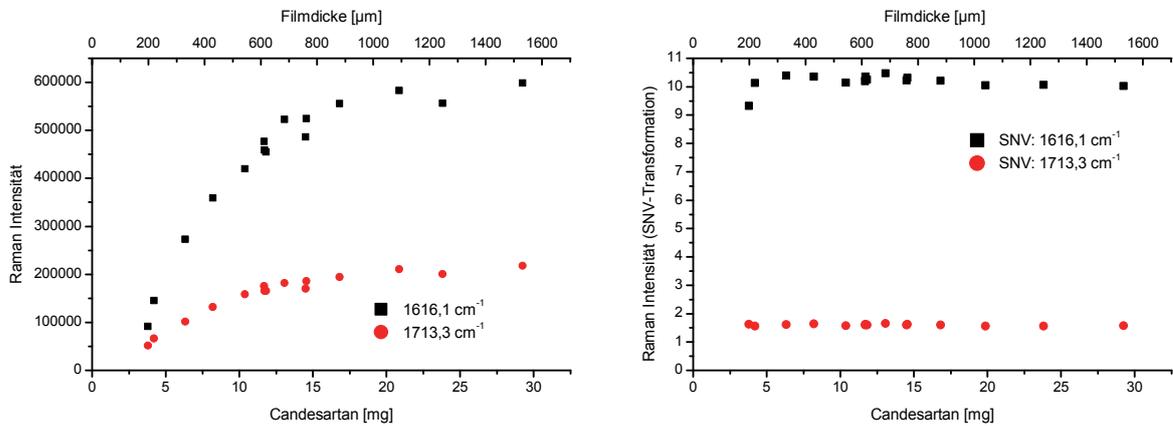


**Abbildung 3-12: Rohspektren (links) und SNV-transformierte Spektren (rechts) von unterschiedlich dicken Candestancilexetil-Filmen (Messzeit: 1 min)**

Zur Auswertung wurde in Abbildung 3-13 die univariate Raman Intensität der Rohspektren bei verschiedenen Wellenzahlen gegen die Filmdicke bzw. den per HPLC bestimmten Wirkstoffgehalt aufgetragen. Nach einem linearen Anstieg der Intensität bis ca. 400 µm Filmdicke, nimmt die Steigung der Kurve ab und endet schließlich ab ca. 1000 µm in einer Sättigung. Dieses Verhalten zeigt sich unabhängig von der Wellenzahl und der Größe der Raman Bande bei dieser univariaten Auswertung. Transformiert man diese Rohspektren mit der SNV-Methode, führt dies zu einer fast vollständigen Nivellierung der zuvor noch relativ stark ausgeprägten Intensitätsunterschiede. Dabei helfen die Raman Spektren, sowohl die Rohdaten als auch die transformierten Spektren, bei der Erklärung weiter. Durch die SNV-Transformation werden u.a. sogenannte „offsets“ der Basislinie entfernt. Zusätzlich findet eine Gewichtung der einzelnen Wellenzahlen statt, indem Bereiche mit hoher Intensität herabgesetzt und solche mit niedriger Intensität aufgewertet werden. Dies lässt sich aus dem Algorithmus, der die SNV-Transformation beschreibt, ableiten (vgl. Gl. 3-3, S. 26). Von jedem einzelnen Intensitätswert zur gegebenen Wellenzahl wird der Mittelwert des gesamten Spektrums abgezogen und danach wird durch die jeweilige Standardabweichung geteilt. Der hier skizzierte Fall ist insofern besonders, als dass im ausgewählten spektralen Bereich nur Informationen bezüglich des Wirkstoffs enthalten sind und diese eine starke Varianz aufweisen. Somit führt die SNV-Transformation in diesem Fall nicht zu einer Analytikverbesserung, sondern bewirkt genau das Gegenteil, eine Eliminierung chemischer Informationen (vgl. Abbildung 3-12).

Somit lässt sich festhalten, dass die SNV-Transformation zur Verminderung von Streueffekten bzw. Basislinienverschiebungen in Spektren sehr effektiv eingesetzt werden kann. Wenn in den Spektren der Großteil der chemischen Information identisch ist und nur Variationen hinsichtlich der Intensität auftreten, kann der SNV-Algorithmus zu einer

Eliminierung von chemischer Information führen. Liegen jedoch deutliche Unterschiede in der chemischen Information vor, wie eine Zunahme des Überzugsignals und eine Abnahme des Kernsignals im Laufe des Prozesses, so kann das Rauschen im Spektrum eliminiert werden. Die chemische Information bleibt hingegen erhalten, was einer Verbesserung der Analytik dient.



**Abbildung 3-13: Raman Intensität der Rohspektren (links) und der Spektren nach SNV-Transformation (rechts) in Abhängigkeit von der Filmdicke [µm] bzw. der Wirkstoffmenge [mg]**

### **3.1.3. In-line Prozessanalytik**

#### **3.1.3.1. Zielsetzung**

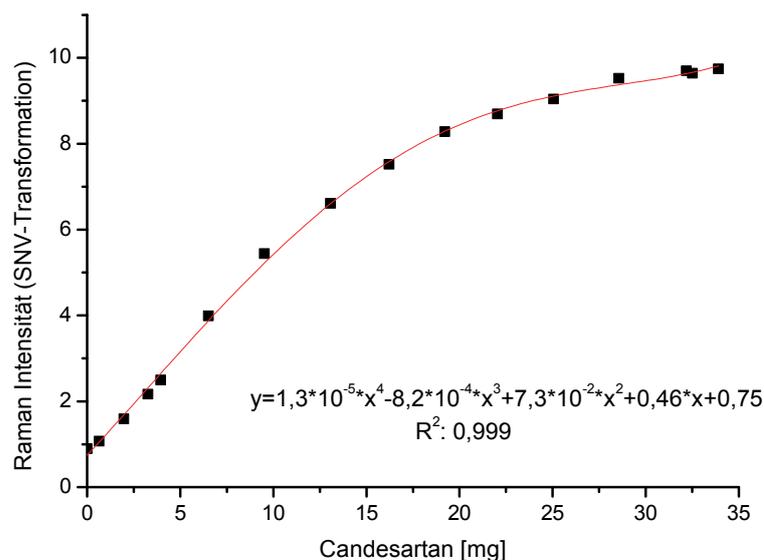
Ziel der folgenden Untersuchungen war es, im Hinblick auf die Etablierung einer erfolgreichen in-line Prozessanalytik im Labormaßstab (BFC 5) unterschiedliche Modellerstellungsstrategien zu entwickeln und diese an die Anforderungen der vorliegenden Arzneiform anzupassen. Dabei wurden sowohl univariate als auch multivariate Ansätze berücksichtigt und ein Vergleich zwischen off-line und in-line Kalibrierungen hergestellt. Ein repräsentativer Probensatz, der eine Spannweite bis 32 mg Wirkstoffauftrag umfasste, wurde für die Kalibrierung verwendet und sollte damit eine Vorhersage des zeitlichen Prozessverlaufs ermöglichen.

#### **3.1.3.2. Univariate Modellerstellung**

Wie bei der multivariaten Regressionsrechnung zur Erstellung der Kalibrierung wurde auch im Rahmen der univariaten Modellerstellung die Kalibrierfunktion als inverse Kalibrierfunktion berechnet und somit eine Fehlerminimierung in Richtung der Candestancilexetilmenge durchgeführt [54, 94]. Zur univariaten Auswertung wurde die SNV-transformierte Raman Intensität einer festen Wellenzahl gegen die Candestancilexetilmenge aufgetragen und daraus eine Kalibrierfunktion errechnet. Die Raman Spektren beider Tablettenseiten wurden off-line aufgenommen, daraus jeweils gewichtete Mittelwerte berechnet, die für die univariate Modellerstellung herangezogen wurden. (vgl. Abschnitt 6.2.5.1.2). Die Analytmenge wurde mittels HPLC-Analytik bestimmt. Dafür wurden jeweils 10 Tabletten pro Probenzug einzeln dreifach vermessen und daraus das arithmetische Mittel bestimmt. Abbildung 3-14 zeigt das Ergebnis der Kalibrierung, die nicht, wie erwartet, durchgehend linear verläuft. Nach einem anfänglichen linearen Zusammenhang zwischen der Raman Intensität bei gegebener Wellenzahl und der absoluten Analytmenge nimmt die Steigung immer weiter ab und erreicht ein Plateau. Dieser Kurvenverlauf konnte für die charakteristische Wellenzahl bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  gezeigt werden. Weitere Wellenzahlen ( $1713,3$  und  $1228,8 \text{ cm}^{-1}$ ), die sich Wirkstoffbanden zuordnen lassen, wurden auch im Hinblick auf die univariate Modellerstellung getestet und zeigten ein identisches Verhalten. Eine Sättigung bedeutet dabei, dass trotz eines weiteren Wirkstoffzuwachses auf den Tabletten, die Raman Intensität der für den Wirkstoff charakteristischen Wellenzahl nicht weiter ansteigt, obwohl allgemein ein linearer Zusammenhang zwischen Signal Intensität und Menge an

ramanstreuenden Molekülen gilt [113, 114]. Eine mögliche Ursache für den vorliegenden Effekt kann im Einfluss der Schichtdicke des Filmüberzuges gefunden werden. Licht ausgehend vom Laser zur Anregung der Raman Streuung durchdringt die Schicht des Filmüberzuges nicht ohne Abschwächung. Dies gilt auch für die zurückgestrahlte Raman Streuung in Richtung Detektor. In Abschnitt 3.2.2 wird dieser Effekt eingehender erläutert.

Ein Polynom 4. Ordnung bildet den Zusammenhang zwischen Candesartancilexetilmenge und Raman Intensität im vorliegenden untersuchten Bereich am besten ab. Die Funktionsgleichung ist in Abbildung 3-14 gegeben. Die Tatsache, dass auch ohne Wirkstoffauftrag, ein SNV-transformiertes Raman Signal von 0,9 gemessen wurde, lässt sich mit dem vorhandenen Untergrundsignal des Tablettenkerns erklären (vgl. Abbildung 3-54, S. 86). Es gibt keinen Bereich im Raman Spektrum der Rohstoffe, in dem allein durch den Wirkstoff an sich ein ausreichend hohes Raman Signal erzeugt wird. Dies ist u.a. ein Grund dafür, warum im weiteren Verlauf multivariate Modellerstellungsansätze verfolgt werden. Das Ziel der Untersuchung war jedoch nicht ausschließlich, den Zusammenhang zu beschreiben, sondern darauf basierend auch Vorhersagen für andere Spektren aus unterschiedlichen Chargen zu ermöglichen. Daher wurde das Kalibriermodell zunächst an Spektren derselben Charge getestet. Diese Spektren wurden jedoch nicht für die Erstellung des Kalibriermodells verwendet.



**Abbildung 3-14: Korrelation der Raman Intensität (SNV-transformiert) gegen den Wirkstoffauftrag (univariat: 1616,1 cm<sup>-1</sup>)**

Der Prozess des active coatings lässt sich mit Hilfe dieses univariaten Modells zuverlässig verfolgen. Jedoch lässt sich dadurch noch keine Aussage bezüglich der Vorhersagekraft und des Vorhersagefehlers (RMSEP) machen. Diese Parameter lassen sich nur für definierte Spektren und deren zugehörige Referenzwerte zum Zeitpunkt des Probenzugs berechnen, die nicht Bestandteil der Kalibrierung waren. Für eine erste Abschätzung der Validität des univariaten Modells wurden zunächst Spektren der Charge verwendet, die auch die Basis der Kalibrierung darstellte (vgl. Abbildung 3-15).

Um die Vorhersagekraft und den Vorhersagefehler zu bestimmen, wurde das erstellte univariate Modell auf eine zweite unabhängige Charge übertragen. Abbildung 3-16 zeigt das Ergebnis der Validierung des Modells. Hierbei werden die Schwächen einer univariaten Auswertung deutlich. Einflussfaktoren, wie z.B. Veränderungen der Prozessbedingungen, aber auch Schwankungen innerhalb der Messparameter der ramanspektroskopischen Methode, wirken sich stark auf eine univariate Modellerstellung aus. Dies lässt sich direkt damit begründen, dass ein Modell, das auf einer einzigen, wenn auch charakteristischen, Wellenzahl beruht, nur eine geringe Robustheit aufweist:

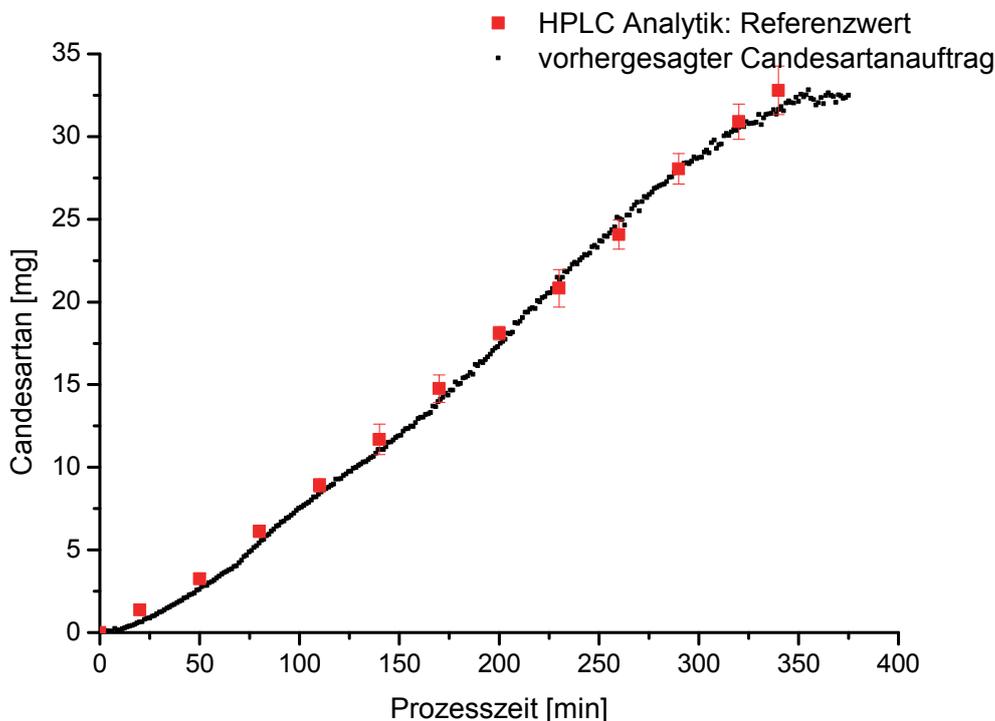
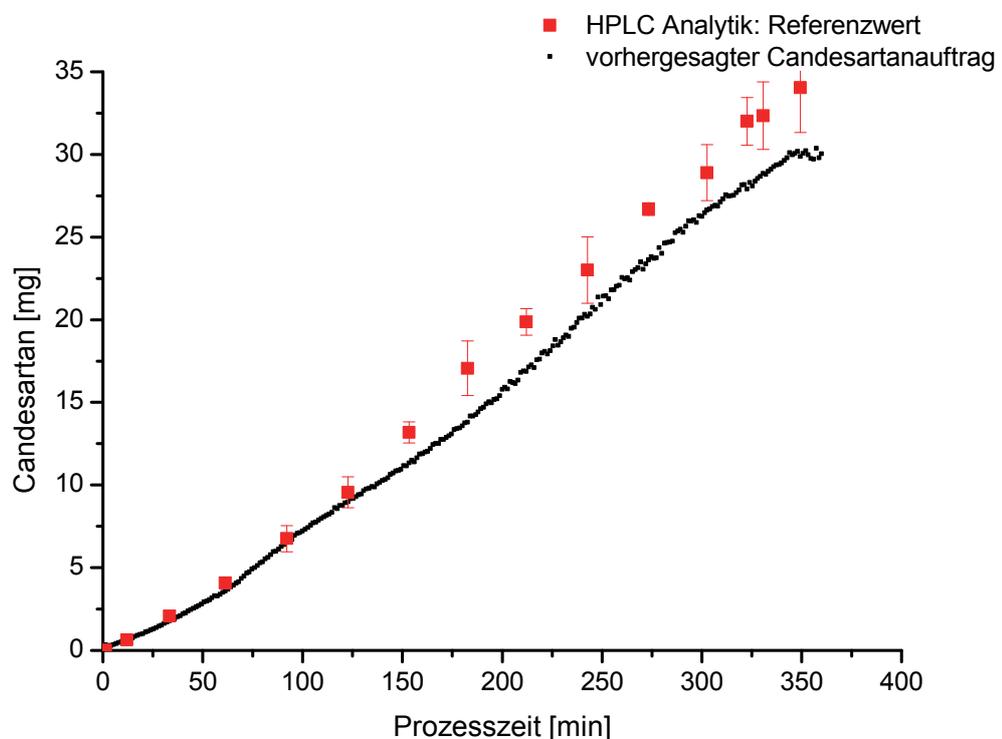


Abbildung 3-15: Prozessverfolgung basierend auf univariater Modellerstellung ( $1616,1 \text{ cm}^{-1}$ ) anhand SNV-transformierter Spektren aus off-line Messungen: Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x} \pm s$ ).

So können bei Betrachtung nur einer Wellenzahl Veränderungen in der Intensität nicht notwendigerweise auf eine Zunahme der Wirkstoffmenge zurückgeführt werden, sondern auch z.B. durch eine Veränderung der Laserintensität oder durch andere Effekte verursacht sein. Eine Änderung in der Laserintensität des Spektrometers führt somit direkt zu einem Vorhersagefehler. Bei einer multivariaten Datenanalyse können durch die Betrachtung eines größeren spektralen Bereichs Effekte wie die Zunahme oder Abnahme der Laserintensität zuverlässig von durch die Veränderung der chemischen Zusammensetzung induzierten Prozessen unterschieden werden. Der zweischichtige Aufbau der Arzneiform und die resultierende unterschiedliche spektroskopische Signalantwort der Bestandteile erschweren zusätzlich die univariate Auswertungsstrategie. Die Orientierung der Tabletten während der in-line Messung wirkt sich direkt auf das Messsignal und somit auf das univariate Modell aus. Ein RMSEP von 2,50 mg untermauert die Aussage der Abbildung 3-16. Der Vorhersagefehler zum Endpunkt der Prozesses von 4,2 mg, dies entspricht 12,2 %, zeigt, dass für diese Arzneiform und im Rahmen dieser prozessanalytischen Fragestellung die univariate Modellerstellung nicht das geeignete Instrument darstellt.



**Abbildung 3-16:** Vorhersage der aufgetragenen Candesartancilexetilmenge [mg] basierend auf univariater Modellerstellung anhand SNV-transformierter Spektren aus off-line Messungen: Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x} \pm s$ ).

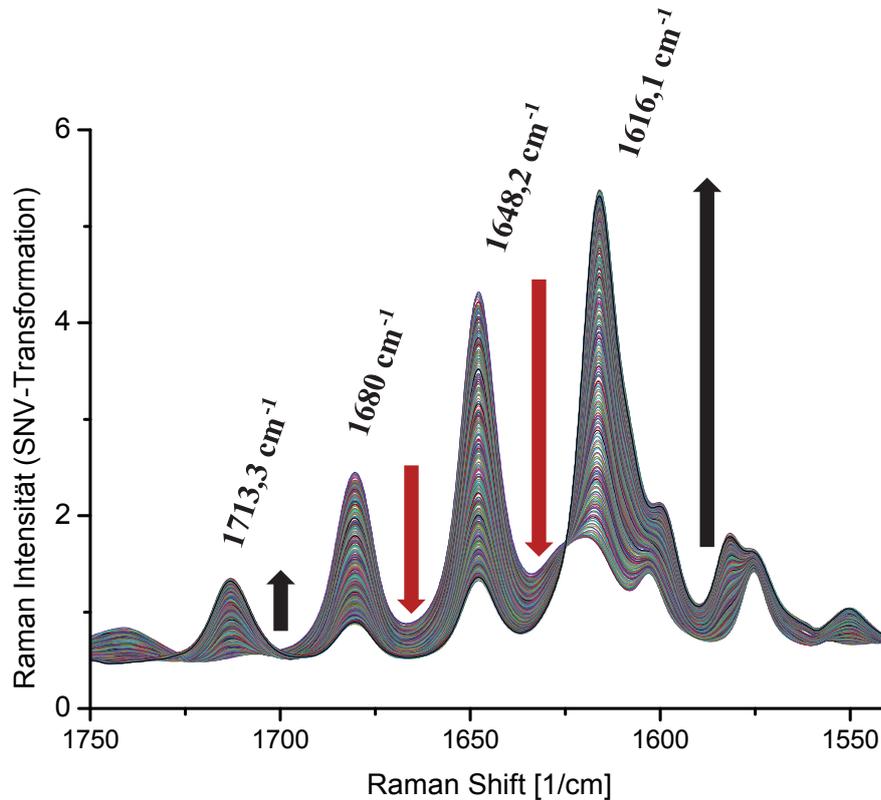
### 3.1.3.3. Multivariate Modellerstellung: off-line / in-line

Im Gegensatz zum univariaten Ansatz, der sich nur auf eine wirkstoffspezifische Wellenzahl bezieht, wurde im nächsten Schritt die multivariate Datenanalyse zur Prozessanalytik eines active coating Prozesses herangezogen, die auf kompletten Spektren oder ausgewählten spektralen Bereichen beruht.

Ein Partial Least Squares (PLS) Modell wurde erstellt, indem off-line gemessene Raman Spektren der jeweiligen Tablettenseiten mit der aufgetragenen Wirkstoffmenge korreliert wurden. Wie bei der univariaten Modellerstellung beschrieben, wurden während des Überzugprozesses zu unterschiedlichen Zeitpunkten Proben gezogen. Deren Wirkstoffmenge wurde mittels HPLC bestimmt. Zuvor wurden die entsprechenden Tabletten ramanspektroskopisch vermessen (vgl. Abschnitt 6.2.5.2.1). Die Besonderheit der Modellarzneiform wurde in den vorhergehenden Kapiteln schon kurz angesprochen. Im Folgenden wird diese im Hinblick auf ihre Anforderungen an die Modellerstellungsstrategie näher erläutert.

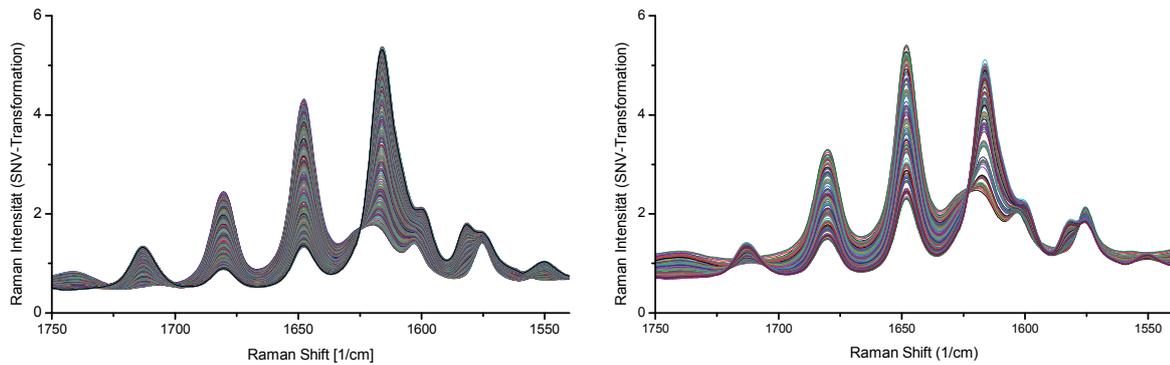
Die Zweisechichttablette als Arzneiform ermöglicht vier verschiedene Herangehensweisen im Rahmen der off-line Modellerstellung (vgl. Abbildung 1-1, S. 2). Es kann sowohl ein Modell auf Basis der Raman Spektren der roten Seite als auch allein auf der Basis der gelben Seite erstellt werden. Eine weitere Alternative wäre das arithmetische Mittel der Spektren beider Seiten zu verwenden oder als vierte Möglichkeit, ein Modell auf dem gewichteten Mittelwert der Spektren beider Seiten aufzubauen. Die off-line Messung von Raman Spektren der beiden unterschiedlichen Tablettenseiten erfordert eine Anpassung der Messzeiten an die jeweilige Tablettenseite. Dies liegt in der qualitativen Zusammensetzung der Zweisechichttablette begründet. Die gelbe Tablettenschicht besteht u.a. aus Nifedipin als Wirkstoff, der eine hohe Raman-Aktivität aufweist. In der roten Schicht sind hauptsächlich osmotisch aktive Hilfsstoffe und Gelbildner, wie z.B. Natriumchlorid, Polyethylenoxid 5.000.000 und Hypromellose (5 cP) sowie Eisenoxid als Pigment enthalten. Aufgrund dieser Zusammensetzung liefert die rote Schicht bei gleicher Messzeit ein deutlich schlechteres Signal-Rausch-Verhältnis als die gelbe Tablettenschicht. Diese Tatsache führte auch zur Überlegung, nur off-line Modelle für die in-line Prozessanalytik basierend auf den Raman Spektren der gelben Schicht zu erstellen. In den folgenden Abbildungen sind die während des Prozesses in-line gemessenen Raman Spektren (vgl. Abbildung 3-17) in Kontrast zu den off-line gemessenen Spektren der

gelben Seite sowie der gewichteten bzw. ungewichteten Mittelwerte der Spektren der roten und gelben Tablettenschicht dargestellt.

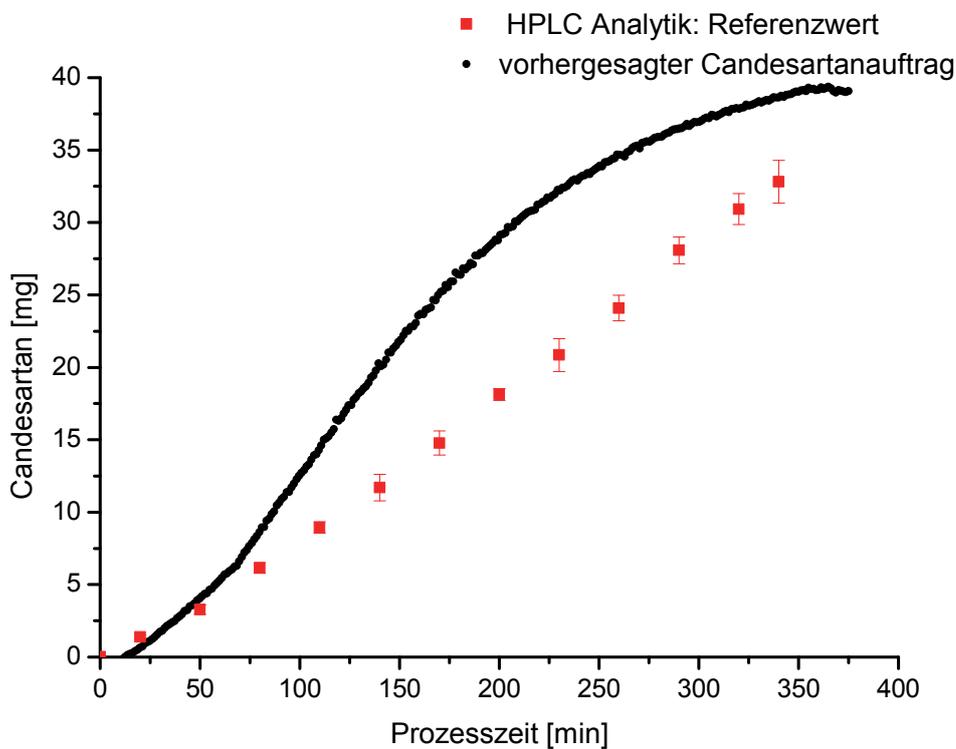


**Abbildung 3-17: Prozessverlauf anhand in-line gemessener Raman Spektren (SNV-transformiert, Messzeit pro Spektrum: 1 min)**

Die in-line gemessenen Raman Spektren während des Prozessverlaufs (Abbildung 3-17) zeigen eine deutliche Dominanz der Intensität der Wirkstoffbande von Candestartancilexetil bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$ . Die Intensität des Wirkstoffs Nifedipin in der gelben Schicht des Tablettenkerns ist schwächer ausgeprägt ( $1648,2 \text{ cm}^{-1}$  und  $1680 \text{ cm}^{-1}$ ). Ziel einer off-line kalibrierten Modellerstellung ist es, repräsentative Raman Spektren mit dem jeweiligen Wirkstoffauftrag zu korrelieren. Bei gleichförmigen Tablettenkernen sind deutliche Unterschiede in den in-line gemessenen Raman Spektren im Vergleich zu den off-line gemessenen nicht zu erwarten. Da jedoch die vorliegende Modellarzneiform auf grundlegend verschiedenen Zusammensetzungen der Schichten beruht, wirkt sich dies auch auf die Spektren aus. Abbildung 3-18 stellt die off-line gemessenen Raman Spektren der gelben Tablettenseite zu unterschiedlichen Probezeitpunkten dar. Im direkten Vergleich zu den in-line gemessenen Raman Spektren wird deutlich, dass die Signalintensität von Strukturen aus der gelben Schicht stärker ausgeprägt ist und das Verhältnis zwischen Kernsignal und aufgetragener Wirkstoffschicht verschoben ist.



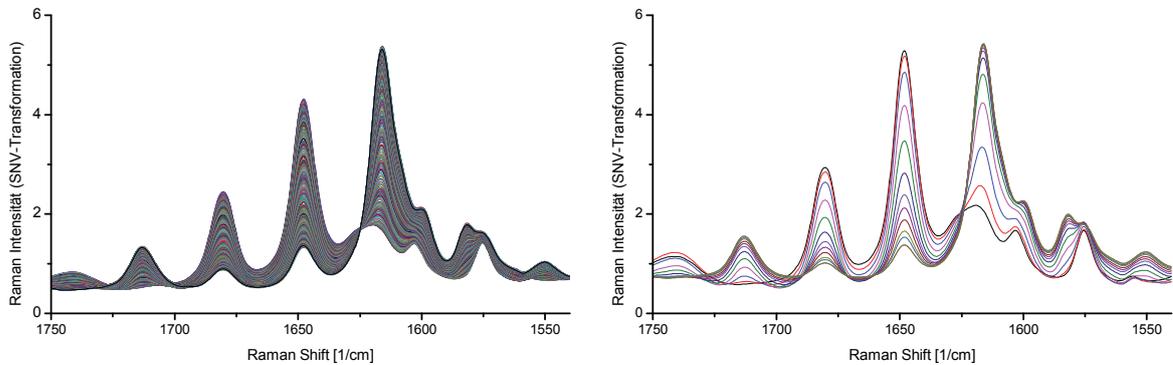
**Abbildung 3-18: Prozessverlauf anhand in-line gemessener Raman Spektren (links, vgl. Abbildung 3-17) im Vergleich zu off-line gemessenen Raman Spektren der gelbe Tablettenseite (rechts) (SNV-transformiert, Messzeit pro Spektrum: 1 min)**



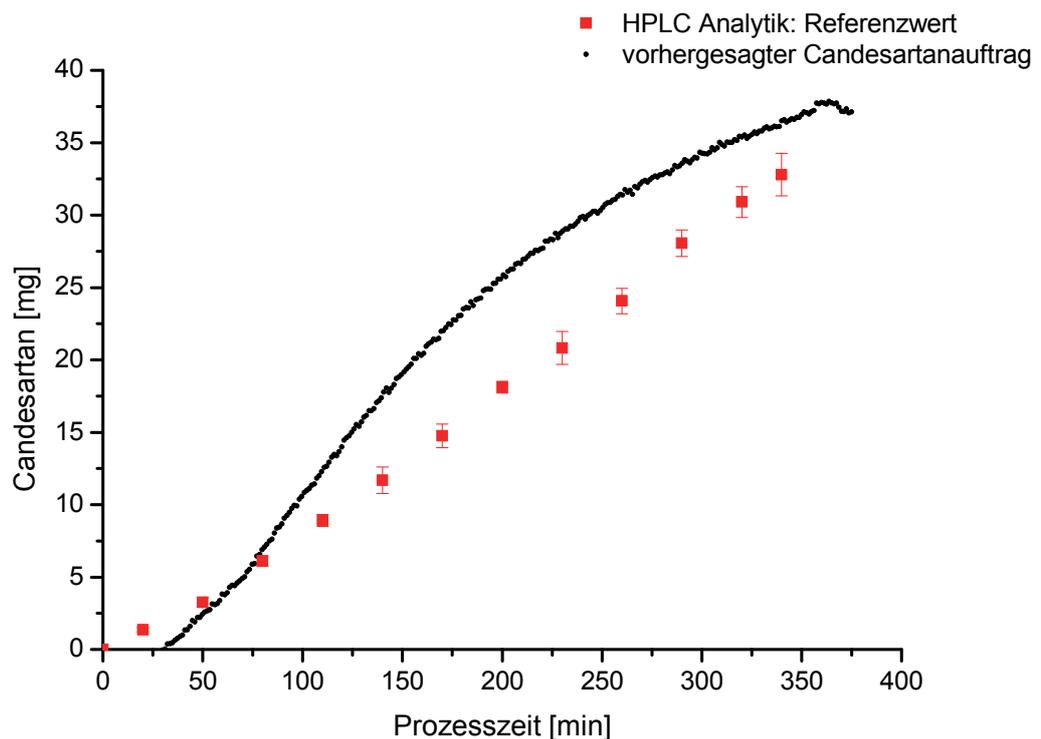
**Abbildung 3-19: Vorhersage der aufgetragenen Candesartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus off-line Messungen der gelben Tablettenseite: Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen (n = 10;  $\bar{x} \pm s$ ).**

Dies zeigt auch das Ergebnis der Validierung des off-line kalibrierten Modells in Abbildung 3-19: Der vom multivariaten Modell vorhergesagte durchschnittliche Wirkstoffauftrag ist als Funktion der Prozesszeit aufgetragen. Im Vergleich dazu stehen die Referenzdaten der HPLC Analytik zum Zeitpunkt der Probeziehungen. Ein mittlerer Vorhersagefehler (RMSEP) von 7,84 mg belegt die Diskrepanz zwischen dem durch das Modell vorhergesagten Gehalt und dem Referenzwert, der mittels HPLC bestimmt wurde. Off-line gemessene Raman Spektren der gelben Tablettenschicht sind nicht repräsentativ

für Raman Messungen, die in-line während des Überzugsprozesses durchgeführt wurden. Somit ist diese Modellerstellungsstrategie, die auf off-line Messungen der gelben Seite beruht, nicht zielführend für eine erfolgreiche in-line Prozessanalytik und wurde im weiteren Verlauf der Untersuchungen nicht weiter verfolgt.



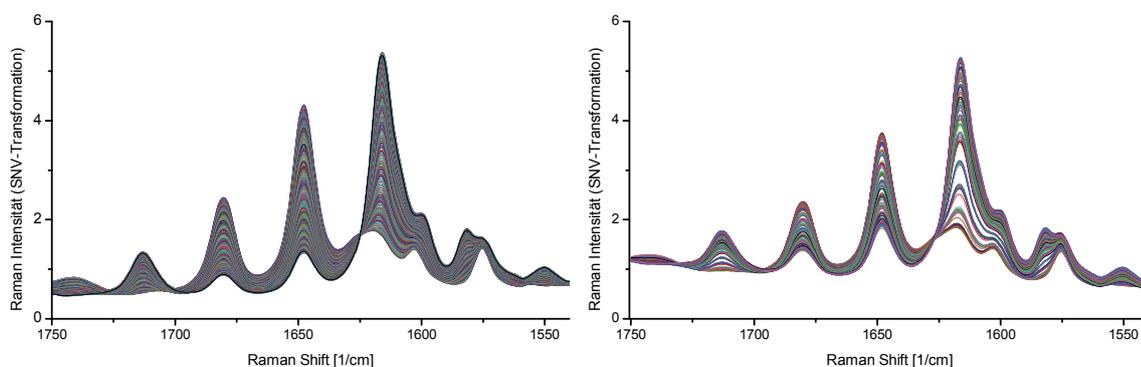
**Abbildung 3-20:** Prozessverlauf anhand in-line gemessener Raman Spektren (links, vgl. Abbildung 3-17) im Vergleich zu off-line gemessenen Raman Spektren (rechts, Mittelwert aus Spektren der roten und gelben Tablettenseite)



**Abbildung 3-21:** Vorhersage der aufgetragenen Candeseartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus off-line Messungen der gelben und roten Tablettenseite: Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x} \pm s$ ).

Da die Schichten der Tabletten qualitativ unterschiedlich zusammengesetzt sind und diese Unterschiede sich auch spektroskopisch auf ihre Raman Aktivität auswirken, wurden die

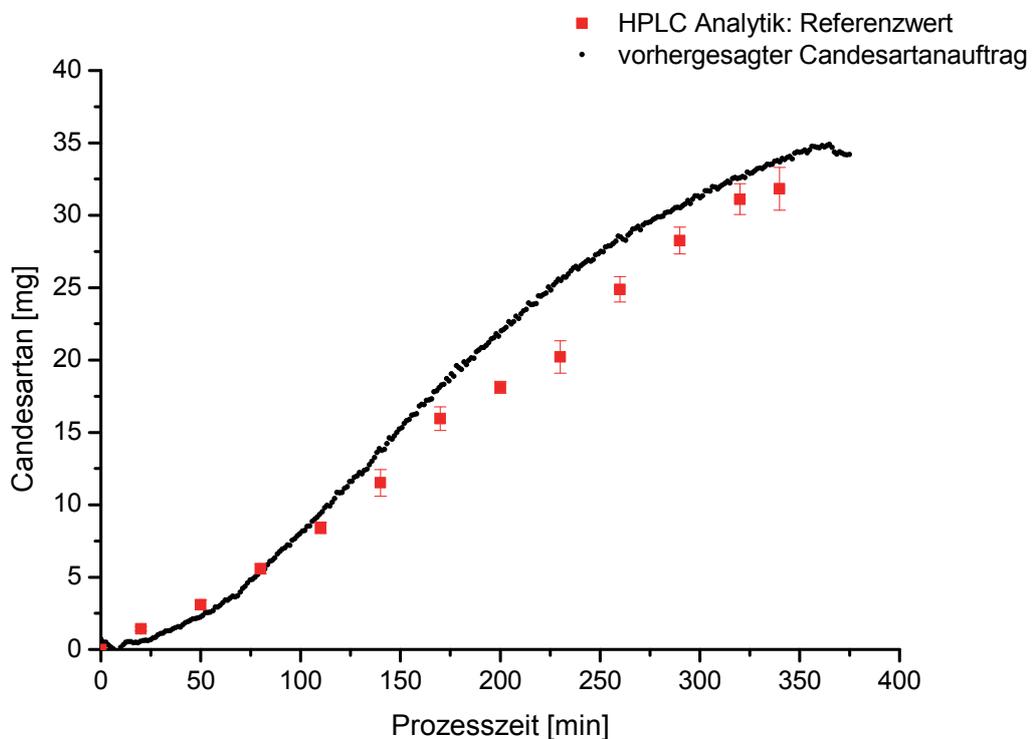
Messzeiten der off-line Raman Spektroskopie angepasst, um für beide Tablettenseiten im Rahmen eines akzeptablen Signal-Rausch-Verhältnisses zu arbeiten (vgl. Abschnitt 6.3.1.1). Die Messzeit wurde zusätzlich limitiert durch die gerätespezifischen Grenzen der Detektorleistungsfähigkeit. Die dem Spektrometer zugehörige CCD-Kamera kann eine limitierte Menge an Raman Intensität verarbeiten. Dies wird mit der „pixel fill rate“ Angabe in der Messsoftware ausgedrückt. Ein Bereich zwischen 40-60% „pixel fill rate“ gilt als optimal und wurde für die Raman Messungen berücksichtigt. Somit wurde ein Kompromiss zwischen einem guten Signal-Rausch-Verhältnis und einer bestmöglichen CCD-Detektorauslastung gefunden. Bildet man nun das arithmetische Mittel aus den auf die Messzeit normierten Spektren der beiden Tablettenschichten für die jeweilige Tablette und korreliert dieses mit dem Wirkstoffauftrag, der mit Hilfe der Referenzmethode ermittelt wurde, so erstellt man ein Modell, das eine gleich gewichtete Verteilung roter und gelber Tablettenseiten bei der in-line Messung unterstellt. Abbildung 3-21 zeigt das Validierungsergebnis dieser Modellerstellungsstrategie. Dieses Ergebnis soll im Zusammenhang mit den für diese Strategie verwendeten Spektren diskutiert werden (vgl. Abbildung 3-20). Es wird deutlich, dass das Verhältnis der Signalintensität zwischen Tablettenkern und Wirkstoffschicht nicht mehr zu Gunsten des Kernsignals verschoben ist, aber auch noch nicht dem der in-line gemessenen Spektren entspricht. Der RMSEP von 5,43 mg konnte im Vergleich zur ersten Modellerstellungsstrategie zwar verringert werden, liegt jedoch weiterhin in einem Bereich, der nicht für die in-line Prozessanalytik zur korrekten Endpunktbestimmung verwendet werden kann. Somit entwickelte sich aus dieser Strategie die letzte off-line Modellerstellungsvariante, indem man den unterschiedlich langen Messzeiten Rechnung trug und diese bei der Mittelwertbildung berücksichtigte.



**Abbildung 3-22: Prozessverlauf anhand in-line gemessener Raman Spektren (links, vgl. Abbildung 3-17) im Vergleich zu off-line gemessenen Raman Spektren (rechts; gewichteter Mittelwert aus Spektren der roten und gelben Tablettenseite)**

Für die Modellerstellungsstrategievariante „gewichteter Durchschnitt“ wurde der Durchschnitt der off-line gemessenen Raman Spektren gemäß ihrer unterschiedlich langen Messzeiten gewichtet. Abbildung 3-22 zeigt den spektralen Prozessverlauf des Überzugverfahrens. Im Vergleich zu den vorhergehenden Varianten entspricht der gewichtete Mittelwert der off-line vermessenen Tablettenschichten am ehesten den in-line gemessenen Raman Spektren und stellt somit eine vielversprechende Strategie zur Modellerstellung im Hinblick auf eine in-line Prozessanalytik dar.

Jedoch spiegelt sich dies im Ergebnis der Validierung in dem Maße nicht wieder (vgl. Abbildung 3-23).



**Abbildung 3-23:** Vorhersage der aufgetragenen Candesartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus off-line Messungen der gelben und roten Tablettenseite (gewichteter Mittelwert): Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x} \pm s$ ).

Unter den off-line Modellerstellungsstrategien birgt zwar die gewichtete Mittelwert-Variante den niedrigsten Vorhersagefehler in sich. Der RMSEP von 1,87 mg verdeutlicht jedoch den systematischen Fehler, den die Strategie mit sich bringt. Zum Endpunkt des Prozesses wird der Candesartancilexetilaufrag mit einer Abweichung von 5,8 % vorhergesagt. Demzufolge sind auch bei dieser Modellerstellungsstrategie die Kalibrierungsspektren nicht repräsentativ für in-line gemessene Validierungsspektren und

auch die gewichtete Mittelwert-Strategie bildet den in-line Prozessverlauf nicht realistisch ab. Obwohl die unterschiedliche Messzeit der jeweiligen Tablettenseite in die Mittelung der beiden Spektren miteinbezogen worden ist, führte diese Methode nicht zu einem zufriedenstellenden Ergebnis. Erklären lässt sich dieses Ergebnis dadurch, dass bei dieser vereinfachten Modellierungsmethode die Orientierung der Tabletten im Trommelcoater nicht berücksichtigt wurde und das Modell nur mit Spektren erstellt wurde, die ausschließlich von der Unter- und der Oberseite der Tablette gemessen wurden.

Während der in-line Messungen durchlaufen die Tabletten nicht nur mit ihrer jeweiligen Tablettenseite zur Sonde gerichtet den Messfleck. Es werden auch die Tablettenstege und die leeren Zwischenräume während der Messung miterfasst. Dies erschwert die off-line Modellerstellung im Hinblick auf die zweischichtige Modellarzneiform. Für den Einsatz zur korrekten Endpunktbestimmung ist die beschriebene Modellerstellungsstrategie nicht geeignet. Im Hinblick auf die Erfüllung des Akzeptanzwertes (AV) nach der Monographie „Gleichförmigkeit einzeldosierter Arzneiformen“ (Ph. Eur. 2.9.40) bedeutet eine Abweichung von 5,8 % zum Prozessendpunkt einen Strafzuschlag von 4,3 Punkten, die in die Berechnung des Akzeptanzwertes miteinfließen.

$$AV = |M - \bar{x}| + k * s \quad \text{Gl. 3-4}$$

M stellt dabei den Referenzwert dar, k eine Konstante und s die Standardabweichung:

$$\text{Wenn } 98,5 \% \leq \bar{x} \leq 101,5 \%, \text{ dann ist } M = \bar{x} \quad \text{Gl. 3-5}$$

$$\text{Wenn } \bar{x} > 101,5 \%, \text{ dann ist } M = 101,5$$

$$\text{und somit } \bar{x} > 101,5 \text{ dann } AV = \bar{x} - 101,5 + k * s \quad \text{Gl. 3-6}$$

Somit muss für  $k = 2,4$  ( $n = 10$ ) die Standardabweichung s kleiner als 4,45 % liegen, damit ein Akzeptanzwert kleiner oder gleich 15 erreicht wird und die Charge der Prüfung auf Gleichförmigkeit einzeldosierter Arzneiformen entspricht (vgl. Gl. 3-5 und Gl. 3-6).

Da beim Zuwachs des relativen und des absoluten Vorhersagefehlers ein Trend in Richtung höheren Wirkstoffaufträgen festzustellen ist, soll im Folgenden ein möglicher Einfluss der Schichtdicke des active coatings auf die Vorhersagekraft der Modelle untersucht werden. Dafür wurde die gleiche Modellerstellungsstrategie auf eine andere Modellarzneiform übertragen. Dabei handelte es sich um uniforme Nifedipin

Tablettenkerne mit vergleichbaren Abmessungen (vgl. Abschnitt 6.2.3), die mit Candesartancilexetil befilmt werden sollten. Ziel der Untersuchungen war es, die Abhängigkeit des hohen Vorhersagefehlers im Hinblick auf die Zweischicht-Arzneiform und die Filmdicke des Wirkstoffauftrages zu evaluieren.

Tabelle 3-2: Übersicht der PLS Kalibrierung und Validierung im Labormaßstab

Modell	Kalibrierung					Validierung
	PC	RMSEC [mg]	R <sup>2</sup>	Steigung	Achsenabschnitt	RMSEP [mg]
<b>off-line</b> (gewichteter Mittelwert / Zweischichttablette)	2	1,04	0,990	1	$5 \cdot 10^{-7}$	1,87
<b>off-line</b> (uniform)	2	0,50	0,999	1	$7 \cdot 10^{-7}$	0,63

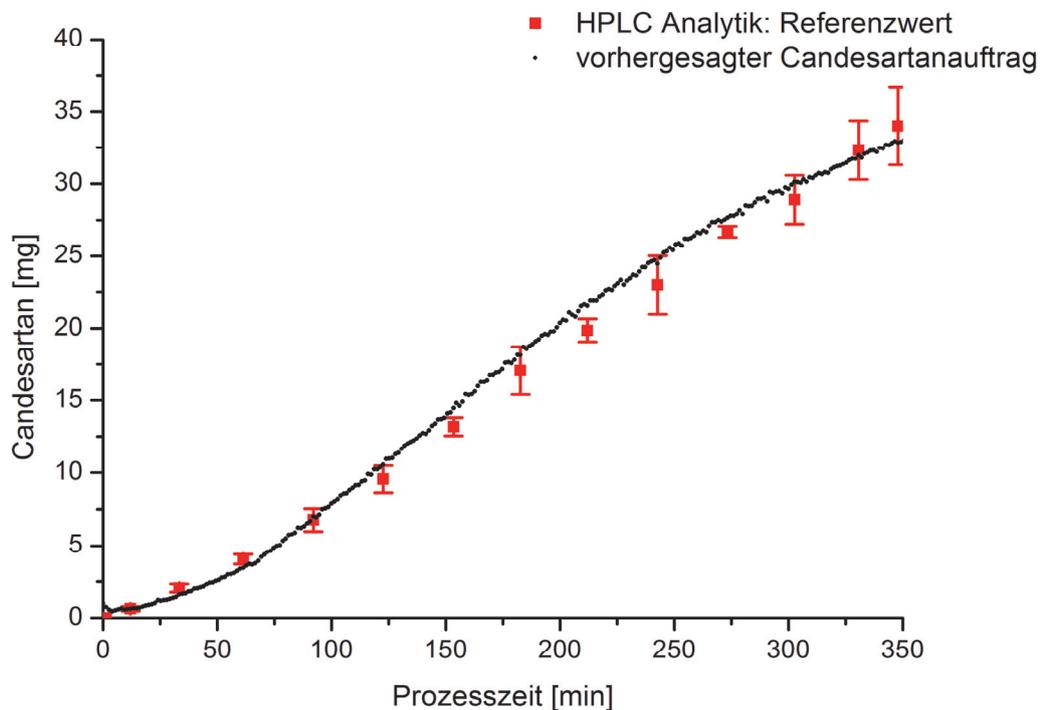


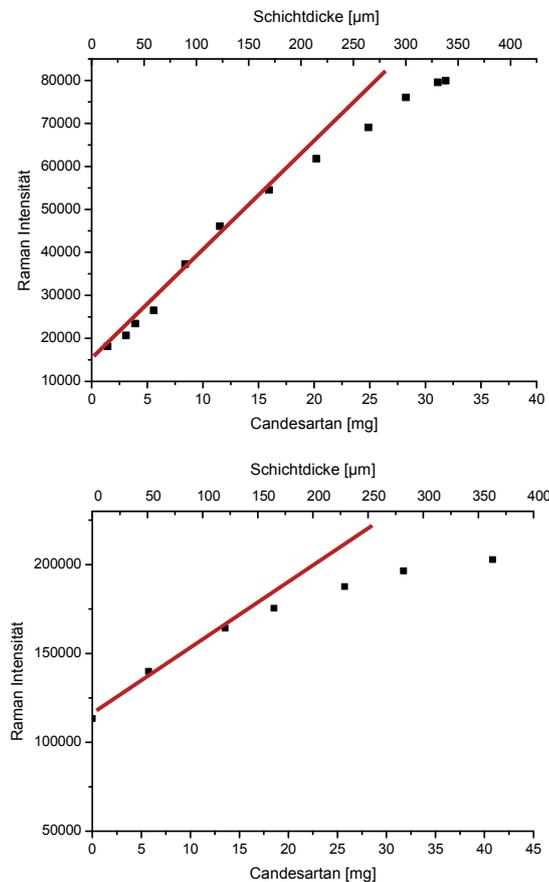
Abbildung 3-24: Vorhersage der aufgetragenen Candesartancilexetilmenge [mg] auf uniforme Nifedipin Tablettenkerne anhand SNV-transformierter Spektren: Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x} \pm s$ ).

Zur Vergleichbarkeit beider Modellerstellungsstrategien wurde das PLS Modell für die uniformen Kerne in gleicher Weise wie für die Zweischichttableten erstellt (vgl. Abschnitt 6.2.5.2.1). Die PLS Ergebnisse für die Kalibrierung und Validierung sind in Tabelle 3-2 wiedergegeben. Im Vergleich zu den Kalibrierungsergebnissen der off-line Modellerstellung konnte der Vorhersagefehler um mehr als 50 % reduziert werden. Dies drückt sich auch in der Vorhersagekraft in Bezug auf die Validierungschargen aus (vgl. Abbildung 3-24). Daraus lässt sich schließen, dass die hohe Ungenauigkeit des Modells im Fall der Zweischichttableten zu einem wesentlichen Anteil auf die Tatsache zurückzuführen ist, dass das Modell mit dem gewichteten Mittelwert beider off-line gemessener Spektren erstellt wurde, während die Validierung für in-line Messungen stattfand. Die Beschreibung des in-line Signals von Zweischichttableten gelingt also nur eingeschränkt mit off-line gemessenen Spektren beider Seiten.

Um den Einfluss der Schichtdicke auf die gemessenen Raman Spektren zu untersuchen, wurden die in-line gemessenen Spektren der Zweischichttableten und der uniformen Kerne univariat ausgewertet. Dazu wurde die für den Wirkstoffauftrag charakteristische Ramanintensität bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  mit der aufgetragenen Wirkstoffmenge bzw. der Schichtdicke korreliert (vgl. Abschnitt 6.3.3 und Abbildung 3-25). Im Vergleich beider Arzneiformen zeigen sich deutliche Unterschiede in den Intensitäten der Wirkstoffbande bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$ . Die Ursache dafür liegt in der unterschiedlichen qualitativen Zusammensetzung beider Arzneiformen. Die rote Seite der Zweischichttablette trägt bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  nicht zur Intensität des Raman Signals bei. Somit setzt sich das Raman Signal der Zweischichttablette nur aus dem Wirkstoffsignal und dem Signal der einen Hälfte der Zweischichttablette zusammen. Bei den uniformen Tabletten tragen beide Seiten zusätzlich zum Wirkstoff zum Gesamtsignal bei. Außerdem handelt es sich hierbei um die nicht normierten Rohdaten der Spektren. Somit können Schwankungen in der Laserleistung oder Veränderungen im Messaufbau zu diesen Unterschieden geführt haben. Die Abbildung zeigt darüber hinaus, dass für beide Arzneiformen kein durchgehender linearer Zusammenhang zwischen der Raman Intensität und der zugehörigen Wirkstoffmenge bzw. Schichtdicke besteht, sondern ein Sättigungseffekt vorliegt.

Eine Erklärungsmöglichkeit ist, wie zuvor diskutiert, die Abschwächung der Laserintensität während des Durchdringens der aufgetragenen Wirkstoffschicht. Obwohl die Raman Spektren beider Arzneiformen dieses Sättigungsverhalten zeigen, konnte im vorhergehenden Abschnitt gezeigt werden, dass trotz vergleichbaren Wirkstoffauftrages

die Vorhersagekraft und Modellvalidität erheblich verbessert werden konnte, indem die Modellarzneiform Zweischichttablette durch uniforme Nifedipin Tablettenkerne ersetzt wurde.



**Abbildung 3-25: Korrelation der Raman Intensität mit der Schichtdicke [ $\mu\text{m}$ ] bzw. der Candesartancilexetilmenge [mg] für Zweischichttablettens-Kerne (A) und uniforme Nifedipin Tablettenkerne (B)**

Somit lässt sich der Sättigungseffekt, der in der univariaten Auswertung erkennbar wurde, nicht als Hauptgrund für die schlechte Vorhersagekraft des off-line erstellten Modells anführen. Vielmehr erschwert die Arzneiform selbst die Modellentwicklung durch die zwei qualitativ unterschiedlich zusammengesetzten Tablettenschichten. Die nichtlineare Beziehung bei hohen Schichtdicken zwischen Raman Intensität und Wirkstoffmenge bzw. Schichtdicke beeinflusst jegliche univariate Modellierungsstrategien, wie die vorhergehenden Untersuchungen zeigten. Im Gegensatz dazu ist es durch die Berücksichtigung aller Wellenzahlen des vorgegebenen spektralen Bereichs im Fall der multivariaten Datenanalyse möglich, hinreichend zuverlässige Modelle auch für höhere Schichtdicken zu erstellen.

### 3.1.3.4. Multivariate Modellerstellung: in-line / in-line

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der ersten beiden Modellerstellungsstrategien wurde eine dritte Variante entwickelt, die den besonderen Anforderungen der Zweischichttabletten gerade im Hinblick auf die Schwierigkeiten durch die Orientierung der Tabletten während des Überzugprozesses besser Rechnung trägt. Frühere Arbeiten von Müller et al. [86, 99, 115] und Romero-Torres et al. [98] konnten für ihre Machbarkeitsstudien off-line Modellerstellungsmethoden implementieren. Jedoch wurden technologisch einfache Modellarzneiformen verwendet und keine weiterführenden Untersuchungen in Richtung einer Transferierbarkeit der Modelle zwischen Labormaßstab und Produktionsmaßstab durchgeführt. In der für diese technologisch herausfordernde Arzneiform entwickelten Modellerstellungsvariante wurden in-line zum Zeitpunkt des Probenzuges gemessene Raman Spektren für die Modellkalibrierung herangezogen. Diese Spektren wurden anschließend mit dem Wirkstoffauftrag, der mittels der Referenzmethode HPLC zum jeweiligen Zeitpunkt ermittelt wurde, in einem PLS Modell korreliert. Die Validierung wurde mit einer zweiten unabhängigen Charge wie bei den vorhergehenden Strategien durchgeführt (vgl. Abschnitt 6.2.5.2.2).

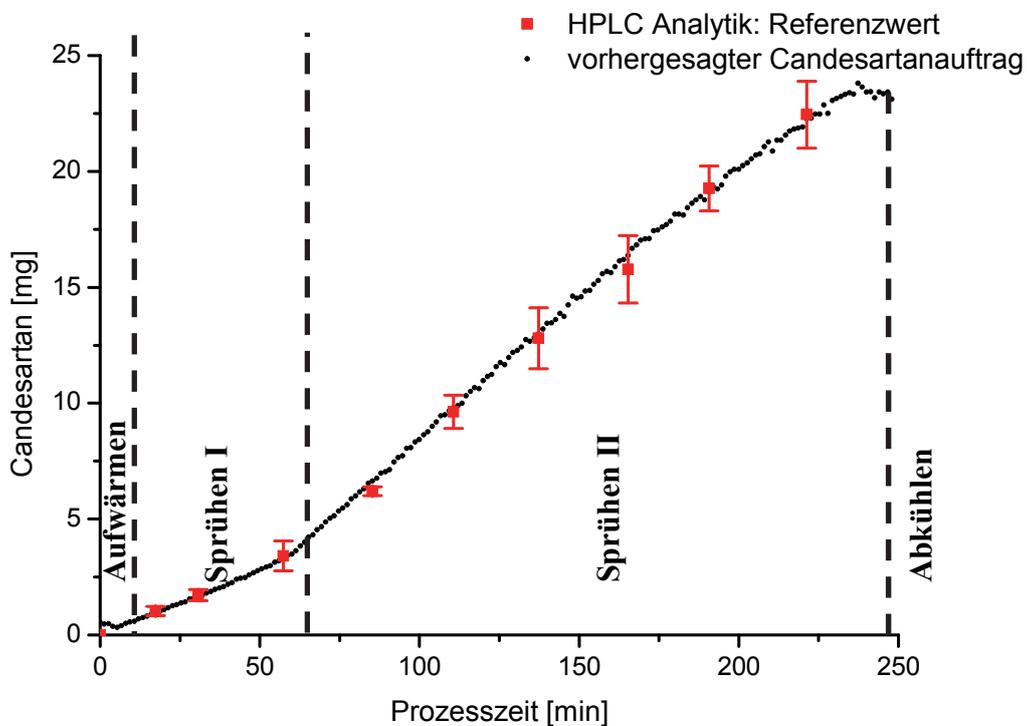


Abbildung 3-26: Vorhersage der aufgetragenen Candesarantancilexetilmenge [mg] anhand der in-line Modellerstellungsstrategie: Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen (n = 10;  $\bar{x} \pm s$ )

Die Ergebnisse der PLS zeigt Tabelle 3-3.

**Tabelle 3-3: Übersicht der PLS Kalibrierung und Validierung im Labormaßstab**

Modell	Kalibrierung					Validierung
	PC	RMSEC [mg]	R <sup>2</sup>	Steigung	Achsenabschnitt	RMSEP [mg]
<b>off-line</b> (gewichteter Mittelwert / Zweischiichttablette)	2	1,04	0,990	1	$5 \cdot 10^{-7}$	1,87
<b>off-line</b> (uniform)	2	0,50	0,999	1	$7 \cdot 10^{-7}$	0,63
<b>in-line</b> (Zweischiichttablette)	2	0,85	0,994	1	$6 \cdot 10^{-7}$	0,66

Die Vorhersagekraft dieses in-line kalibrierten multivariaten Modells für Zweischiichttabletten ist vergleichbar mit dem off-line erstellten Modell für die uniformen Tablettenkerne. Darüber hinaus ist dieses Modell mit einem deutlich kleineren Vorhersagefehler behaftet als das off-line Modell für Zweischiichttabletten. Abbildung 3-26 stellt den vorhergesagten Wirkstoffauftrag als Funktion der Prozesszeit dar. Im Vergleich zu den zuvor vorgestellten Modellerstellungsstrategien ist es auf der Basis der in-line Kalibrierung zum ersten Mal möglich, den Überzugsprozess realistisch zu verfolgen. Dies spiegelt sich auch in dem niedrigen Vorhersagefehler von 0,66 mg wider. Die unterschiedlichen Prozessstadien lassen sich klar voneinander abgrenzen: Als erster Schritt die Aufheizphase, in der zunächst kein Wirkstoffauftrag erkennbar ist, gefolgt von der eigentlichen Sprühphase bis hin zur Trocknungs- und daran anschließender Abkühlphase. Auch die Änderung in der Sprührate nach 60 min, lässt sich im Vorhersagediagramm eindeutig anhand der veränderten Steigung des Wirkstoffzuwachses erkennen. Zum Prozessende weicht die vorhergesagte Wirkstoffmenge um 0,8 % von dem mittels HPLC bestimmten Wirkstoffauftrag ab.

### **3.1.4. Zusammenfassung**

Prozessanalytische Untersuchungen, die auf spektroskopischen Analysemethoden basieren, erfordern in den meisten Fällen eine multivariate Datenanalyse zur Auswertung. Um für diese Auswertung den Rauschanteil in den spektralen Daten zu minimieren, ist man auf Datenvorbehandlungsmethoden angewiesen.

Somit galt es im ersten Teil dieser Arbeit, sich grundlegend mit den unterschiedlichen Vorbehandlungsmethoden in Bezug auf das vorliegende Probensystem auseinanderzusetzen. Die Vor- und Nachteile der vorgestellten Methoden wurden aufgezeigt. Anhand dieser Untersuchung wurde eine begründete Auswahl an Vorbehandlungsmethoden für das Probensystem getroffen, die im weiteren Verlauf der Arbeit eingesetzt wurden.

Weiter konnte gezeigt werden, dass für technologisch anspruchsvolle Herstellungsprozesse, wie das active coating einer Zweisechichttablette, die Raman Spektroskopie ein geeignetes PAT-Instrument darstellt. Von besonderer Bedeutung ist allerdings eine sorgfältig ausgewählte Modellerstellungsstrategie. Daher wurden sowohl univariate Regressionsmodelle als auch multivariate Modelle für die Prozessüberwachung und Endpunktbestimmung getestet. Die vorliegenden Ergebnisse haben gezeigt, dass eine univariate Regression im Hinblick auf die vorliegende Fragestellung und die besonderen Erfordernisse der Arzneiform der multivariaten Datenanalyse deutlich unterlegen ist. Auch klassische multivariate Ansätze, wie die in der Literatur beschriebene off-line Modellerstellungsstrategie, konnten die Schwierigkeiten, die solch eine Arzneiform mit sich bringt, nicht überwinden. Dabei zeigten die Untersuchungen, dass es nicht möglich war, ein Modell so mit off-line gemessenen Spektren zu kalibrieren, dass es in der Lage war, den in-line gemessenen Prozessverlauf mit einer angemessenen Richtigkeit zu beschreiben.

Mit Hilfe einer entwickelten in-line Modellerstellungsstrategie gelang es jedoch, die auf Zweisechichttabletten aufgetragene Wirkstoffmenge im Prozess quantitativ zu bestimmen und so den Prozess zu überwachen.

## 3.2. Implementierung der Methodik im Labormaßstab

### 3.2.1. Einleitung

Im vorhergehenden Kapitel konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe einer sorgfältig ausgearbeiteten Modellerstellungsstrategie auch technologisch aufwändige Arzneiformen prozessanalytisch überwacht werden können.

In diesem Kapitel wird die Implementierung dieser Strategie in Bezug auf drei Probensysteme im Labormaßstab vorgestellt: GITS 20 mg (Gastro-Intestinal Therapeutic System), GITS 30 mg und GITS 60 mg (vgl. Abschnitt 6.1.1).

### 3.2.2. Arzneiform GITS 20 mg

Für die Implementierung der Methodik im Labormaßstab wurde anhand des Probensystems GITS 20 mg eine Kalibrierung mit einem Arbeitsbereich von 1,18 mg bis 34,37 mg Candestartancilexetilaufrag erstellt. Abbildung 3-27 zeigt für die Arzneiform GITS 20 mg das Ergebnis der in-line Kalibrierung im Vergleich zu den Probensystemen GITS 30 mg und GITS 60 mg.

Tabelle 3-4: Übersicht Kalibrierung der PLS Modelle im Labormaßstab

	Objekte	PC	R <sup>2</sup> X	R <sup>2</sup> Y	Q <sup>2</sup>	Steigung	Achsenabschnitt	R <sup>2</sup>
<b>GITS 20 mg</b>	16	2	1	0,994	0,993	1	6*10 <sup>-7</sup>	0,994
<b>GITS 30 mg</b>	21	2	0,992	0,996	0,998	1	1,5*10 <sup>-7</sup>	0,996
<b>GITS 60 mg</b>	8	2	0,995	0,998	0,997	1	3*10 <sup>-6</sup>	0,998

Die Kenndaten der Kalibrierung sind in Tabelle 3-4 aufgelistet. Über den Arbeitsbereich sind leichte Abweichungen von einem linearen Verlauf festzustellen, gerade zu Beginn der Messungen. Ein durchgeführter Test nach Mandel zur Überprüfung der Linearität (vgl. Abschnitt 6.3.2.2.,  $\alpha = 5\%$ ) bestätigte jedoch nicht, dass ein Polynom 2. Ordnung (quadratische Funktion) eine signifikant geringere Reststandardabweichung im Vergleich zu einer linearen Funktion aufweist.

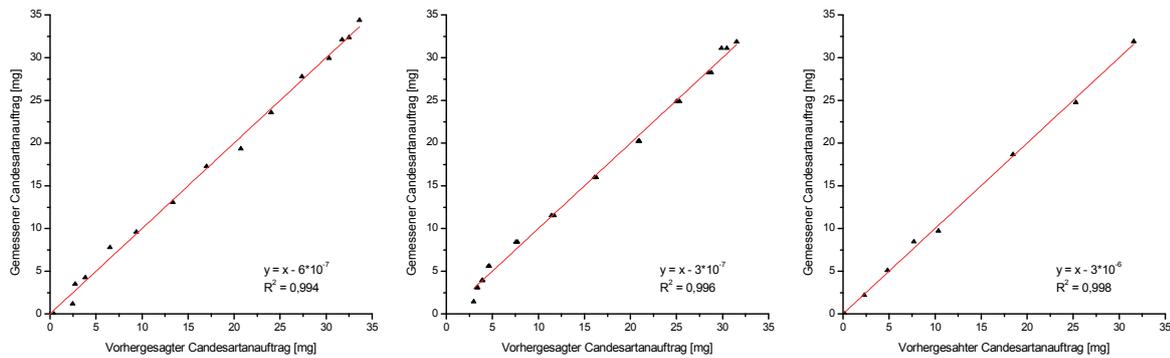


Abbildung 3-27: PLS Modelle: Kalibrierung Modell GITS 20 mg (links), GITS 30 mg (mitte) und GITS 60 mg (rechts)

Das oben beschriebene PLS Kalibriermodell wurde auf seine Validität mit Hilfe einer unabhängigen zweiten Testcharge geprüft. In Abbildung 3-28 ist der Prozessverlauf anhand der durch das Modell vorhergesagten aufgetragenen Wirkstoffmenge dargestellt. Der y-Achsenabschnitt mit einem Wert von ca. 2 mg lässt sich dadurch erklären, dass aufgrund von Variationen in der Zusammensetzung der Tablettenkerne das multivariate Modell nicht in der Lage ist, einen Candestartancilexetilaufrag von exakt Null zu erkennen.

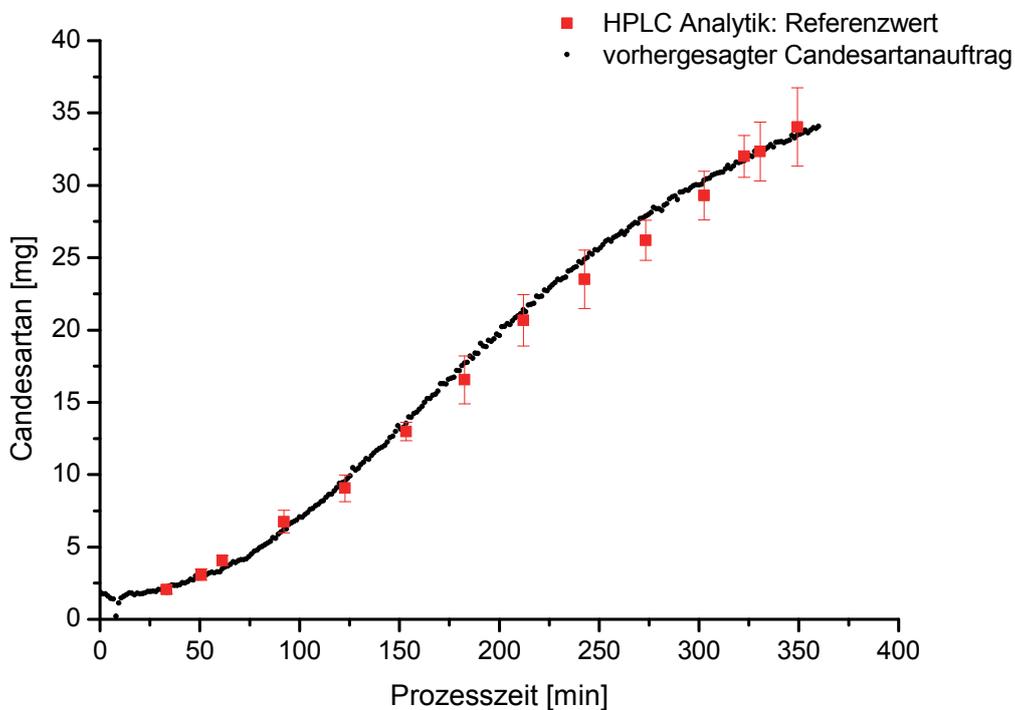
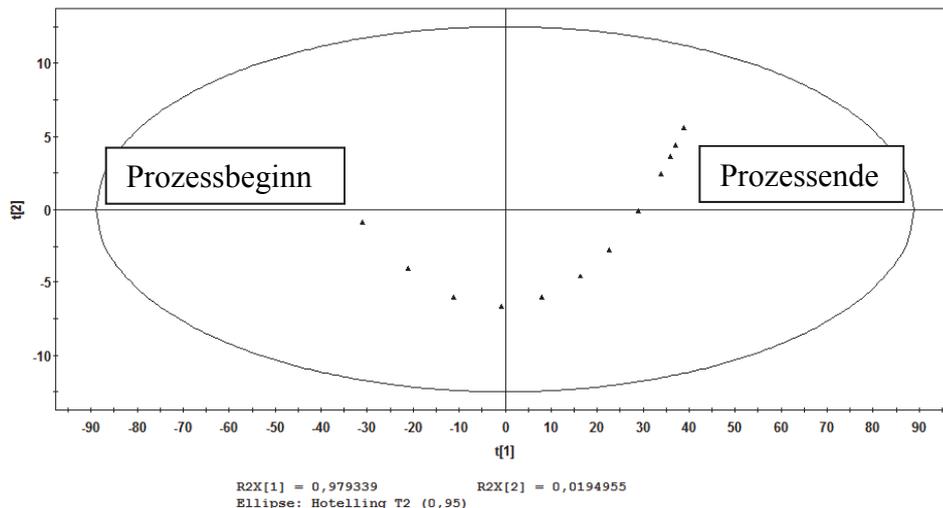


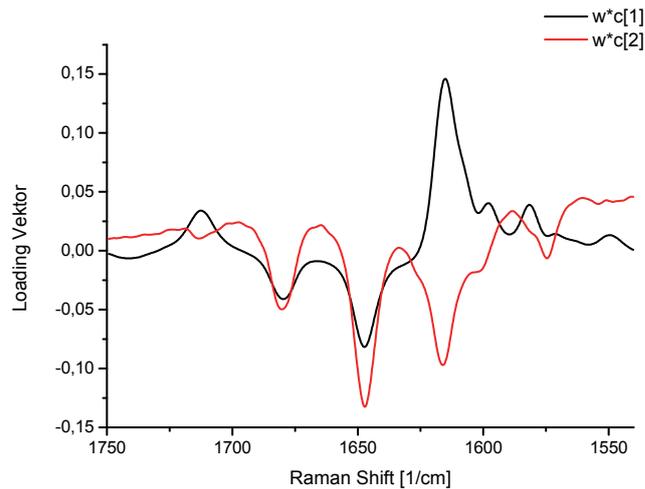
Abbildung 3-28: Vorhersage der aufgetragenen Candestartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus in-line Messungen (GITS 20 mg): Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen (n = 10;  $\bar{x} \pm s$ )

Die vorhergesagte Wirkstoffmenge korreliert bis zu einer Prozesszeit von etwa 180 min gut mit der mittels HPLC bestimmten aufgetragenen Wirkstoffmenge. Über den Zeitraum von 180 min bis 300 min sagt es jedoch einen tendenziell gegenüber der HPLC etwas erhöhten Wirkstoffauftrag vorher, obwohl der Prozess weiterhin mit einer gleichbleibenden Sprütrate fortgeführt wurde. Zur Ursachenfindung wurden charakteristische multivariate Kennparameter des Modells herangezogen:



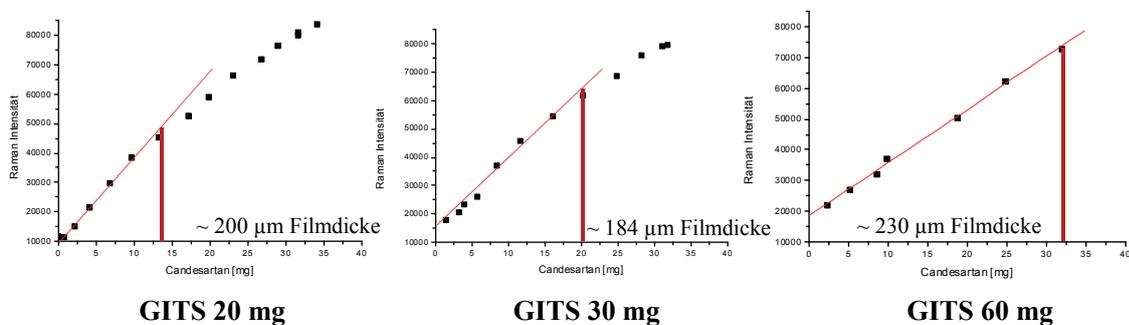
**Abbildung 3-29: Score Plot Modell GITS 20 mg**

Im Score Plot (vgl. Abbildung 3-29) sind die Score Werte für jedes Objekt und die erste und zweite Hauptkomponente aufgetragen. Die Score Werte stellen die Koordinaten für die Objekte (Spektren) in dem durch die Hauptkomponenten neu erstellten Koordinatensystem dar. Der u-förmige, nicht lineare Zusammenhang der Spektren von Prozessanfang bis –ende wird dabei deutlich. Mit Hilfe der Loadings in Abbildung 3-30, die bei spektroskopischen Methoden Teilstrukturen der Spektren wiedergeben, die am meisten für die Erklärung der Varianz beitragen, zeigt sich, dass die erste Hauptkomponente ( $t[1]$ ) den größten Teil der Varianz (98 %) mit einer Zunahme der Wirkstoffbanden und gleichzeitig einer Abnahme des Kernsignals erklärt. Die zweite Hauptkomponente ( $t[2]$ ) erklärt 2 % der Varianz. Die Loadings der zweiten Hauptkomponente zeigen eine Abnahme des gesamten Raman Signals.



**Abbildung 3-30: p-Loadings der ersten und zweiten Hauptkomponente (Wellenzahlbereich von 1750  $\text{cm}^{-1}$  bis 1540  $\text{cm}^{-1}$ )**

Als Hypothese könnte eine Abschwächung der Anregung von Raman Streuung ab einer gewissen Schichtdicke angeführt werden, sodass bei hohen Schichtdicken nicht proportional zum Anstieg der Schichtdicke auch die Intensität des Raman Signals ansteigt. Eine Zunahme der Score Werte der zweiten Hauptkomponente beginnt ab 150 min Prozesszeit, wenn auch der nicht lineare Trend in dem vorhergesagten Wirkstoffauftrag startet.



**Abbildung 3-31: Intensität des Raman Signals ( $1616,1 \text{ cm}^{-1}$ ) als Funktion der Wirkstoffmenge für die Probensysteme GITS 20 mg, GITS 30 mg und GITS 60 mg**

Zur Evaluierung des Schichtdickeneinflusses wurden weiterführenden Untersuchungen durchgeführt. Dazu wurden für das Probensystem GITS 20 mg die zum Zeitpunkt der Probenziehung durchschnittlich gemessenen Schichtdicken mit der Intensität des Wirkstoffpeaks bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  korreliert und in Abbildung 3-31 vergleichend mit den weiteren Probensystemen GITS 30 mg und GITS 60 mg aufgeführt. Wie in Abschnitt 3.1.3 bereits angesprochen, zeigt sich in der univariaten Auswertung nur für das

Probensystem GITS 60 mg ein linearer Zusammenhang über den gesamten Arbeitsbereich. Für die Arzneiform GITS 20 mg verändert sich bereits bei weniger als der Hälfte des Zielauftrages der Zusammenhang zwischen Raman Intensität und Wirkstoffmenge. Obwohl hier nur univariat dieser nicht lineare Zusammenhang aufgezeigt wurde, bietet er eine mögliche Erklärung für die nicht linearen Effekte in den Score Plots (vgl. Abbildung 3-29 und Abbildung 3-32).

Abbildung 3-32 stellt den Zusammenhang zwischen t- und u-Scores bezüglich der ersten Hauptkomponente dar. Dabei wird erkennbar, dass im Verlauf des Überzugverfahrens die Änderungen der spektralen Daten (X-Matrix) in einem nicht durchgehenden linearen Zusammenhang mit der ansteigenden Wirkstoffmenge (Y-Matrix) stehen. Dies ist ein weiteres Ergebnis, das verdeutlicht, dass auch in multivariater Betrachtung keine lineare Regression über den gesamten Arbeitsbereich vorliegt. Als Resultat ergibt sich ein höherer Vorhersagefehler, berechnet als RMSEP, von 0,72 mg (vgl. Tabelle 3-6, S. 59).

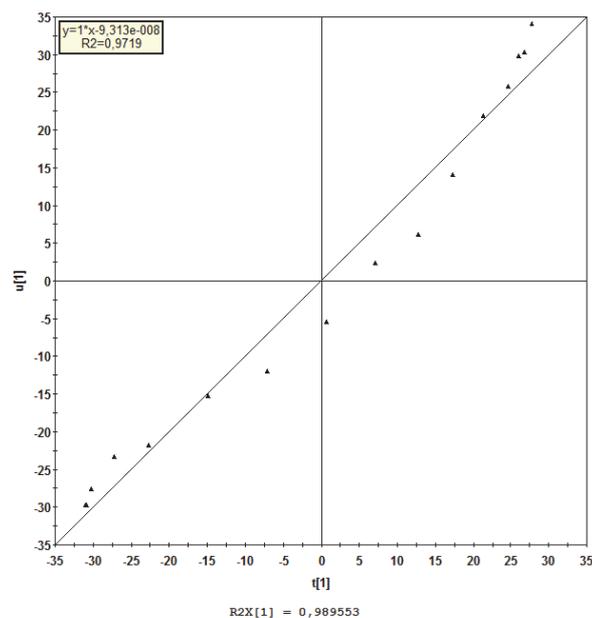


Abbildung 3-32: t[1] / u[1] Score plot

### 3.2.3. Arzneiform GITS 30 mg

Für das Probensystem GITS 30 mg wurde wie für die zuvor beschriebene Arzneiform GITS 20 mg zunächst eine in-line Kalibrierung für die Erstellung eines multivariaten Modells durchgeführt. Zur Überprüfung der Validität des entwickelten Modells wurde dieses anhand einer zweiten unabhängigen Testcharge überprüft.

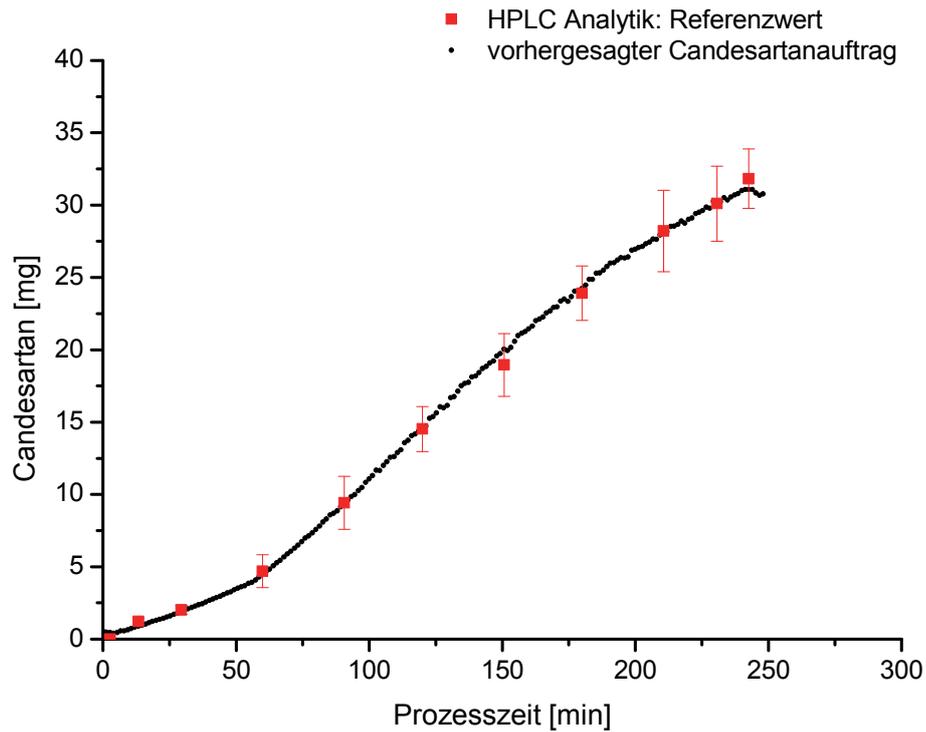
Im Hinblick auf die univariate Analyse des Einflusses der Schichtdicke steht diese Arzneiform zwischen GITS 20 mg und GITS 60 mg. Zur Veranschaulichung gibt Tabelle 3-5 charakteristische Kennzahlen zur Beschreibung der Zweischicht-Tabletten vor und nach dem Überzugsprozess an.

Tabelle 3-5: Kennzahlen der Probensysteme GITS 20 mg, GITS 30 mg und GITS 60 mg

Ausgangsmaterial				Endprodukt	
	Gewicht [mg]	Oberfläche [mm <sup>2</sup> ]	Volumen [mm <sup>3</sup> ]	Candesartan- auftrag [mg]	Schicht- dicke[μm]
<b>GITS 20 mg</b>	217	189	192	34,0	478
<b>GITS 30 mg</b>	280	221	248	31,8	341
<b>GITS 60 mg</b>	531	338	487	32,0	270

Die Arzneiformen unterscheiden sich in ihren geometrischen Kenngrößen, wie Tablettendurchmesser, Steghöhe, Kalottenhöhe und Wölbungsradius, die sich wiederum auf das Tablettenvolumen und die Oberfläche auswirken. Dadurch ergeben sich bei gleicher Auftragsmenge während des Überzugsprozesses unterschiedlich große effektive Schichtdicken.

Basierend auf diesen geometrischen Kennzahlen ist die univariate Auswertung in Abbildung 3-31 (S. 54) weiterführend zu diskutieren. Ab einer mittleren Schichtdicke  $\bar{x}$  von ca. 200 μm zeigte sich bei den Probensystemen GITS 20 mg und 30 mg eine Abweichung vom linearen Zusammenhang. Dies entsprach Wirkstoffaufträgen von ca. 12 mg bzw. über 16 mg für die Arzneiform GITS 30 mg, was mit der kleineren Oberfläche der Arzneiform GITS 20 mg im Vergleich zu GITS 30 und 60 mg einhergeht.



**Abbildung 3-33** Vorhersage der aufgetragenen Candesartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus in-line Messungen (GITS 30 mg): Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x} \pm s$ )

Auch der Prozessverlauf in Abbildung 3-33 als Ergebnis der Validierung bestätigt, dass die Erstellung multivariater Modelle mit umso geringeren Vorhersagefehlern behaftet ist, je geringer der Schichtdickenzuwachs durch den Wirkstoff ist. So konnte der mittlere Vorhersagefehler auf 0,44 mg reduziert werden und größere Abweichungen wie bei der Arzneiform GITS 20 mg traten in der Vorhersage nicht mehr auf.

### 3.2.4. Arzneiform GITS 60 mg

Die Ergebnisse der Implementierung des Modells für die Arzneiform GITS 60 mg sollen im Kontext der GITS 20 mg Ergebnisse diskutiert werden. Die Kalibrierung (vgl. Abbildung 3-27, S. 52) zeigt im Vergleich zu den anderen Probensystemen die besten Ergebnisse. Über den gesamten Arbeitsbereich liegt ein linearer Zusammenhang vor, was sich auch im höheren Bestimmtheitsmaß von 0,998 ausdrückt. Bei der Evaluation der Ergebnisdiagramme der multivariaten Datenanalyse werden große Unterschiede im Vergleich zum Probensystem GITS 20 mg ersichtlich. Es zeigt sich kein u-förmiger Prozessverlauf im Score Plot, sondern eine monotone Zunahme in Bezug auf die erste Hauptkomponente  $t[1]$  (vgl. Abbildung 3-34).

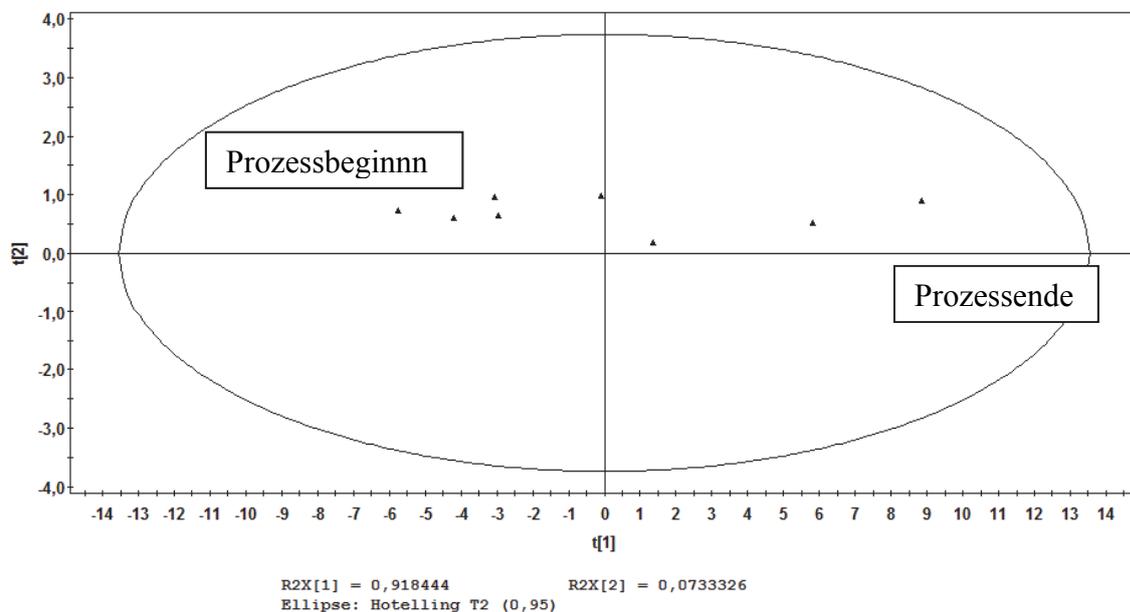


Abbildung 3-34: Score Plot für GITS 60 mg

Von Prozessbeginn mit einem Score Wert,  $t[1]$ , von -6 steigt der Score Wert auf ca. 9 an. Dabei treten in Richtung der y-Achse keine relevanten Veränderungen im Laufe des Überzugsprozesses auf. Der  $t[1]/u[1]$  Plot in Abbildung 3-35 weist einen direkten linearen Zusammenhang zwischen den Veränderungen in den spektralen Daten (aufgetragen als  $t[1]$ ) und dem ansteigenden Wirkstoffauftrag ( $u[1]$ ) auf. Im Vergleich zum Probensystem GITS 20 mg wird die Regression mit einem höheren Bestimmtheitsmaß von 0,997 beschrieben. Die univariate Auswertung weist über den gesamten Arbeitsbereich einen linearen Zusammenhang zwischen der in-line gemessenen Raman Intensität und dem Zuwachs an Wirkstoff auf. Nach der Evaluation des

multivariaten Modells wäre folglich im Vergleich zu den anderen Probensystemen eine Prozessüberwachung mit dem geringsten Vorhersagefehler zu erwarten.

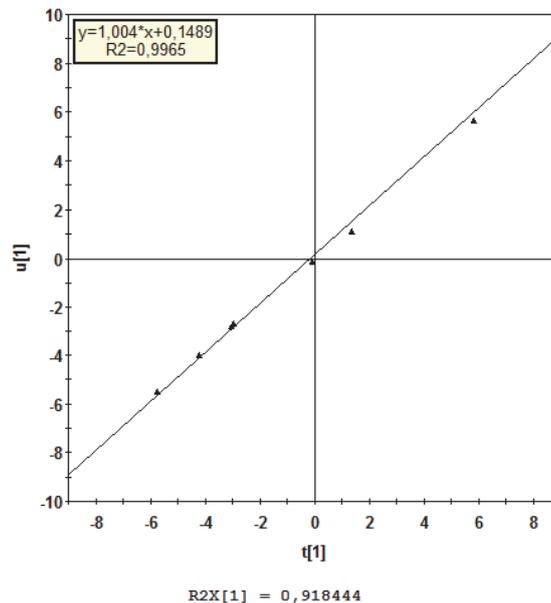


Abbildung 3-35: t[1] / u[1]- Score Plot für GITS 60 mg

Abbildung 3-36 zeigt den Prozessverlauf für die Arzneiform GITS 60 mg anhand der Vorhersage des Wirkstoffauftrages. Der Vorhersagefehler RMSEP von 0,30 mg bezogen auf einen Zielwirkstoffauftrag von 32 mg stellt ein sehr gutes Ergebnis dar (vgl. Tabelle 3-6). Abgesehen von einer geringen Abweichung während der Frühphase des Herstellungsprozesses, die nicht durch die Kalibrierung abgedeckt wurde, lässt sich der gesamte Überzugsprozess prozessanalytisch verfolgen. Die einzelnen Prozessphasen, wie Änderungen in der Sprührate während der Sprühphase nach 60 min Prozesszeit oder die Trocknungs- und Abkühlphase am Ende des Prozesses werden im Diagramm ersichtlich.

Tabelle 3-6: Zusammenfassung der Modellkalibrierungen und -validierungen

	RMSEC [mg]	BIAS [mg]	RMSEP [mg]
<b>GITS 20 mg</b>	0,85	$2 * 10^{-6}$	0,72
<b>GITS 30 mg</b>	0,70	$-1 * 10^{-5}$	0,44
<b>GITS 60 mg</b>	0,55	$-5 * 10^{-6}$	0,30

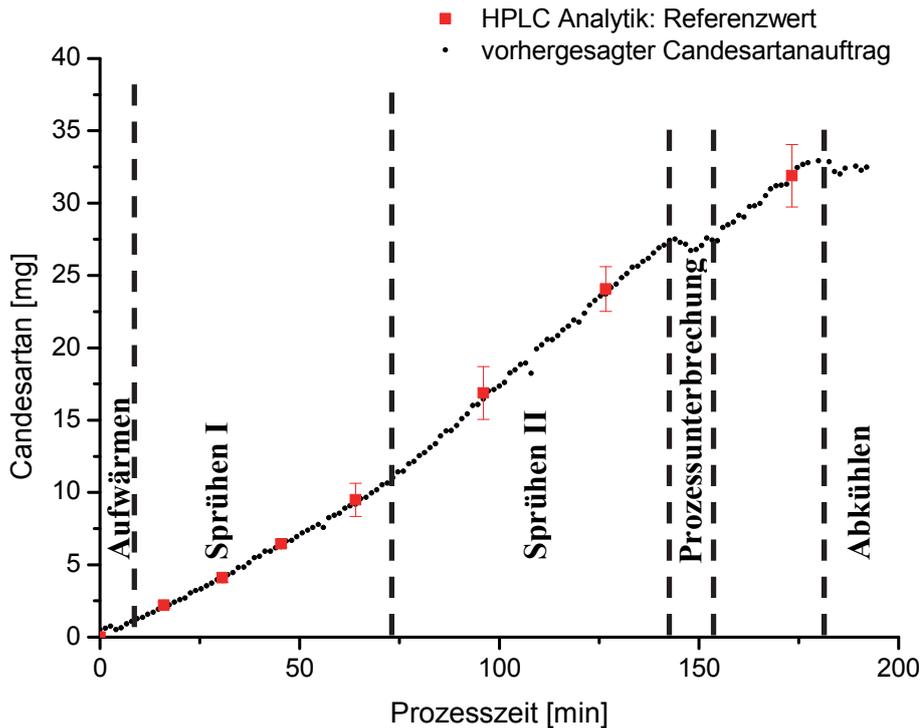


Abbildung 3-36 Vorhersage der aufgetragenen Candestartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus in-line Messungen (GITS 60 mg): Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x} \pm s$ )

### 3.2.5. Zusammenfassung

Die in Kapitel 3.1 beschriebene Modellerstellungsstrategie konnte mit Einschränkungen erfolgreich auf die drei unterschiedlichen Probensysteme übertragen werden. In einer univariaten Auswertung zur Korrelation von Raman Intensität gegen Wirkstoffauftrag konnte ein möglicher Erklärungsansatz für die teilweise erhöhten Vorhersagefehler gefunden werden. Je höher die aufgetragenen Schichtdicken, desto eher treten Abweichungen von der linearen Korrelation zwischen Raman Signal und Wirkstoffmenge auf. Ursache ist vermutlich die exponentielle Abschwächung des Lichtes mit der durchlaufenen Schichtdicke. Als einfacher Vortest zur Einschätzung des Vorhersagefehlers des multivariaten Modells lässt sich die univariate Auswertung der Raman Intensität einer dem Wirkstoff zuzuordnenden Wellenlänge als Funktion der Prozessdauer implementieren. Treten deutliche Sättigungseffekte der Raman Intensität auf, so ist durch die multivariate Auswertung zwar eine Vorhersage der aufgetragenen Wirkstoffmenge möglich, diese ist jedoch ggf. mit einer höheren Unsicherheit behaftet.

### **3.3. Überführung der Methodik in den Produktionsmaßstab**

#### **3.3.1. Einleitung**

Nachdem gezeigt wurde, dass die neu entwickelte Modellerstellungsstrategie für Überzugsprozesse im Labormaßstab zuverlässige Ergebnisse liefert, sollte das Modell in einem nächsten Schritt in den Produktionsmaßstab überführt werden.

Dabei wurde zunächst die analytische Methode inklusive der in-line Modellerstellung im Produktionsmaßstab implementiert. Aufgrund baulicher Gegebenheiten war eine direkte Übertragung des experimentellen Aufbaus nicht möglich, sondern es bedurfte einer Neuentwicklung der Sondenhalterung und einer fundierten Untersuchung hinsichtlich der optimalen Sondenposition im Trommelcoater.

In einem zweiten Schritt sollte die Transferierbarkeit der multivariaten Modelle vom Labor- in den Produktionsmaßstab evaluiert werden. Dazu wurden die im vorhergehenden Kapitel erläuterten Modelle aus dem Labormaßstab auf Raman Spektren angewandt, die in-line während des Überzugsprozesses im Produktionsmaßstab gemessen wurden.

Die in beiden oben beschriebenen Schritten gesammelten Ergebnisse, liefern wichtige Informationen im Hinblick auf eine mögliche Prozessapplikation und die Robustheit der entwickelten Methodik.

### 3.3.2. Versuchsaufbau

Der experimentelle Aufbau für die in-line Prozessanalytik im Labormaßstab-Trommelcoater BFC 5 konnte bautechnisch begründet nicht für die Versuche im Produktionsmaßstab-Trommelcoater BFC 400 übernommen werden. Zusätzlich sollten für den Produktionsmaßstab die Sonden zweier spektroskopischer Analysemethoden implementiert werden, ohne sich gegenseitig zu stören: NIR als schwingungsspektroskopische Methode und Raman Spektroskopie als Methode zur Untersuchung der inelastischen Streuung von Licht an Molekülen und Festkörpern. Aus diesen Gründen wurde die Raman Sonde mit einer im Rahmen dieser Arbeit neu entwickelten Halterung im Inneren des Produktionsmaßstab-Trommelcoaters am Sprüharm befestigt und die NIR Sonde in ausreichendem Abstand am vorderen Ende der Trommel. Dieser Prototyp wurde im Laufe der Versuche weiter optimiert, so dass die Position der Raman Sonde letztlich in alle drei Raumrichtungen variiert werden konnte. Dies ermöglichte u.a. eine Variation des Abstandes zwischen Sonde und Tablettenbett.

Die optimale Position der Sonde im Coater muss unter Beachtung verschiedener Einflussfaktoren bestimmt werden. Neben dem Abstand zum Tablettenbett (der x-Raumrichtung) ist die Position der Sonde am Sprüharm (die z-Raumrichtung) entscheidend. Ob die Sonde in der Nähe einer Sprühdüse oder möglichst weit entfernt ist und auch ob sie nah an der Einfüllöffnung, oder mittig im Coater oder im hinteren Drittel befestigt ist, wirkt sich unmittelbar auf die Qualität der gemessenen Spektren und somit auf das Ergebnis der Messung einer repräsentativen Probenmenge aus. Es gilt, in Bereichen zu messen, in denen der Sprühnebel, der den zu messenden Wirkstoff enthält, nicht miterfasst wird. Dies kann durch Korrekturen in Richtung der y-Raumachse, dem Winkel zwischen Tablettenbett und Raman Sonde, verhindert werden. Außerdem sollten Messpositionen im Trommelcoater vermieden werden, in denen eine inhomogene Durchmischung auftritt, wie z.B. die Endbereiche der Trommel.

Abbildung 3-37 und Abbildung 3-38 zeigen die installierte Raman Sonde im Produktionscoater. Der Prototyp (Abbildung 3-37) ermöglichte nur eine stark eingeschränkte Positionsänderung in Richtung der x-Achse. Der optimale Sonden-Tablettenbett-Abstand von 22 cm konnte bei der festgelegten Füllmenge für die Produktionschargen nicht eingehalten werden [100]. Die Sonde war während der in-line Messungen in einer Entfernung von 30 cm vom Tablettenbett montiert. Diese Entfernung

ist abhängig von der Trommeldrehzahl, da sich die Tiefe des Tablettenbettes mit der Trommeldrehzahl verändert. Der Abstand wurde bei einer gegebenen Drehzahl für den Überzugsprozessschritt gemessen.

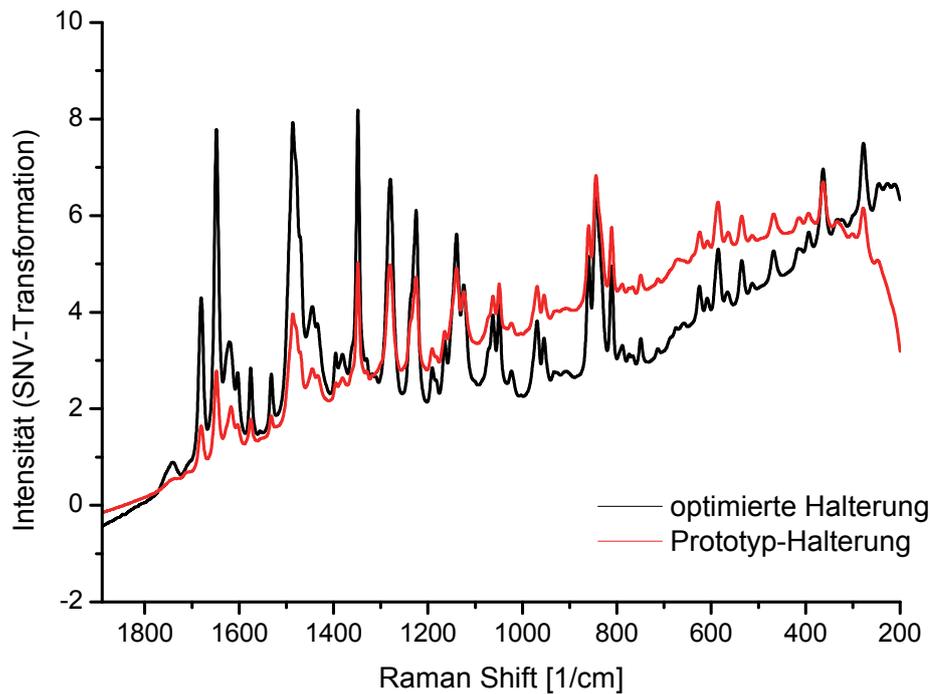


**Abbildung 3-37: Versuchsaufbau für in-line Messungen im BFC 400: Sondenbefestigung am Sprüharm (links: Prototyp, rechts: optimierte Halterung)**



**Abbildung 3-38: Versuchsaufbau für in-line Messungen im BFC 400: Sondenbefestigung am Sprüharm (optimierte Halterung)**

Abbildung 3-39 zeigt, wie sich die Position der Sondenhalterung auf die gemessenen spektralen Daten auswirkt. Die in Rot gekennzeichneten Spektren wurden mit Hilfe der Prototyp-Halterung für die Sonde im Trommelcoater befestigt. Mit dieser Halterung ist der gewünschte Messabstand zwischen der Raman Sonde und dem Tablettenbett von 22 cm nicht realisierbar.



**Abbildung 3-39: Einfluss der Sondenposition auf die gemessenen Raman Spektren (rot: Prototyp, schwarz: optimierte Sondenhalterung)**

Nur in einem Abstand von 22 cm wird die Laserintensität durch die Optik auf einen Durchmesser von 6 mm, der dem Durchmesser des Messflecks entspricht, fokussiert [100]. Weicht man von diesem Abstand ab, so vergrößert sich der Durchmesser des illuminierten Bereichs. Aufgrund der hohen Tiefenschärfe der Sonde wird dennoch nur Raman gestreutes Licht im Detektor erfasst, das aus einem Durchmesser von 6 mm, dem Messfleck, stammt. Da der Messfleck bei falschem Abstand zwischen Sonde und Tablettenbett durch den Laser schwächer ausgeleuchtet wird, erscheinen die Raman Banden mit geringerer Intensität im Spektrum, während die Intensität des Rauschens gleich bleibt. Insgesamt ist eine Verschlechterung des Signal-Rausch-Verhältnisses festzustellen. Abbildung 3-39 stellt den Effekt des Messabstandes auf die Raman Intensität dar. Das Spektrum, das mit Hilfe der Prototyp-Halterung gemessen wurde, zeigt ohne Berücksichtigung des fluoreszenzbedingten Basislinieneffektes eine deutlich niedrigere Raman Intensität als das Spektrum, das mit Hilfe der optimierten Sondenhalterung gemessen wurde. Ein möglicher Grund für den starken Basislinieneffekt, der auch nach durchgeführter SNV-Transformation noch ersichtlich ist, lässt sich im durch die Prototyp-Halterung bedingten Winkel zwischen Sonde und Tablettenbett finden. Wie Abbildung 3-37 deutlich macht, ist der Winkel zwischen Sonde und Tablettenbett durch

die Prototyp-Halterung deutlich flacher im Vergleich zur optimierten Version. Der Einfallswinkel des Anregungslichtes wirkt sich auf das Streuverhalten der Probe aus. Während des Überzugsprozesses konnten so auch Teile der metallischen entgegengesetzt laufenden spiralförmigen Misch- und Fördererlemente miterfasst werden. Zusätzlich wurden Bereiche des Sprühnebels mitgemessen, was zu Streueffekten und dadurch zu Basislinienverschiebungen führen kann.

### 3.3.3. Arzneiform GITS 30 mg

Die Modellerstellungsstrategie, die im Labormaßstab etabliert wurde, sollte im nächsten Schritt auf den Produktionsmaßstab übertragen werden. Dazu wurden PLS Modelle für den Produktionsmaßstab mit jeweils zwei Hauptkomponenten erarbeitet, die sich in der Zusammensetzung des Kalibrierungsdatensets unterscheiden. Bei der Modellerstellung für die Arzneiform Nifedipin GITS 30 mg konnte auf Raman Spektren aus fünf Herstellungschargen zurückgegriffen werden. Die Messungen wurden mit der optimierten Halterung durchgeführt.

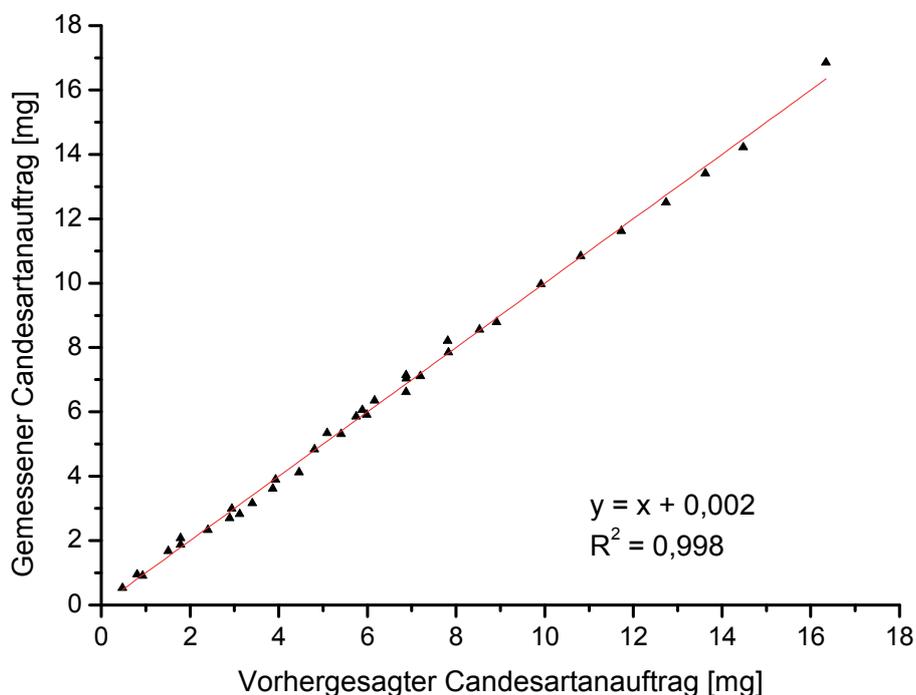


Abbildung 3-40: PLS Modell: Kalibrierung Modell GITS 30 mg (n = 36)

Die folgenden Ergebnisse beruhen auf einem einzigen erstellten PLS Modell, das auf Raman Spektren (n=36) von drei verschiedenen Chargen basiert. Dieses Modell sollte anhand der verbleibenden zwei Chargen validiert werden.

**Tabelle 3-7: Ergebnis der PLS-Kalibrierung im Produktionsmaßstab**

	Anzahl Spektren	PC	Kalibrier- bereich [mg]	RMSEC [mg]	R <sup>2</sup>	Steigung	Achsen - abschnitt
<b>GITS 30 mg</b>	36	2	0,53-16,85	0,22	0,998	1	-8*10 <sup>-8</sup>

Tabelle 3-7 führt die charakteristischen Kennzahlen des PLS Modells auf. Das Ergebnis der Kalibrierung, das in Abbildung 3-40 dargestellt ist, zeigt deutlich, dass die Spektren, die für die Kalibrierung des Modells verwandt wurden, nicht homogen über den Arbeitsbereich des Modells verteilt sind. Der Bereich bis 8 mg Candestartancilexetilaufrag wird von deutlich mehr Kalibrierpunkten bzw. Raman Spektren repräsentiert als der Arbeitsbereich von 8 mg bis 16 mg. Wünschenswert ist eine möglichst gleichmäßig dichte Verteilung der Kalibrierpunkte über den gesamten Arbeitsbereich des Modells. Dies konnte nicht im gewünschten Umfang bei den Herstellungsversuchen im Produktionsmaßstab umgesetzt werden, da die Anzahl der Versuche inklusive der jeweiligen Dosiskombinationen vorgegeben war. Für die Kalibrierung eines multivariaten Modells ist ein linearer Zusammenhang zwischen den vorhergesagten Werten („predicted“) und den mittels Referenzmethode gemessenen Werten („observed“) erstrebenswert. Des Weiteren sollte die Regressionsgerade möglichst eine Steigung von 1 und einen Achsenabschnitt von 0 aufweisen. Die Kalibrierung des Modells für die Arzneiform GITS 30 mg erfüllt diese Anforderungen. Der mittlere Kalibrierfehler (vgl. Abschnitt 6.3.1.3.1) angegeben als RMSEC liegt bei 0,22 mg für einen Bereich von 0,53 mg bis 16,85 mg.

Das oben beschriebene PLS Modell wurde mit Hilfe zweier Produktionschargen, die unabhängig von den Kalibrierungschargen sind, validiert.

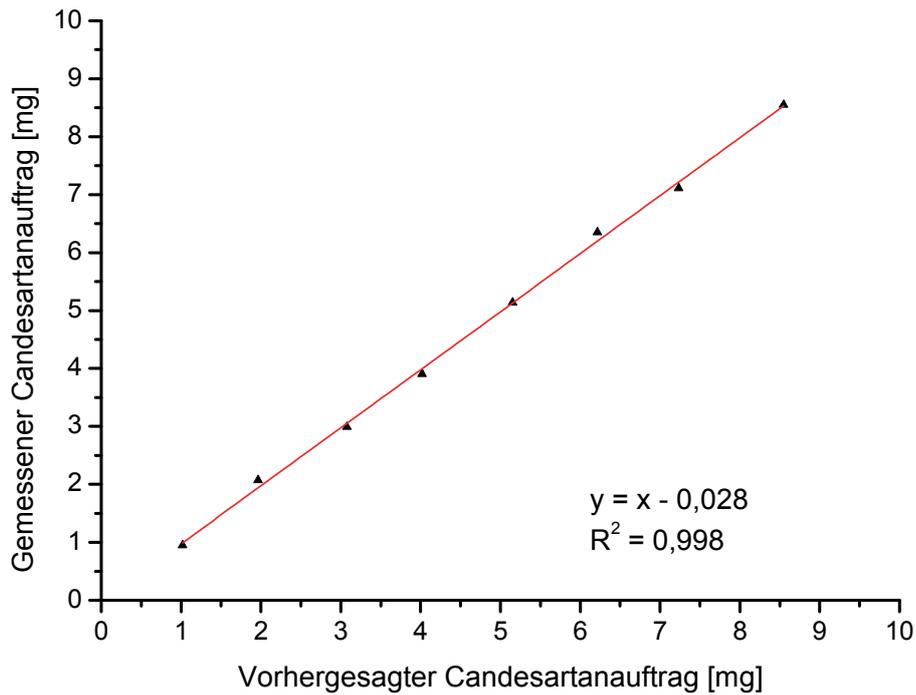
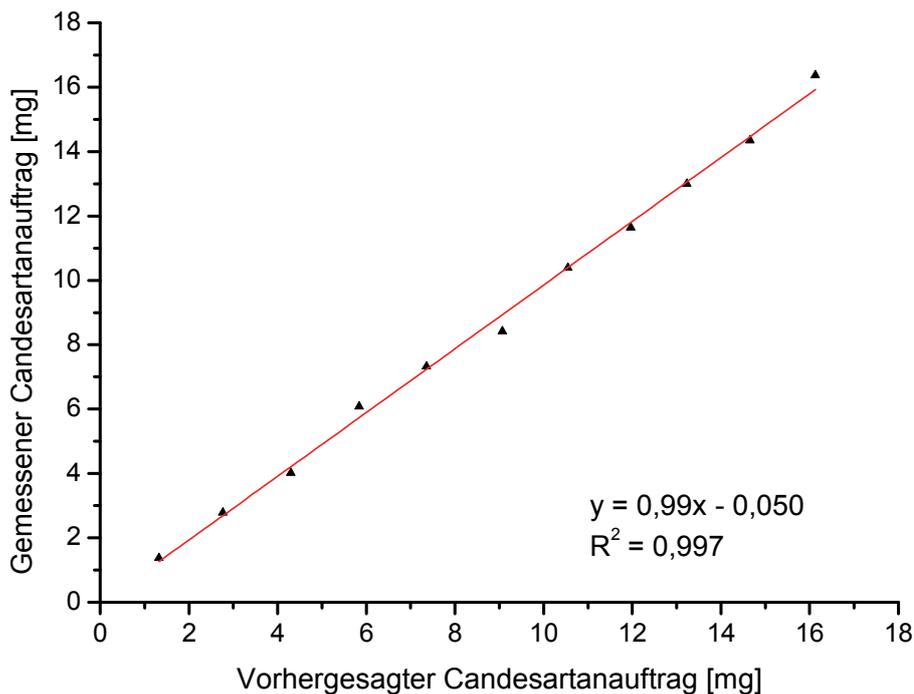


Abbildung 3-41: PLS Modell: Validierung Charge 1 (n = 8)

Diese Chargen unterscheiden sich zum einen durch ihre Prozesslänge und den gegebenen Wirkstoffauftrag, aber auch durch ihren Prozessverlauf, wie im Weiteren näher ausgeführt wird. Auf diese Weise kann die analytische Methode und das entwickelte multivariate Modell u.a. im Hinblick auf seine Richtigkeit und Robustheit untersucht werden. Längere Prozesszeiten unter Beachtung der jeweiligen Sprühdichte führen zu höheren Wirkstoffaufträgen und entsprechend höheren Schichtdicken.

Tabelle 3-8: Ergebnis der Validierung (GITS 30 mg) im Produktionsmaßstab

		RMSEP [mg]	Prozessende	
			abs. Abweichung [mg]	rel. Abweichung [%]
GITS 30 mg	Charge 1	0,15	0,05	0,43
	Charge 2	0,28	0,20	1,20



**Abbildung 3-42: PLS Modell: Validierung Charge 2 (n = 11)**

Der mittlere Vorhersagefehler angegeben als RMSEP („Root Mean Square Error of Prediction“) liegt bei 0,15 mg für Charge 1 und 0,28 mg für Charge 2. Die zum Zeitpunkt des jeweiligen Prozessendpunkts aufgetragene Wirkstoffmenge der beiden Produktionschargen wurde mit einer Abweichung von 0,43 % bzw. 1,20 % im Vergleich zum Ergebnis der HPLC Referenzmessung vorhergesagt. Im Prozessverlaufdiagramm (vgl. Abbildung 3-43 und Abbildung 3-44) wird der Nutzen der Methode als Monitoring-Werkzeug ersichtlich. Die einzelnen Prozessschritte wie auch Prozessstörungen lassen sich im Diagramm deutlich erkennen. So ist ein Pumpenfehler bei Charge 1, der zu einer 15-minütigen Sprühpause führte, sofort ersichtlich.

Weiteres Ziel der Untersuchungen ist es, die Methode zusätzlich auch als Prozesssteuerungswerkzeug zu implementieren. Somit ist es von entscheidender Bedeutung, eine zuverlässige Vorhersage des Prozessendpunktes zu ermöglichen. Abbildung 3-43 stellt den Verlauf des prognostizierten Prozessendpunktes über die Prozesszeit dar. In Kapitel 3.4.5 wird näher auf dieses Verfahren eingegangen. Deutlich wird jedoch bereits an dieser Stelle, dass sich eine stabile und gleichmäßige Prozessführung auf die Präzision der Endpunktbestimmung auswirkt. Prozessunterbrechungen wirken sich direkt auf die Prognose aus und verändern das

Ergebnis dementsprechend. Zu Beginn des Prozesses liefert die Endpunktvorhersage keine realistischen Vorhersagen. Aufgrund von Variationen in der Zusammensetzung der Tablettenkerne ist das multivariate Modell nicht in der Lage, einen Candesartancilexetilaufrag von exakt Null zu erkennen. So ergibt sich auch ohne Candesartancilexetilaufrag ein durch das Modell vorhergesagter Candesartancilexetilaufrag von bis zu 0,1 mg. Dies führt dazu, dass bereits nach kurzer Prozessdauer ein höherer Candesartancilexetilaufrag vorhergesagt wird als tatsächlich vorhanden ist. Somit wird zu Beginn des Überzugsprozesses die verbleibende Prozessdauer deutlich zu gering vorhergesagt. Mit steigendem Candesartancilexetilaufrag verliert dieser Effekt immer stärker an Bedeutung, sodass etwa 30 min nach Beginn des Überzugsprozesses die Gesamtprozesszeit mit einer Abweichung von weniger als 1,5 % vorhergesagt wird. Sobald der Sprühprozess an Stabilität gewinnt und ein gleichbleibender Anstieg des Wirkstoffauftrages zu Grunde liegt, wird der Prozessendpunkt nach 247 min mit einer relativen Standardabweichung von 0,5 % vorhergesagt. Allein die 15-minütige Prozessunterbrechung führt zu einer Veränderung der Vorhersage und einer dementsprechenden Anpassung des Ergebnisses.

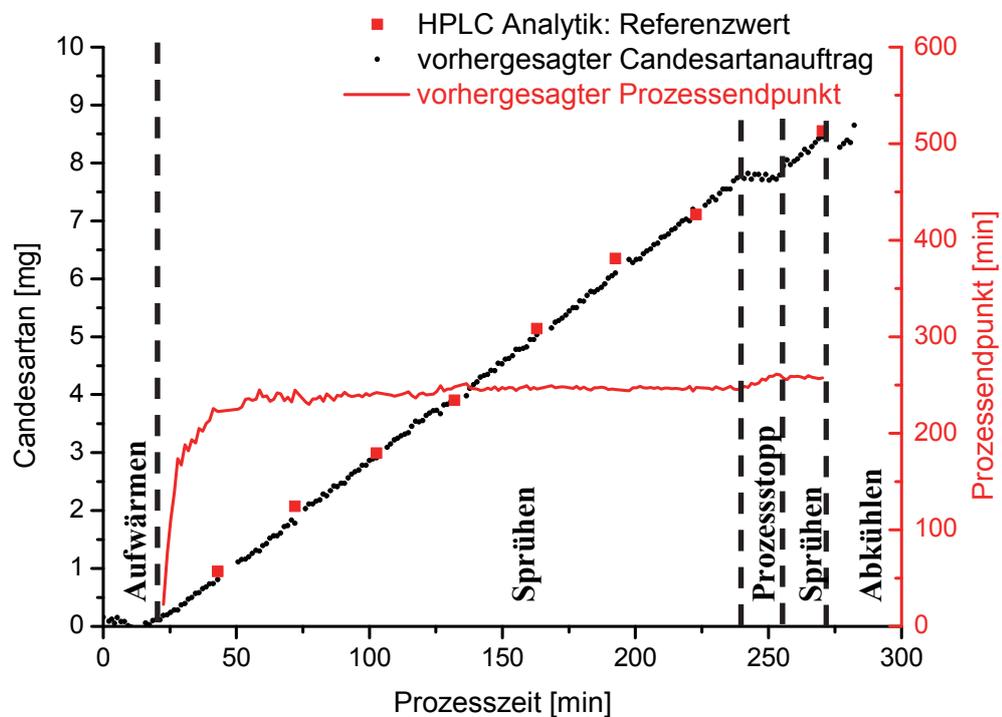


Abbildung 3-43: Charge 1: Vorhersage der aufgetragenen Candesartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus in-line Messungen; Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen (n = 10;  $\bar{x}$ ).

Mit der Auswahl der Charge 2 (Wirkstoffauftrag: 16,37 mg) sollte gezeigt werden, dass das entwickelte multivariate Modell auch bei höheren Wirkstoffaufträgen und damit höheren Schichtdicken verlässliche Vorhersagen bezüglich der Menge an Wirkstoff treffen kann. Der RMSEP von 0,28 mg ist als absoluter Zahlenwert gegenüber der Charge 1 leicht erhöht. Dass auch die Wirkstoffmenge zu Prozessende mit einer geringeren Genauigkeit, angegeben als relative Abweichung in %, vorhergesagt werden kann, lässt sich anhand der Struktur des Kalibrierungsdatensets erklären. Da die Kalibrierpunkte nicht homogen über den gesamten Arbeitsbereich verteilt sind, basiert die Vorhersage des multivariaten Modells bei Werten größer 8 mg auf weniger Kalibrierspektren als im Bereich kleiner 8 mg. Die fehlenden Daten kurz vor Ende des Überzugsprozesses lassen sich auf eine Störung der Messsoftware zurückführen (vgl. Abbildung 3-44).

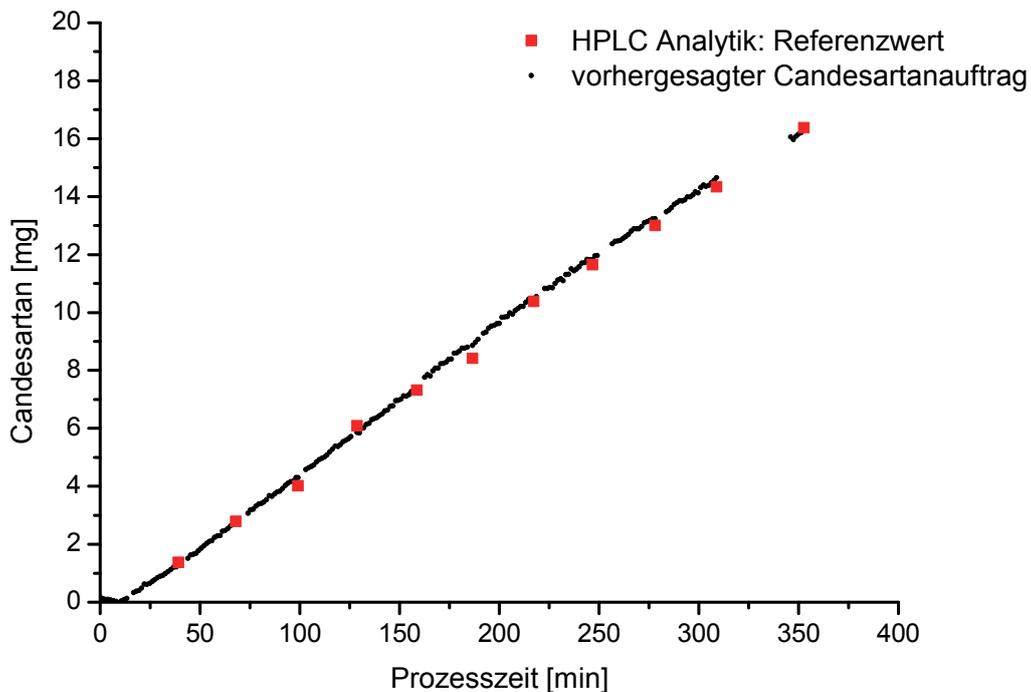


Abbildung 3-44: Charge 2: Vorhersage der aufgetragenen Candestartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus in-line Messungen; Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x}$ ).

Der vorhergehende Abschnitt 3.3.2 zeigte die Besonderheiten des Versuchsaufbaus für die Implementierung der Raman Spektroskopie im Produktionsmaßstab. Im Verlauf der Versuche wurde die Probenhalterung optimiert, so dass nicht bei allen Produktionschargen die optimierte Version des Prototyps eingesetzt werden konnte. Retrospektiv kann daran der Effekt auf die Robustheit der Methode und der multivariaten Modelle untersucht

werden. Zusätzlich traten bei dieser entsprechenden Charge starke Schwankungen in der Sprütrate und häufige Prozessunterbrechungen auf. Unter diesen aus Sicht der Prozessführung nicht idealen Bedingungen lässt sich die Robustheit der entwickelten Modelle gut untersuchen.

Raman Spektren dieser Charge wurden als drittes Validierungsdatenset (Charge 3) für das zuvor ausführlich besprochene PLS Modell verwendet (vgl. Abbildung 3-45). Abbildung 3-46 zeigt zusätzlich zum typischen Prozessverlauf einen Vergleich verschiedener Prozesssteuerungs-Werkzeuge. Im Vergleich stehen neben der Raman Spektroskopie als in-line Methode die NIR Spektroskopie als at-line Methode und die Gravimetrie als at-line Methode. Vergleicht man die unterschiedlichen prozessanalytischen Verfahren, so wird eine deutliche Überlegenheit der Raman Spektroskopie hinsichtlich der Vorhersagekraft gegenüber den anderen Methoden erkennbar.

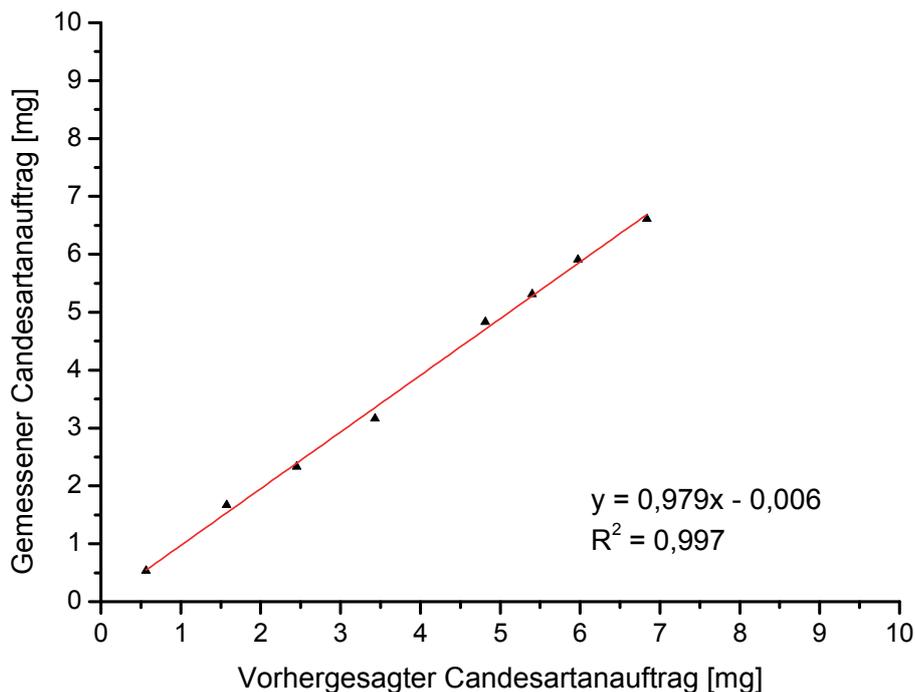


Abbildung 3-45: PLS Modell: Validierung Charge 3 (n = 8)

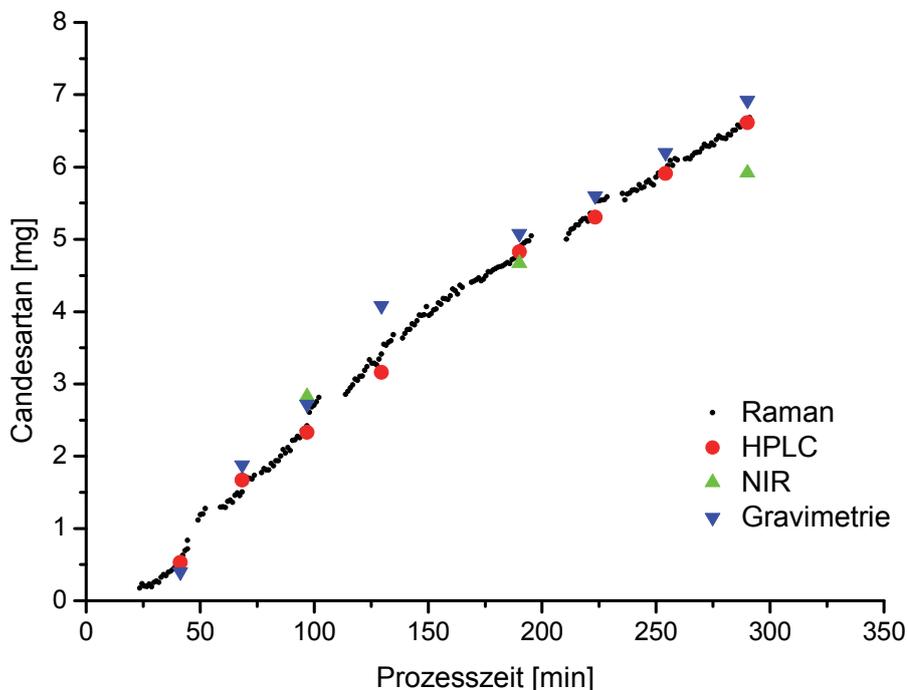
Über den gesamten Prozessverlauf hinweg liefert die gravimetrische Methode scheinbar deutlich zu hohe Mengen an aufgetragenem Wirkstoff. Ursächlich hierfür ist in erster Linie der Restwassergehalt der überzogenen Tabletten. Bei Verwendung dieser Methode zur Prozesssteuerung ist man auf zeitnahe Ergebnisse angewiesen, sodass es unmöglich

ist, einen definierten Wassergehalt der Tabletten etwa durch spezielle Lagerungsbedingungen sicherzustellen. Bei den at-line gewogenen Tabletten misst man durch die Restfeuchte vom Überzugsprozess also systematisch ein zu hohes Gewicht.

**Tabelle 3-9: Vergleich der unterschiedlichen Prozesssteuerungsinstrumente**

	Raman Spektroskopie Prototyp-Halterung (in-line)	NIR Spektroskopie (at-line)	Gravimetrie (at-line)
<b>RMSEP [mg]</b>	0,12	0,47	0,42
<b>rel. Abweichung [%]</b>	0,05	10,52	4,65

Beurteilt man die gravimetrische Methode nach ihrer Eignung als Prozesssteuerungsinstrument, so werden schnell die Grenzen dieses Verfahrens ersichtlich. Abweichungen von über 4 % am Prozessende (vgl. Tabelle 3-9) disqualifizieren die gravimetrische Prozesskontrollmethode im Hinblick auf eine mögliche Implementierung zur Endpunktkontrolle eines active coating Verfahrens.



**Abbildung 3-46: Validierung Charge 3: Vergleich der unterschiedlichen Prozesssteuerungsinstrumente**

Abweichungen wie im Fall der Gravimetrie führen bei der Berechnung des Akzeptanzwertes (vgl. Gl. 3-4 und Ph. Eur. 2.9.40: Gleichförmigkeit einzeldosierter Arzneiformen) zu sogenannten Strafzuschlägen, die zu einem Überschreiten des Grenzwertes und somit zum Nichterfüllen der Prüfungsvoraussetzungen führt. Wäre der Prozess gravimetrisch gesteuert worden, ergäbe sich nach Ph. Eur. 2.9.40 (L1) ein Zuschlag von 3,20 Punkten bei der Berechnung des Akzeptanzwertes. Somit wäre eine absolute Standardabweichung  $s$ , in Prozentpunkten angegeben, von 4,92 erforderlich, um in L1 der Monographie zu entsprechen.

Mit Hilfe der in-line Raman Spektroskopie als Prozesssteuerungsmethode wäre der Endpunkt des Prozesses im Hinblick auf eine Erfüllung des Akzeptanzwertes erfolgreich bestimmt worden. Um einen Akzeptanzwert kleiner 15 zu erreichen, darf die absolute Standardabweichung nicht größer 6,25 % sein. Dabei muss hervorgehoben werden, dass dies selbst unter ungünstigen Prozessbedingungen nachgewiesen wurde: So wurde das multivariate Modell auf Basis von Raman Spektren kalibriert, die mit Hilfe der optimierten Sondenhalterung gemessen wurden, während die Validierung mit Spektren vollzogen wurde, die bei einem deutlich größeren Messabstand zwischen Sonde und Tablettenbett erhalten wurden. Der Prototyp zwang durch seine Bauweise zu einem zehn Zentimeter größeren Messabstand im Vergleich zur optimierten Halterung. Es wurden somit Messabstände von über 30 cm nötig. Müller et al. untersuchten den Einfluss des Messabstandes auf die Raman Intensität und auf die Vorhersagekraft eines entwickelten Modells. Dabei wurde beschrieben, dass ein Messabstand zwischen 15 und 25 cm bei der gegebenen Ramansonde verlässliche Ergebnisse liefern kann [86]. Hierbei ist anzumerken, dass diese Modelle off-line entwickelt wurden und auch der Messabstand off-line präzise bestimmt werden konnte. Im oben beschriebenen Fall wurden hingegen in-line kalibrierte Modelle an in-line vermessenen Chargen mit unterschiedlichem Messabstand getestet. Insbesondere Produktionschargen mit hohen Wirkstoffaufträgen und dementsprechend hohen Schichtdicken des Überzuges zeichnen sich durch ein Anwachsen des Tablettenbetts während des Herstellungsprozesses aus. Dadurch verändert sich der Abstand zwischen Sonde und Tablettenbett im Bereich von einigen Zentimetern. Dies erschwert eine korrekte Vorhersage, da definierte Messabstände während des Herstellungsprozesses schwer einzuhalten sind.

Abbildung 3-46 verdeutlicht, dass ein robustes multivariates Modell nicht nur in einem Messabstand zwischen 15 und 25 cm zuverlässige Ergebnisse liefern kann. Auch

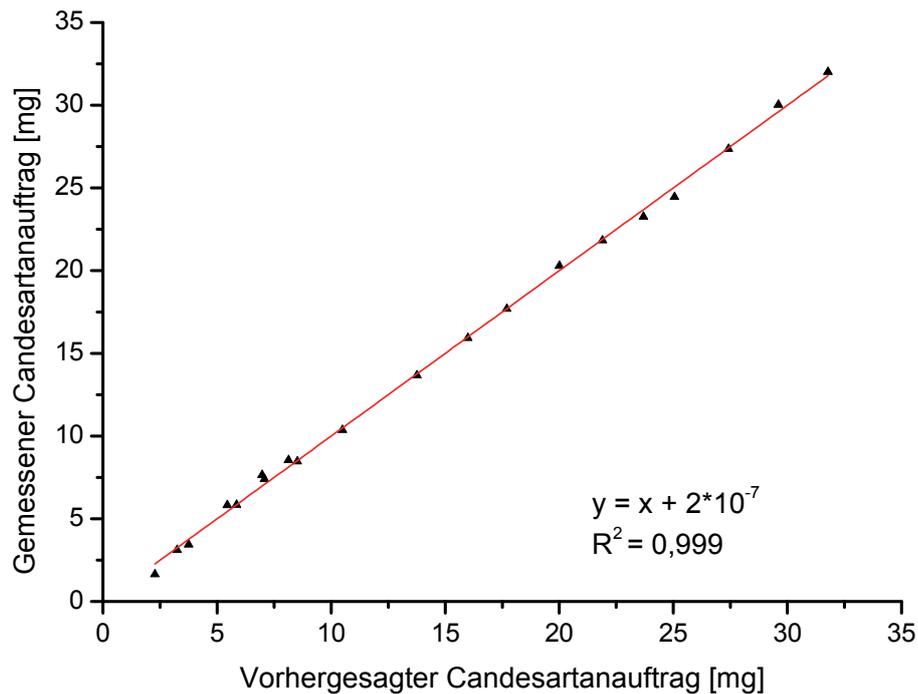
Abstände von über 30 cm führen zu Ergebnissen mit nur geringer Abweichung. Ein RMSEP von 0,12 mg und eine relative Abweichung vom Referenzwert zum Prozessende von 0,05 %, belegen die Robustheit des Modells (vgl. Tabelle 3-9). Obwohl eindeutige Veränderungen in den gemessenen Raman Spektren auftreten (vgl. Kapitel 3.3.2), kann das entwickelte Modell, das auf einer in-line Modellerstellungsstrategie basiert, auch bei strukturellen Änderungen des experimentellen Aufbaus erfolgreich zur Prozessverfolgung eingesetzt werden

### 3.3.4. Arzneiform GITS 60 mg

Für die Modellerstellung im Produktionsmaßstab für die Arzneiform GITS 60 mg konnte insgesamt auf fünf Chargen zurückgegriffen werden. Dabei wurden Chargen mit einem Zielauftrag von 16 mg und 32 mg hergestellt. Exemplarisch wird im Folgenden die Prozessverfolgung von einer Charge, jeweils mit einem Zielauftrag von 32 mg, dargestellt. Die Ergebnisse beruhen auf einem PLS Modell, das auf Raman Spektren ( $n = 20$ ) von drei verschiedenen Chargen beruht. Die Kennzahlen des entwickelten PLS Modells für beide Arzneiformen zeigt Tabelle 3-10.

**Tabelle 3-10: Ergebnis der PLS-Kalibrierung im Produktionsmaßstab**

	Anzahl Spektren	PC	Kalibrier- bereich [mg]	RMSEC [mg]	R <sup>2</sup>	Steigung	Achsen- abschnitt
<b>GITS 30 mg</b>	36	2	0,53-16,85	0,22	0,998	1	$-8 \cdot 10^{-8}$
<b>GITS 60 mg</b>	20	3	1,63-32	0,37	0,999	1	$2 \cdot 10^{-7}$



**Abbildung 3-47: PLS Modell: Kalibrierung GITS 60 mg**

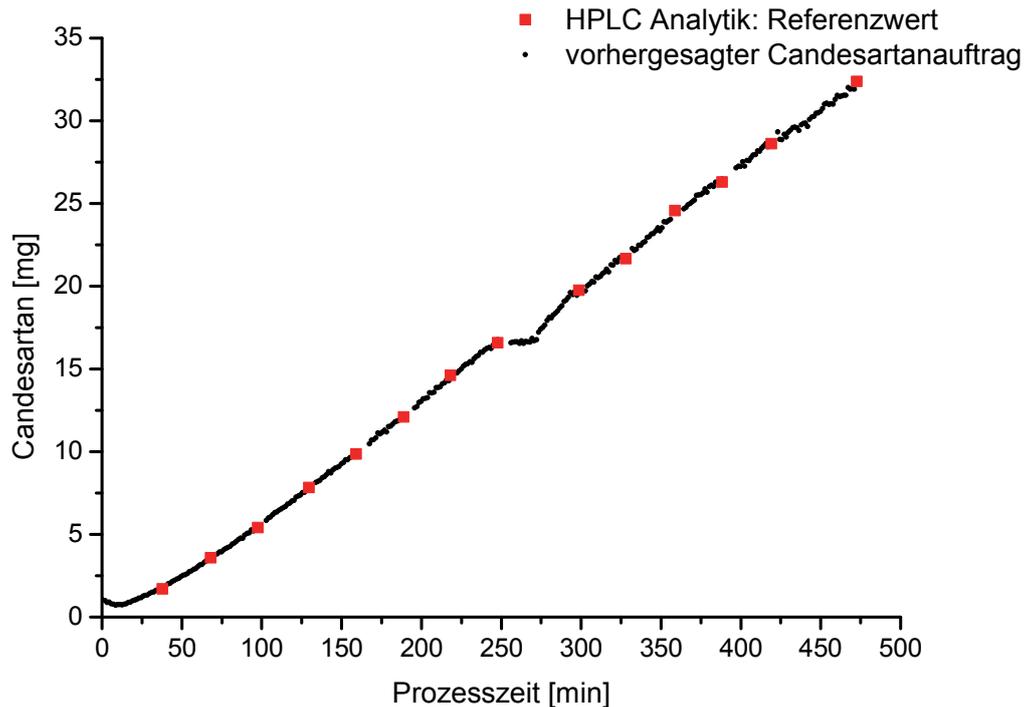
Durch Probennahmen konnten im Bereich von 1,63 mg bis 32,00 mg Kalibrierungspunkte für das multivariate Modell gesetzt werden. Das so entwickelte PLS Modell zeigt im „observed vs. predicted plot“ eine sehr gute Korrelation (vgl. Abbildung 3-47). Die Tendenz, wie in Abschnitt 3.2.3 beschrieben, dass geringe Schichtdicken die Modellerstellung erleichtern, bestätigt sich. Wie im Abschnitt 3.3.3 beschrieben, wurden zur Validierung dieses Modells eine Herstellungscharge aus dem Produktionsmaßstab ausgewählt, um als unabhängiges Datentestset zu dienen.

**Tabelle 3-11: Ergebnis der Validierung (GITS 60 mg) im Produktionsmaßstab**

	RMSEP [mg]	Prozessende	
		abs. Abweichung [mg]	rel. Abweichung [%]
<b>GITS 60 mg</b>	0,27	0,28	0,87

Die Ergebnisse der Validierung bestätigen die sehr gute Kalibrierung. In Abbildung 3-48 spiegelt sich der niedrige Vorhersagefehler von 0,27 mg (vgl. Tabelle 3-11) wider. Ab

dem ersten Kalibrierungspunkt treffen die vom Modell vorhergesagten Wirkstoffaufträge sehr genau die mittels Referenzanalytik bestimmten Wirkstoffmengen. Eine Prozessunterbrechung nach 250 min wird exakt von Modell wiedergegeben. Zum Prozessende weicht die Vorhersage nur um 0,87 % vom Referenzwert ab. Somit lässt sich die entwickelte Modellerstellungsmethode im Produktionsmaßstab erfolgreich implementieren.



**Abbildung 3-48:** Vorhersage der aufgetragenen Candestartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus in-line Messungen; Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x}$ ).

### 3.3.5. Transfer vom Labormaßstab in den Produktionsmaßstab

In den vorhergehenden Kapiteln konnte gezeigt werden, dass Raman Spektroskopie als prozessanalytische Technologie erfolgreich für eine Prozesskontrolle und Endpunktbestimmung auch für analytisch herausfordernde Arzneiformen eingesetzt werden kann. Der Transfer eines multivariaten Modells vom Labormaßstab zum Produktionsmaßstab strapaziert die Robustheit und dadurch auch die Präzision und Richtigkeit in einem hohen Maße, da durch die Veränderungen der Prozessparameter, aber auch durch die baulichen Gegebenheiten und durch Veränderungen an der Probe selbst ein Einfluss auf die Messbedingungen ausgeübt wird. Das im Labormaßstab an einer Charge kalibrierte PLS Modell wurde daher auf seine Robustheit gegenüber folgenden Parametern getestet:

- Veränderung der Sondenposition:
  - Abstand Sonde Tablettenbett
  - Winkel zum Tablettenbett
  - Messbereich im Trommelcoater
- Veränderung der Prozessparameter:
  - Trommeldrehzahl
  - Sprütrate
- Veränderung der Messbedingungen:
  - Unterschiede in der Mischeffizienz
  - Unterschiede in der Packungsdichte der Tabletten
  - intertablettäre Gleichförmigkeit des Überzugs

Dabei kann der Einfluss der einzelnen Faktoren nur bedingt für sich betrachtet werden, vielmehr handelt es sich bei dem Transfer eines multivariaten Modells um eine Sammlung von veränderten Umgebungsfaktoren und Messbedingungen. Das in 3.1.3.4 beschriebene und im Labormaßstab erstellte Modell wurde anhand der Produktionsmaßstabchargen validiert.

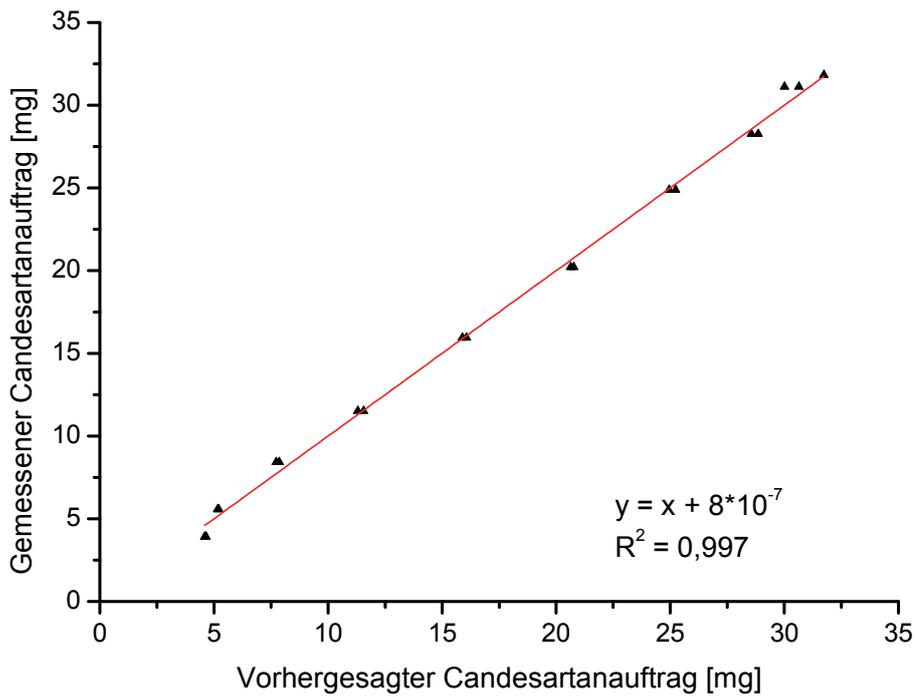
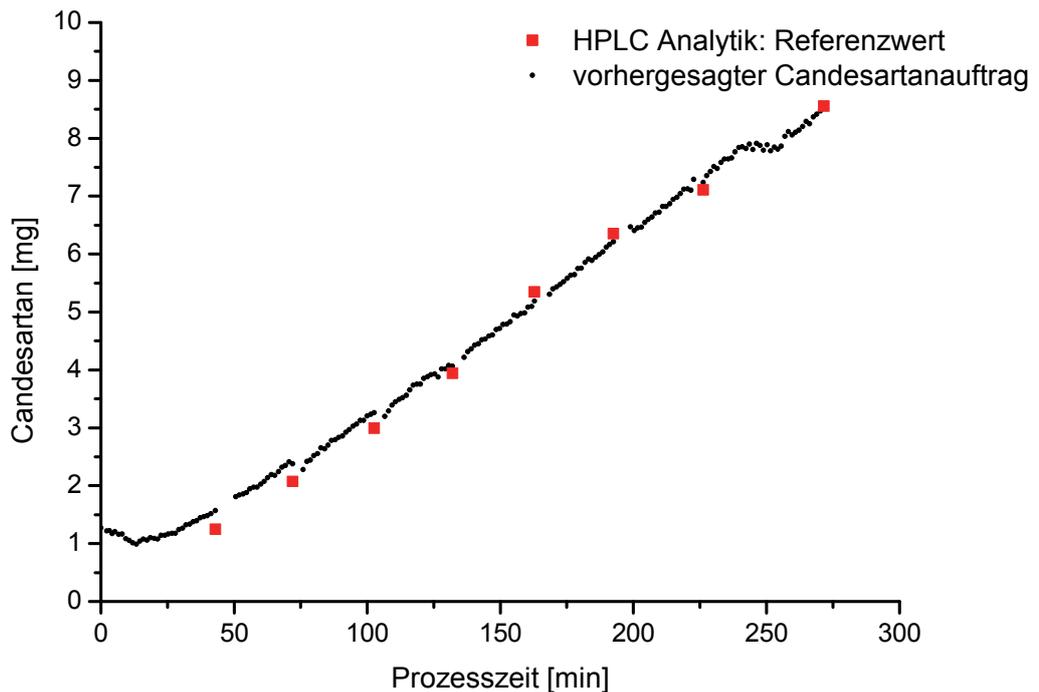


Abbildung 3-49: Kalibrierung PLS Modell Labormaßstab (n = 16)

Die Modellerstellungsstrategie und die Kalibrierung des verwendeten Modells (vgl. Abbildung 3-49) ist in 3.1.3 näher erläutert.

Tabelle 3-12: Ergebnis der Validierung im Produktionsmaßstab

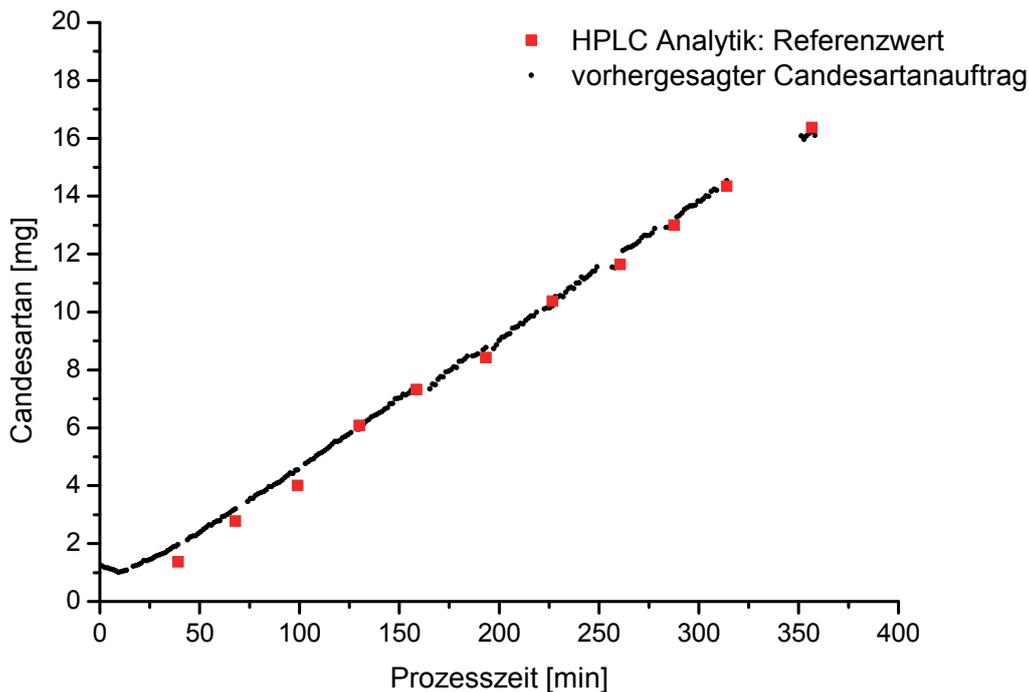
	RMSEP [mg]	Prozessende		
		Wirkstoff-Auftrag [mg]	abs. Abweichung [mg]	rel. Abweichung [%]
<b>Charge 1</b> (opt. Halterung)	0,19	8,55	0,10	0,47
<b>Charge 2</b> (opt. Halterung)	0,32	16,37	0,20	1,39
<b>Charge 3</b> (Prototyp)	0,49	6,61	0,33	4,94



**Abbildung 3-50: Scale up Charge 1: Vorhersage der aufgetragenen Candesartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus in-line Messungen; Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen ( $n = 10$ ;  $\bar{x}$ )**

Abbildung 3-50 gibt einen ersten Hinweis für die Transferierbarkeit des Modells. Der vom Labormaßstabmodell vorhergesagte Wirkstoffauftrag ist als Funktion der Prozesszeit dargestellt. Zum Ende des Prozesses waren  $(8,55 \pm 0,54)$  mg Wirkstoff auf jede einzelne Tablette aufgetragen. Lässt man die Abweichungen zu Beginn des Überzugsprozesses außer Acht, so stimmt die Modellvorhersage für den restlichen Prozessverlauf sehr gut mit den gemessenen Referenzwerten überein. Die Wirkstoffmenge am Endpunkt wurde mit einer Abweichung von 0,47 % vorhergesagt.

Die Abweichungen zu Prozessbeginn können durch die Unterschiede in den spektralen Daten der Produktionschargen im Vergleich zu denen für die Kalibrierung verwendeten Labormaßstabchargen erklärt werden. Der Grund, warum diese Abweichungen vorwiegend während der ersten Prozessminuten auftreten, lässt sich in den unterschiedlichen Chargengrößen und dem dadurch auch veränderten Mischverhalten im Produktionsmaßstab im Vergleich zum Labormaßstabgerät finden. Dies hat einen direkten Einfluss auf die Gleichförmigkeit des Überzugs (intertablettär) und führt dadurch zu veränderten spektralen Daten. Ein höherer Vorhersagefehler des Modells ist das Resultat.



**Abbildung 3-51: Scale up Charge 2: Vorhersage der aufgetragenen Candessartancilexetilmenge [mg] anhand SNV-transformierter Spektren aus in-line Messungen; Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen (n = 10;  $\bar{x}$ )**

Für Charge zwei (vgl. Abbildung 3-51) betrug die Prozesszeit 350 min. Zu diesem Zeitpunkt waren  $(16,37 \pm 0,64)$  mg Wirkstoff pro Tablette aufgetragen. Die Abweichung der Vorhersage am Endpunkt betrug 1,39 %. Der zuvor beschriebene Effekt zu Beginn des Überzugprozesses wird auch bei dieser Charge ersichtlich. Dies bestätigt die Vermutung eines systematischen Fehlers, der auf die gerätespezifischen Unterschiede zwischen Labor- und Produktionsmaßstab zurückgeführt werden kann. Des Weiteren fällt in Abbildung 3-50 und Abbildung 3-51 auf, dass der vorhergesagte Prozessverlauf nicht bei 0 während der Aufwärmphase startet. Dies ist mit Blick auf den Arbeitsbereich der Kalibrierung des Labormaßstabmodells zu erklären. Unter 3 mg existieren keine Kalibrierpunkte, somit extrapoliert das Modell für die Vorhersage zu Anfang des Überzugprozesses in Bezug auf die vorliegende Kalibrierung. Solche Vorhersagen sind demnach deutlich stärker fehlerbehaftet als der Vorhersagebereich, der durch die Kalibrierung abgedeckt ist. Zudem lässt sich der Referenzwert „0“ für die multivariate Modellerstellung nicht mit spektralen Daten definieren und wird aus diesem Grunde auch nicht in die Kalibrierung der Modelle einbezogen. Wie bei vorhergehenden Prozessverlaufdiagrammen lassen sich auch bei den Transferuntersuchungen die einzelnen Prozessschritte des Überzugverfahrens in der Abbildung wiedererkennen.

Nach den erfolgreich durchgeführten Transferversuchen bietet es sich an, die im Labormaßstab erstellten Modelle, noch einen Schritt weiter im Hinblick auf ihre Robustheit zu überprüfen. Dazu wurde die Produktionscharge, bei der die Raman Messungen mit Hilfe der ersten Prototyp-Halterung durchgeführt wurden (vgl. Abschnitt 3.3.3), herangezogen. In diesem Fall muss das Modell nicht nur robust genug sein, um sowohl mit veränderten Prozessparametern, als auch mit gerätespezifischen und baulichen Veränderungen zurecht zu kommen, sondern es muss zusätzlich die methodenbetreffende Messänderungen tolerieren.

Abbildung 3-52 stellt die Grenzen der Methodik und der Modellerstellung anschaulich dar. Zwar ist der grundsätzliche Prozessverlauf zu erkennen, jedoch liegt der durchschnittliche Vorhersagefehler, angegeben als RMSEP, bei 0,49 mg in einem Arbeitsbereich von 0,53 – 6,61 mg. Zu Prozessende wird der Wirkstoffauftrag mit einer Abweichung von 4,94 % vorhergesagt. Somit ist eine Prozesssteuerung bei diesem gegebenen Szenario nicht mehr möglich.

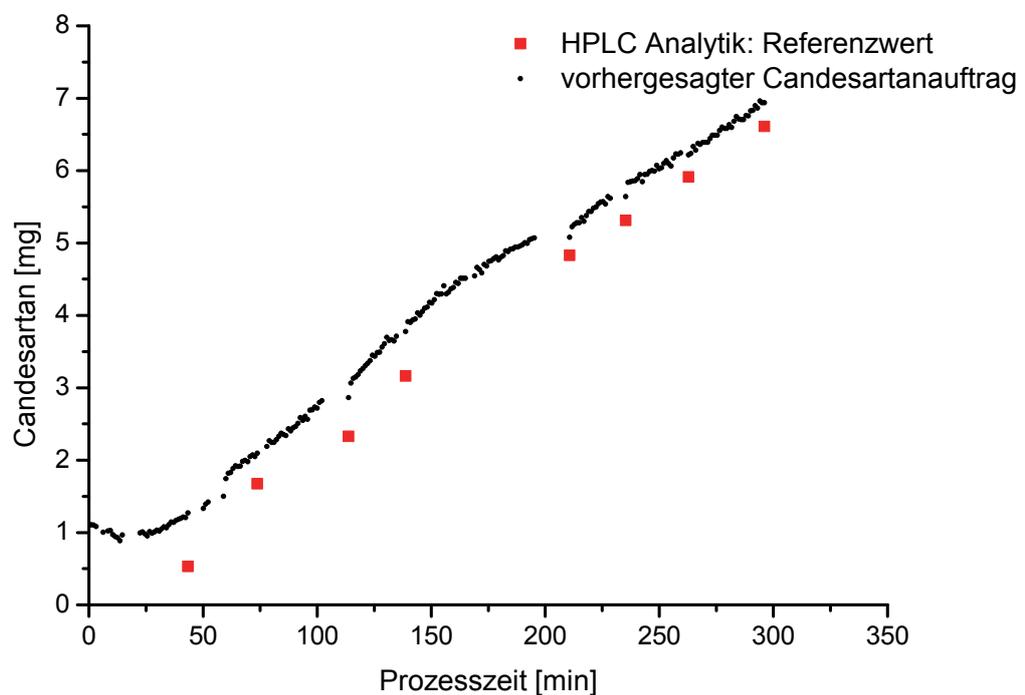


Abbildung 3-52: Scale up Charge 3: Vorhersage der aufgetragenen Candessartanmenge [mg] anhand SNV-transformierte Spektren aus in-line Messungen (Prototyp Sondenhalterung); Vergleich mit HPLC-Referenzmessungen (n = 10;  $\bar{x}$ )

### **3.3.6. Zusammenfassung**

Die vorliegenden Untersuchungen liefern wichtige Ergebnisse für die Beurteilung der Eignung der Raman Spektroskopie als PAT-Instrument im Rahmen einer Prozessapplikation im Produktionsmaßstab. Es konnte gezeigt werden, dass die Modellerstellungsstrategie auch im Produktionsmaßstab anwendbar ist, wobei durch Unterschiede in den baulichen Gegebenheiten eine neue Sondenhalterung entwickelt werden musste.

Im Rahmen von Scale up Versuchen wurden die im Labormaßstab kalibrierten Modelle auf in-line gemessene Raman Spektren im Produktionsmaßstab angewendet. Die Prozesse konnten auch auf Basis der Labormaßstabsmodelle zuverlässig verfolgt werden und der Endpunkt mit einer zufriedenstellenden Genauigkeit bestimmt werden. Abweichungen der vorhergesagten Wirkstoffaufträge von den mit Hilfe der Referenzanalytik bestimmten Aufträgen traten nur in der Frühphase der Überzugsprozesse auf und konnten auf geräte- und prozessspezifische Ursachen zurückgeführt werden.

## **3.4. Entwicklung einer SOP zur Validierung und Modellpflege**

### **3.4.1. Einleitung**

Ohne eine umfassende Validierung ist eine analytische Methode für eine Prozessapplikation wertlos. Im Fall der Raman Spektroskopie und der Modellerstellungsmethode gibt es einige Besonderheiten im Hinblick auf die Auswahl eines passenden Validierungsverfahrens, auf die im Folgenden eingegangen werden soll.

Zum einen liegt der Methodik ein chemometrisches Verfahren zu Grunde. Leitlinien wie die Guideline Q2 „Validation of Analytical Procedures“ [116], die von der International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) erarbeitet wurde, sind für konventionelle analytische Methoden entwickelt worden. Die Übertragung auf multivariate Methoden ist für NIR und Raman Spektroskopie in der Literatur beschrieben [85, 115, 117, 118] und ist für at-line bzw. off-line kalibrierte Methoden unproblematisch.

Die zweite Besonderheit liegt in der Modellerstellungsstrategie begründet: Die entwickelten multivariaten Modelle basieren auf in-line gemessenen Spektren. Dadurch ergeben sich besondere Anforderungen an die Validierungsstrategie hinsichtlich Präzision und Robustheit. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die analytische Methode anhand der European Medicines Agency (EMA) „Guideline on the use of Near Infrared Spectroscopy by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations“ [119] validiert. Diese Richtlinie, der die ICH Q2 Richtlinie zu Grunde liegt, befasst sich mit den regulatorischen Anforderungen einer Anmeldung, die neben chemometrischen Verfahren eine spektroskopische Methode für qualitative oder quantitative Bestimmungen beinhaltet.

Ziel der Untersuchungen war es, die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Methode anhand der EMA Richtlinie zu validieren und eine Strategie für die Modellpflege sowie die Endpunktbestimmung zu entwickeln.

### 3.4.2. Validierung der Methode nach EMA

#### 3.4.2.1. Richtigkeit, Spezifität und Linearität

##### *Richtigkeit*

Die Richtigkeit einer analytischen Methode ist definiert als „das Maß der Übereinstimmung zwischen dem ermittelten Wert und einem als richtig angesehenen Wert“ [120]. Um die Richtigkeit der Analysemethode zu bestimmen, bezieht man sich u.a. auf die Kennzahlen der multivariaten Datenanalyse, RMSEC, RMSEP und BIAS (vgl. Abschnitt 6.3.1.3.1). Für das Kalibrierungsdatenset (GITS 30 mg, n=21) wurde ein RMSEC von 0,70 mg im Arbeitsbereich von 3,41 mg bis 31,11 mg errechnet (vgl. Abschnitt 6.3.1.3.1). Als weitere Kenngröße zur Charakterisierung der Richtigkeit einer Analysemethode wird der BIAS verwendet. Der BIAS stellt den gesamten systematischen Fehler (als Gegenstück zum zufälligen Fehler) dar. Es können eine oder auch mehrere systematische Fehlerkomponenten zum BIAS beitragen. Eine größere systematische Abweichung vom anerkannten Referenzwert wird durch einen größeren BIAS-Wert widergespiegelt. Eine häufig benutzte Darstellung des Erwartungswertes eines Testergebnisses ist der Mittelwert. In diesem Fall stellt der BIAS die Abweichung zwischen dem Mittelwert einer Anzahl von Ergebnissen und dem anerkannten Referenzwert dar. Für die Kalibrierung eines multivariaten Modelles zur quantitativen Wirkstoffbestimmung sollte der BIAS nahe null sein. Dies war für das vorliegende Kalibrierungsdatenset der Fall: Es wurde ein Wert von  $-1 \cdot 10^{-5}$  mg errechnet.

In Tabelle 3-12 (S. 78) sind die Standardfehler der Vorhersage für die Validierungschargen (RMSEP) angegeben. Sie liegen bei 0,19 mg und 0,32 mg für Charge 1 bzw. Charge 2. Der BIAS ist gegenüber der Kalibrierung erhöht: 0,07 mg bzw. 0,13 mg. Da an unterschiedlichen Tagen gemessen wurde und zwischen einzelnen Messungen zum Teil Monate lagen, sind die Werte noch in einem angemessenen Rahmen und sprechen nicht gegen die Validität des multivariaten Modells. Spektrale Unterschiede in den eingesetzten Rohstoffen, Abweichungen in den Prozessparametern und veränderte Messbedingungen hinsichtlich einer Stabilität der Laserleistung sind mögliche Ursachen für den erhöhten systematischen Fehler.

Betrachtet man die Ergebnisse des gepaarten t-Tests, der für die Referenz- und Vorhersagewerte der Chargen 1 und 2 GITS 30 mg durchgeführt wurde, so zeigt sich, dass

sich die Modellvorhersagen von den HPLC-Referenzdaten nicht signifikant unterscheiden (vgl. Gl. 3-7 und Gl. 3-8).

$$t(0,95; 7) = 2,365, |t| = 0,619, |t| \leq t(0,95; 7) \quad \text{Gl. 3-7}$$

$$t(0,95; 9) = 2,262, |t| = 1,750, |t| \leq t(0,95; 9) \quad \text{Gl. 3-8}$$

Somit wurde die Methode hinsichtlich ihrer Richtigkeit erfolgreich validiert.

### Spezifität

Eine analytische Methode gilt als spezifisch, wenn sie in der Lage ist, den Analyt eindeutig in der Anwesenheit verschiedener Stoffe zu bestimmen. Um den korrekten Endpunkt des vorliegenden Überzugprozesses zu detektieren, muss die Methode den Wirkstoff Candesartancilexetil innerhalb der Matrix aus Tablettenkern und den weiteren Bestandteilen der Sprühflüssigkeit quantifizieren können. Abbildung 3-53 stellt den spektralen Verlauf des Überzugprozesses im Wellenzahlbereich von  $1540 \text{ cm}^{-1}$  bis  $1760 \text{ cm}^{-1}$  dar. Die Sensitivität der SNV-transformierten Raman Spektren gegenüber Veränderungen hinsichtlich des Fortschreitens des Überzugprozesses wird ersichtlich. Die Raman-Banden bei  $1749,9 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1713,3 \text{ cm}^{-1}$ , und  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  können dem Wirkstoff Candesartancilexetil zugeordnet werden und ihre Intensität wächst als eine Funktion der Prozesszeit an. Die Banden bei  $1749,9 \text{ cm}^{-1}$  und  $1713,3 \text{ cm}^{-1}$  lassen sich auf die Valenzschwingungen der Carbonylfunktionen zurückführen und die Bande bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  auf eine C=C Valenzschwingung.

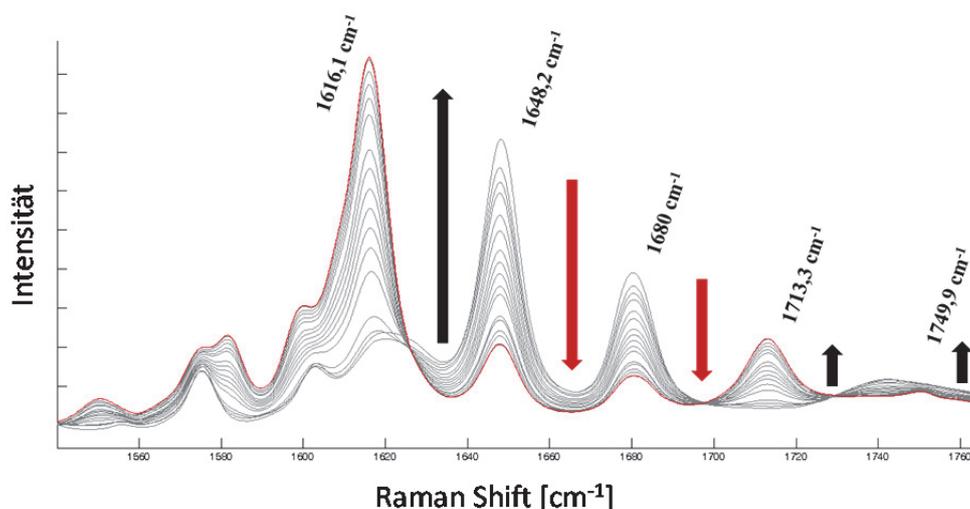
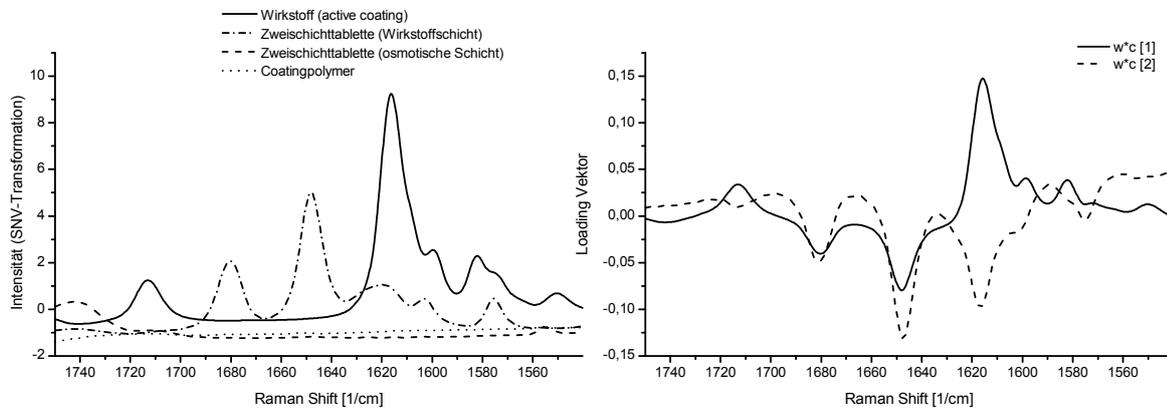


Abbildung 3-53: Prozessverlauf an in-line gemessenen Raman Spektren (Messzeit: 1 min)

In Abbildung 3-53 ist das Raman-Spektrum, das zum Ende des Prozesses aufgenommen wurde, in rot dargestellt und zeigt für die Raman-Banden des Wirkstoffs die höchste Intensität. Dementsprechend nimmt die Intensität der anderen Banden, die sich nicht auf Bestandteile der Sprühflüssigkeit zurückführen lassen, im Laufe des Überzugprozesses zunehmend ab.

Für die PAT-Methode Raman Spektroskopie zur Endpunkterkennung wurden die Spektren der mit Wirkstoff überzogenen Tabletten in Abhängigkeit von der aufgetragenen Candesartancilexetilmenge für die multivariate Modellerstellung verwendet. Das optimale PLS-Modell wurde unter Verwendung von zwei Hauptkomponenten erstellt, wobei die erste Hauptkomponente 98 % der Varianz der X-Daten erklärt.

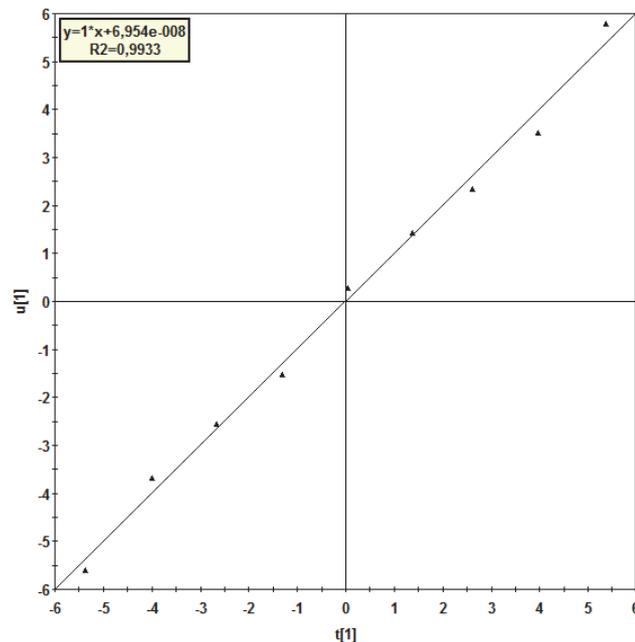


**Abbildung 3-54: Vergleich der SNV-transformierten Raman Spektren der Rohmaterialien (links) mit den p-Loadings der ersten und zweiten Hauptkomponente (rechts)**

Ein Vergleich der Raman Spektren der Rohstoffe mit denen der p-Loadings (vgl. Abbildung 3-54) zeigt eine große Ähnlichkeit. P-Loadings sind die Elemente der Hauptkomponentenmatrix, die nach erfolgter Datenreduktion die Information der Variablen, der X-Matrix, zusammenfassen. Bei spektroskopischen Methoden geben sie die Teilstrukturen der Spektren wieder, die am meisten zur Erklärung der Varianz beitragen. Somit geben die p-Loadings der ersten Hauptkomponente wieder, dass der größte Teil der Varianz durch einen Zuwachs an Information von Seiten des Wirkstoffs und eine Abnahme an Information vom Tablettenkern erklärt werden kann.

Des Weiteren lässt sich die Spezifität der Methode zeigen, indem man die Scores der X- (t-Scores) und Y-Matrix (u-Scores) gegeneinander aufträgt. Abbildung 3-55 zeigt den linearen Zusammenhang zwischen t- und u-Scores bezüglich der ersten Hauptkomponente. Man erkennt, dass im Verlauf des Überzugverfahrens die Änderungen der spektralen

Daten (X-Matrix) in direktem Zusammenhang mit der ansteigenden Wirkstoffmenge (Y-Matrix) stehen. Das ist ein weiterer Hinweis darauf, dass die Veränderungen in den spektralen Daten durch den Wirkstoffauftrag hervorgerufen werden und diese Varianz im multivariaten Modell erfasst wird.

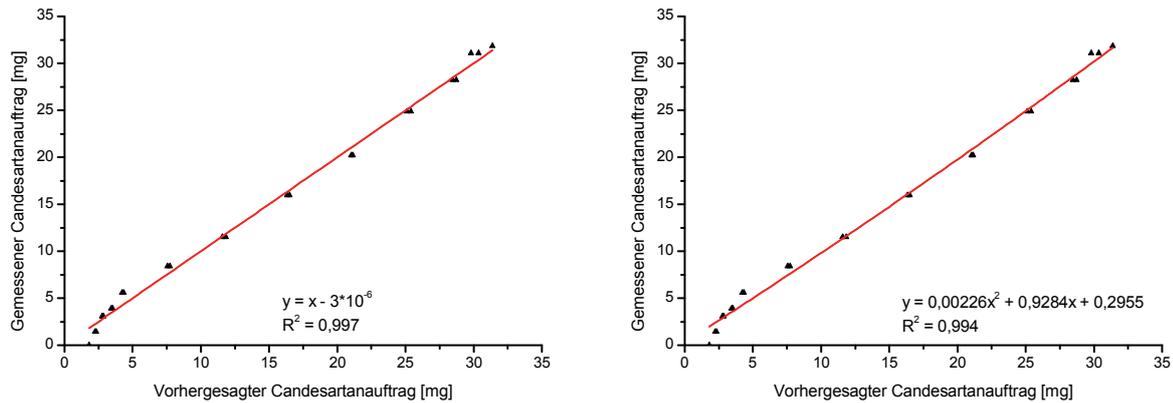


R2X[1] = 0,991814

Abbildung 3-55: t[1] / u[1]-Scoreplot

### *Linearität*

Liefert eine Methode innerhalb eines gegebenen Konzentrationsbereichs Ergebnisse, die der Konzentration des Analyten direkt proportional sind, so gilt die Linearität als bewiesen [120]. Die Linearität der vorliegenden Methode wurde ebenfalls in-line bestimmt. Somit wurde die Analytmenge nicht separat, sondern innerhalb der Matrix aus dem Polymer der Sprühflüssigkeit, Wasser sowie dem Tablettenkern und im Zusammenhang mit den entsprechenden Prozessparametern während des Überzugsprozesses bestimmt.



**Abbildung 3-56: Test nach Mandel zur Prüfung der Linearität (links: Polynom 1. Grades, rechts: Polynom 2. Grades)**

Beim Test nach Mandel zur Prüfung auf Linearität wird, vereinfacht ausgedrückt, eine lineare und eine quadratische Funktion an die Kalibrierdaten angepasst und für beide Varianten jeweils die Summe der Abweichquadrate berechnet (DIN Norm 38402 Teil 51 [121]). In einem zweiten Schritt führt man einen F-Test durch, indem die Differenzen dieser Summen durch die Restvarianz aus der quadratischen Anpassung geteilt werden und anschließend der erhaltene Wert mit dem Tabellenwert der F-Verteilung verglichen wird. Ist er kleiner als der Tabellenwert, liegt eine Linearität vor. Ergibt dieser Test keinen signifikanten Unterschied zwischen den Reststreuungen beider Funktionen (mittlere Abweichquadrate zwischen Messpunkten und Ausgleichfunktion), kann die lineare Regression verwendet werden.

Der F-Test nach Mandel zeigt bei der vorliegenden Kalibrierung, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den Reststandardabweichungen vorliegt (vgl. Abbildung 3-56):  $s_{y1}$ : 0,83 (linear),  $s_{y2}$ : 0,89 (quadratisch). Der nach der Mandel Methode berechnete Prüfwert (PW) liegt bei 1,90 (vgl. Gl. 3-10).

$$F = F(f1; f2; \alpha) = F(f1 = 1; f2 = n - 3 = 21; \alpha = 1\% = 8,02)). \quad \text{Gl. 3-9}$$

$$F = 8,02 > 1,90 \quad \text{Gl. 3-10}$$

Somit bestätigen die Ergebnisse der visuellen Kontrolle, der linearen Regression und des F-Tests nach Mandel, dass die Kalibrierfunktion der Raman Methode in dem untersuchten Arbeitsbereich als linear angesehen werden können.

### 3.4.3. Spezielle Validierungskriterien für die in-line / in-line Modellerstellung

#### 3.4.3.1. Präzision

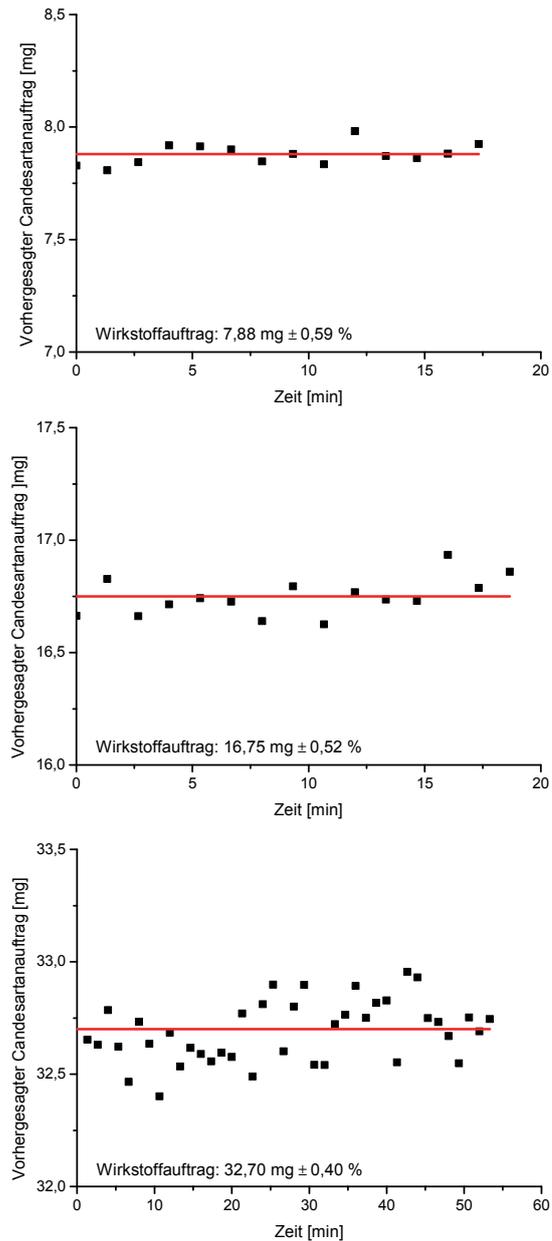
Präzision ist definiert als die Übereinstimmung voneinander unabhängiger Analyseergebnisse, die unter vorgegebenen Bedingungen mehrfach ermittelt wurden (DIN 55350-13 [122], ICH Richtlinie [116]). Zur Abschätzung der Streuung der erhaltenen Analyseergebnisse wird der Variationskoeffizient (VK [%]) angegeben.

Dabei kann die Präzision auf zwei unterschiedlichen Ebenen betrachtet werden: Man unterscheidet zwischen Wiederhol- und der Vergleichspräzision. Die Wiederholpräzision ist das Ausmaß der Übereinstimmung zwischen Ergebnissen unabhängiger Messungen desselben Analyten unter gleichbleibenden Bedingungen. So soll dasselbe Messverfahren und Instrument verwendet werden, derselbe Bediener und Ort beibehalten werden und die Wiederholung der Messungen zeitnah geschehen. Diese Definition lässt sich für off-line bzw. at-line Messungen anwenden [115], muss jedoch für in-line Messungen adaptiert werden.

Für eine in-line implementierte analytische Methode, die im Prozess sich stetig verändernden Bedingungen ausgesetzt ist, bedarf es einer Neu-Interpretation des Begriffs Wiederholpräzision. Die Bestimmung der Wiederholpräzision mittels während des Prozesses gezogener Proben, die dann wiederum off-line bzw. at-line vermessen werden, liefert keine auf die in-line Analytik übertragbaren Ergebnisse. Die so gewonnenen Ergebnisse spiegeln nicht die Realität der in-line Messung in einem sich verändernden System wider, sondern beruhen auf statischen Messungen, die in der off-line bzw. at-line Messmethode selbst begründet liegen.

Tabelle 3-13: Bestimmung der Wiederholbarkeit

	vorhergesagte Wirkstoffmenge [mg]	VK [%]	95 % KI [mg]	HPLC Referenzwert [mg]
<b>Coatinglevel 1</b>	7,88	0,59	±0,02	8,02
<b>Coatinglevel 2</b>	16,75	0,52	±0,05	16,60
<b>Coatinglevel 3</b>	32,70	0,40	±0,04	32,38



**Abbildung 3-57: In-line Bestimmung der Wiederholbarkeit an drei unterschiedlichen Coatingleveln**

Zur Bestimmung der Wiederholpräzision der vorliegenden in-line kalibrierten analytischen Methode wurde der Überzugsprozess auf drei unterschiedlichen Coatingleveln unterbrochen, um die Präzision auch im Hinblick auf die Höhe des Wirkstoffauftrages zu untersuchen. Die Sprühdauer wurde auf null gesetzt, jedoch wurde darauf geachtet, dass die weiteren ergebnisbestimmenden Prozessparameter, wie Ablufttemperatur, Trommeldrehzahl aber auch Zuluftmenge innerhalb tolerierbarer Grenzen konstant gehalten wurden. Die in-line Raman Messungen wurden weiter fortgeführt, um die Konstanz des aus dem Raman Signal ermittelten Wirkstoffauftrages zu bestimmen. Die Messdauer betrug zwischen 15 und 55 min.

Abbildung 3-57 und Tabelle 3-13 zeigen die Ergebnisse der Untersuchungen zur Wiederholpräzision, die an die speziellen Erfordernisse einer in-line implementierten analytischen Methode angepasst wurden. Für das niedrigste Coatinglevel wurde mit einem durchschnittlich vorhergesagten Wirkstoffauftrag von 7,88 mg der höchste Variationskoeffizient von 0,59 % gemessen und bei einem durchschnittlichen Wirkstoffauftrag von 32,70 mg der niedrigste Variationskoeffizient mit 0,40 %. Die stärkeren Schwankungen des Messsignals bei niedrigeren Masseaufträgen lassen sich mit der Empfindlichkeit der Messmethode in niedrigeren Konzentrationsbereichen und dem statistischen Fehler erklären, der in einer Quadratwurzelbeziehung zur Gesamtintensität des Messsignals bei gegebenem Masseauftrag steht. Je größer die Gesamtintensität des Raman Signals, desto höher ist der absolute statistische Fehler, aber desto kleiner ist der relative Fehler. Somit ergibt sich ein Fehler von  $n^{1/2}$  bei einer Gesamtintensität  $n$ . Bei der dargestellten Neu-Interpretation der Wiederholpräzision wurde vorausgesetzt, dass bei einer Messdauer von 1 min eine repräsentative Tablettenanzahl aus der Grundgesamtheit ramanspektroskopisch vermessen wurde. Da über diesen Zeitraum die Signalintensitäten gemittelt werden, lässt sich diese in-line Variante zur Bestimmung der Wiederholpräzision für die Validierung der analytischen Methode verwenden. Die adaptierte Wiederholpräzision liegt deutlich unter 1 %.

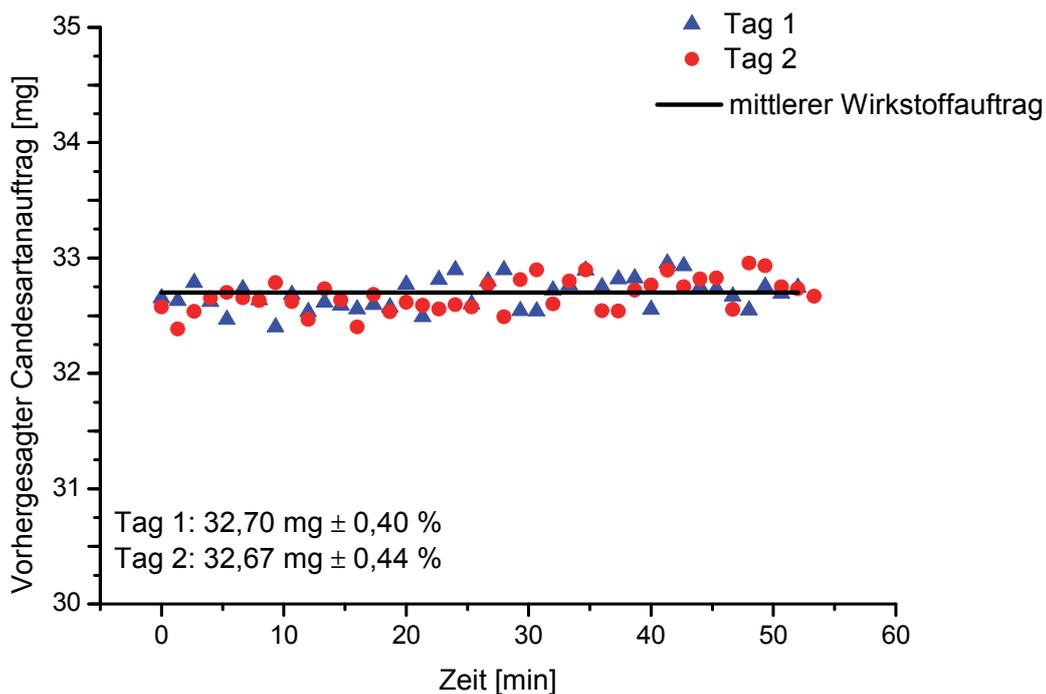
Vergleicht man die Ergebnisse mit den regulatorischen Anforderungen, die an die Signalstabilität von Seiten des Spektrometers gestellt werden, so wird deutlich, dass die im Rahmen dieser Arbeit bestimmte Wiederholpräzision etwa zwanzigmal kleiner ist als die in den Anforderungen erlaubte Abweichung von max. 10 % der integrierten Flächen der normierten Banden in Bezug auf die Überprüfung der Intensitätsskala des Detektors im Rahmen der Gerätequalifizierung nach USP (USP 35 Monographie Raman Spectroscopy <1120> [123]). Zusätzlich muss beachtet werden, dass die adaptierte Präzisionsbestimmung in-line durchgeführt wurde und der Prozess trotz möglichst konstanter Bedingungen Schwankungen unterlag. So veränderte sich der Filmüberzug während der Ramanmessungen allein durch Trocknungsvorgänge aufgrund der abgeschalteten Sprühdüsen. Durch diese erschwerten Messbedingungen wird die Güte der Wiederholpräzision zusätzlich unterstrichen.

Neben der Wiederholpräzision lässt sich auch eine Vergleichspräzision für analytische Methoden angeben. Die Vergleichspräzision bezeichnet das Maß der Übereinstimmung zwischen Ergebnissen von Messungen des gleichen Analyten. Die Messungen werden

unter wechselnden Bedingungen durchgeführt, aber immer unter Anwendung desselben Verfahrens. Dies stellt sich deutlich schwieriger für eine in-line kalibrierte analytische Methode dar. Folgende Möglichkeiten ergeben sich für die Adaption an die speziellen Erfordernisse dieser Methode:

- paralleler Einsatz eines Zweitgerätes
- Bestimmung der Präzision an verschiedenen Tagen
- Bestimmung der Präzision durch verschiedene Analytiker

In den weiteren Versuchen wurden die letzten beiden Möglichkeiten zur Bestimmung der Vergleichspräzision ausgewählt. Für den späteren Einsatz im industriellen Umfeld bietet sich aber insbesondere die erste Variante an, da nur so unter identischen Bedingungen der Einfluss unterschiedlicher Geräte auf die Methodenpräzision untersucht werden kann.



**Abbildung 3-58: In-line Bestimmung der Vergleichspräzision**

Zur Bestimmung der Vergleichspräzision wurden am Ende eines Überzugprozesses die Raman Messungen bei konstanter Trommeldrehzahl, Ablufttemperatur und Zuluftmenge fortgesetzt. Nach 52 min wurden die Messungen beendet (vgl. Abbildung 3-58). Dieselben Tabletten wurden am Folgetag erneut in-line mittels Raman Spektroskopie vermessen. Für die Messungen wurden die identischen Prozessparameter verwendet. Die vorhergesagten

Wirkstoffmengen und das dazugehörige 95 % Konfidenzintervall unterscheiden sich nicht signifikant, obwohl die Messungen von zwei Analysten durchgeführt wurden (vgl. Tabelle 3-14). Dieser Faktor hat jedoch bei in-line Messungen mit einer im Prozess fest montierten Sonde nahezu keinen Einfluss auf die Messungen; anders als bei off- bzw. at-line Messungen.

**Tabelle 3-14: Bestimmung der Vergleichspräzision**

	<b>vorhergesagte Wirkstoffmenge [mg]</b>	<b>VK [%]</b>	<b>95 % KI [mg]</b>	<b>HPLC Referenzwert [mg]</b>
<b>Tag 1</b>	32,70	0,40	±0,04	32,38
<b>Tag 2</b>	32,67	0,44	±0,04	32,38

Als Ergebnis ist festzuhalten, dass durch die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Methode auch die Anforderungen an die Vergleichspräzision erfüllt werden.

### 3.4.3.2. Robustheit

Für eine erfolgreiche Prozessapplikation einer analytischen Methode ist neben Richtigkeit und Präzision die Robustheit der Vorhersagekraft bezüglich Änderungen der Umgebungs- bzw. Messparameter von entscheidender Bedeutung. In der vorliegenden Arbeit wurden folgende zu untersuchende Aspekte bezüglich der Bestimmung der Robustheit ausgewählt:

- Einfluss der Temperatur auf die Methode
- Einfluss der Luftfeuchtigkeit auf die Methode
- Übertragbarkeit von multivariaten Modellen zwischen verschiedenen Produktionsmaßstäben (vgl. Abschnitt 3.3.5)

In Abschnitt 3.3.5 wurden die Ergebnisse zur Übertragbarkeit der analytischen Methode und darauf aufbauend der multivariaten Modelle zwischen Labor- und Produktionsmaßstab ausführlich besprochen. Es konnte gezeigt werden, dass die entwickelte Methode so robust ist, dass sie ohne Veränderungen zwischen verschiedenen Herstellungsmaßstäben transferiert werden kann. Somit erfüllt die Methode einen anspruchsvollen Aspekt in Bezug auf die Untersuchung der Robustheit. Im Folgenden liegt der Fokus der Untersuchungen auf den Prozessparametern Ablufttemperatur und Luftfeuchtigkeit.

Während des Herstellungsprozesses durchlaufen die Tablettenkerne im Trommelcoater unterschiedliche Bedingungen. Bezüglich des Parameters Temperatur werden die Tablettenkerne Temperaturen zwischen 30 °C und 50 °C ausgesetzt. Dies hängt maßgeblich mit dem Überzugsprozess, den Eigenschaften der Tablettenkerne und den Charakteristika der für den Überzugsprozess eingesetzten Filmpolymere zusammen. Es wird geprüft, ob der Parameter Temperatur einen entscheidenden Einfluss in qualitativer bzw. quantitativer Hinsicht auf das Raman Signal hat und sich so auf die Vorhersagekraft der entwickelten multivariaten Modelle auswirkt.

Um den Einfluss der Temperatur auf die Robustheit der analytischen Methode zu bestimmen, wurden Raman Spektren in-line bei unterschiedlichen Prozesstemperaturen gemessen. Im Labormaßstab wurden in verschiedenen Versuchsreihen Zweischichttablettenkerne, befilmte Zweischichttablettenkerne und uniforme Tablettenkerne stufenweise von 36,5 °C bis auf 49,1 °C in sieben Etappen aufgeheizt.

Jedes Temperaturniveau wurde für 10 min konstant gehalten um danach den Aufheizvorgang bis zum nächsten Niveau fortzuführen. Nachdem das letzte Temperaturniveau erreicht wurde, startete der Abkühlvorgang.

Abbildung 3-59 stellt exemplarisch die Ergebnisse für das Probensystem der befilmten Zweischichttablettenkerne dar. Die für das entsprechende Temperaturniveau durchschnittliche Raman Intensität bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  ist als Funktion der Temperatur aufgetragen. Gezeigt sind die Raman Intensität der Rohspektren im Vergleich zur Raman Intensität der SNV-vorbehandelten Spektren.

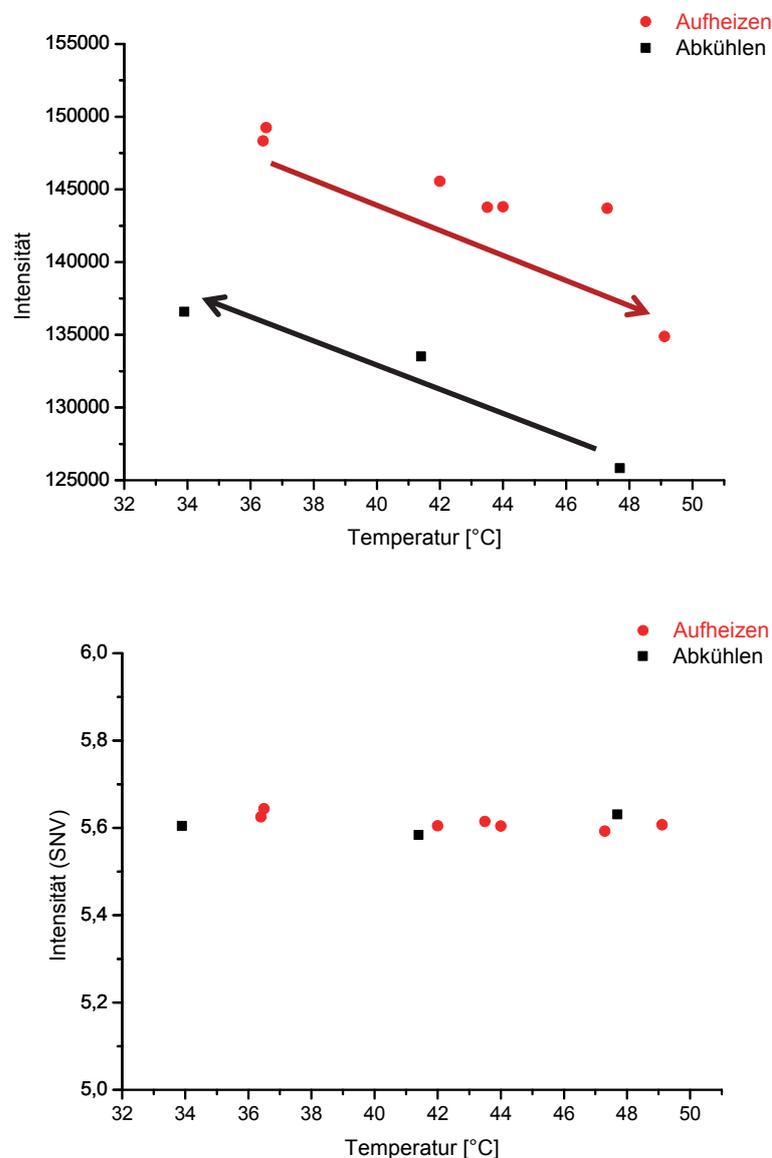


Abbildung 3-59: Intensität des Raman Signals ( $1616,1 \text{ cm}^{-1}$ ) als Funktion der Temperatur (oben: Rohdaten, unten: SNV-transformierte Spektren;  $n = 10$ ;  $\bar{x}$ )

Betrachtet man die gegebene Raman Intensität der Rohspektren für das entsprechende Temperaturniveau, so zeigt sich mit steigender Prozesstemperatur ein Abfall der Raman Intensität. Dieser Effekt gilt sowohl für die Aufheizphase als auch für die Abkühlphase. Die auftretende Verschiebung entlang der y-Achse lässt sich partiell mit Hilfe des Messaufbaus zur Prozesstemperaturbestimmung erklären. Die angegebene Temperatur repräsentiert die Lufttemperatur im Trommelcoater und stimmt nicht mit der realen Produkttemperatur überein. Letztere passt sich mit zeitlicher Verzögerung an die eingestellte Lufttemperatur an. Dadurch ist während des Abkühlvorgangs die reale Produkttemperatur deutlich höher als die in der Abbildung angegebene.

Spektren, die mit SNV vorbehandelt wurden, zeigen den oben beschriebenen Abfall der Intensität bei höheren Prozesstemperaturen nicht. Dies deutet daraufhin, dass Veränderungen des Prozessparameters Temperatur sich auf jede einzelne Wellenzahl des Raman Spektrums auswirken. Nur so lässt sich der systematische Fehler durch eine SNV-Transformation bereinigen (vgl. Gl. 3-3, S. 26). Folgende Hypothesen wurde für den Einfluss der Temperatur auf die Raman Intensität aufgestellt:

- Erhöhung des Anteils der Moleküle, die sich im angeregten Schwingungszustand befinden
- Veränderungen der optischen Eigenschaften des Filmüberzuges

Filmüberzüge verändern ihre optischen Eigenschaften u.a. in Abhängigkeit von der Temperatur. Somit kann die Verringerung der gemessenen Raman Intensität mit Erhöhung der Temperatur durch eine Veränderung des Brechungsindex ausgelöst werden. Die in Abbildung 3-59 dargestellte Abhängigkeit der Raman Intensität von der Temperatur wurde jedoch zusätzlich auch an uniformen Tabletten ohne Filmüberzug beobachtet. Die Veränderung der optischen Eigenschaften des Filmüberzuges kann demnach nicht die alleinige Ursache sein.

Eine mögliche Erklärung für die Verringerung der Intensität mit Erhöhung der Temperatur ist durch die erhöhte Besetzungswahrscheinlichkeit von angeregten Rotations- bzw. Vibrationszuständen der Moleküle gegeben. Durch die Vergrößerung der Anzahl möglicher Anregungen könnte zu einer Absenkung des Wirkungsquerschnittes für den Raman Prozess führen. Dies wiederum äußert sich in einer geringeren Intensität im Spektrum.

Abschließend lässt sich bezogen auf die Prozessrelevanz feststellen, dass Veränderungen in der Prozesstemperatur keinen Einfluss auf die beschriebene Modellerstellungsstrategie haben, da das entwickelte multivariate Modell auf SNV-transformierten Spektren basiert.

Als zweiter wichtigerer Parameter für einen Überzugsprozess wurde der Einfluss der Luftfeuchtigkeit auf die entwickelte analytische Methode näher untersucht. Die befilmten Zweischichttabletten wurden in Hygrostatenkammern bei 20 °C unter konstanten relativen Feuchten 14 Tage gelagert. Zur Einstellung der jeweiligen relativen Luftfeuchte wurde auf gesättigte Salzlösungen zurückgegriffen [124]: Kaliumacetat 20 % r.F., NaBr 60 % r.F. und KBr 80 % r.F..

Um eventuelle Unterschiede der Raman Spektren vor und nach der Lagerung numerisch bestimmen zu können, wurde zunächst die „Wavelength Correlation“ Methode als ein chemometrischer Algorithmus herangezogen [125]. Dazu wird die Korrelation zweier Spektren, S und R, für die einzelnen Wellenzahlen,  $i$ , als Punktprodukt,  $r_D$ , oder Produktmoment,  $r_P$ , angegeben:

$$r_D = \frac{\sum S_i R_i}{\sqrt{\sum S_i^2 \sum R_i^2}} \quad \text{Gl. 3-11}$$

$$r_P = \frac{\sum (S_i - \bar{S})(R_i - \bar{R})}{\sqrt{\sum (S_i - \bar{S})^2 \sum (R_i - \bar{R})^2}} \quad \text{Gl. 3-12}$$

Alle 15 Tabletten zeigten Korrelationskoeffizienten größer als 0,99, was über dem allgemein anerkannten Schwellenwert von 0,95 liegt [126]. Dies bedeutet, dass die Spektren vor und nach der Lagerung nahezu identisch sind. Somit ist die „Wavelength Correlation“ Methode nicht das geeignete Verfahren, um lagerungsbedingte Varianzen in den Spektren zu detektieren.

Als zweite Methode wurde die Principle Component Analysis (PCA) angewandt, um den Einfluss der Luftfeuchte auf das Messsignal der analytischen Methode zu bewerten. Abbildung 3-60 stellt den Score Plot und den dazugehörigen Loading Plot als Ergebnis der durchgeführten PCA dar. Im Score Plot sind die Tabletten (Nr. 6-10), die bei 20 % relativer Luftfeuchtigkeit gelagert wurden, schwarz dargestellt. Die Tabletten, die bei 60 % (Nr. 1-4) bzw. 80 % (Nr. 11-15) relativer Luftfeuchtigkeit gelagert wurden, sind durch blaue bzw. rote Dreiecke repräsentiert. Aufgrund von Lagerungsfehlern musste

Tablette Nr. 5 für die Auswertung ausgeschlossen werden. Die PCA unterscheidet die Spektren im Hinblick auf ihre unterschiedlichen Lagerungsbedingungen entlang der Achse der ersten Hauptkomponente (PC1), die 57 % der Varianz erklärt. Je höher die relative Luftfeuchtigkeit während der Lagerung, desto größer ist der Unterschied zwischen den Score-Werten vor und nach der Lagerung (z.B. 10\_1-10\_2). Aus dem Loading Plot wird deutlich, dass Veränderungen der optischen Eigenschaften des Filmüberzugs Grund für die Auftrennung der Spektren im Score Plot sein müssen.

Der Loading Plot stellt spektrale Segmente dar, die am meisten zur Erklärung der Varianz der X-Matrix, den Spektren, beitragen [52, 55]. Für die Loadings der ersten Hauptkomponente (schwarz) bedeutet das, dass die Raman Intensität des Tablettenkernsignals zunimmt. In den Loadings der zweiten Hauptkomponente bildet sich eine Abnahme des Kernsignals und gleichzeitig eine Zunahme des Wirkstoffsignals im Filmüberzug ab. Da der Effekt der unterschiedlichen Lagerungsbedingungen fast ausschließlich über Veränderungen in der ersten Hauptkomponente ausgedrückt wird und somit bei höheren relativen Luftfeuchten mehr Raman Signal aus dem unter dem Filmüberzug liegendem Tablettenkernmaterial detektiert werden kann, ist eine stärkere Transparenz des Filmüberzugs eine plausible Erklärung für die spektralen Veränderungen. Die PCA Auswertung zeigt jedoch weiterhin, dass der Effekt von der Stärke der Luftfeuchtigkeitsveränderung abhängig ist. Bezieht man sich auf prozessrelevante Bereiche, so werden beim vorliegenden Prozess relative Luftfeuchten unter 30 % gemessen. Unter diesen Bedingungen sind nur sehr geringe Verschiebungen im Score Plot zu erkennen sind. Eine weiterführende PLS Auswertung zeigte keine signifikanten Unterschiede ( $\alpha = 5\%$ ) in der vorhergesagten Wirkstoffmenge bei Tabletten, die bei 20 - 60 % relativer Luftfeuchtigkeit gelagert wurden (vgl. Gl. 3-13, Gl. 3-14). Dies galt nicht für Tabletten bei 80 % relativer Luftfeuchtigkeit (vgl. Gl. 3-15).

$$t(0,95; 8) = 2,306, |t| = 1,713, |t| \leq t(0,95; 8) \quad \text{Gl. 3-13}$$

$$t(0,95; 13) = 2,160, |t| = 2,536, |t| \geq t(0,95; 13) \quad \text{Gl. 3-14}$$

$$t(0,95; 4) = 2,776, |t| = 3,029, |t| \geq t(0,95; 4) \quad \text{Gl. 3-15}$$

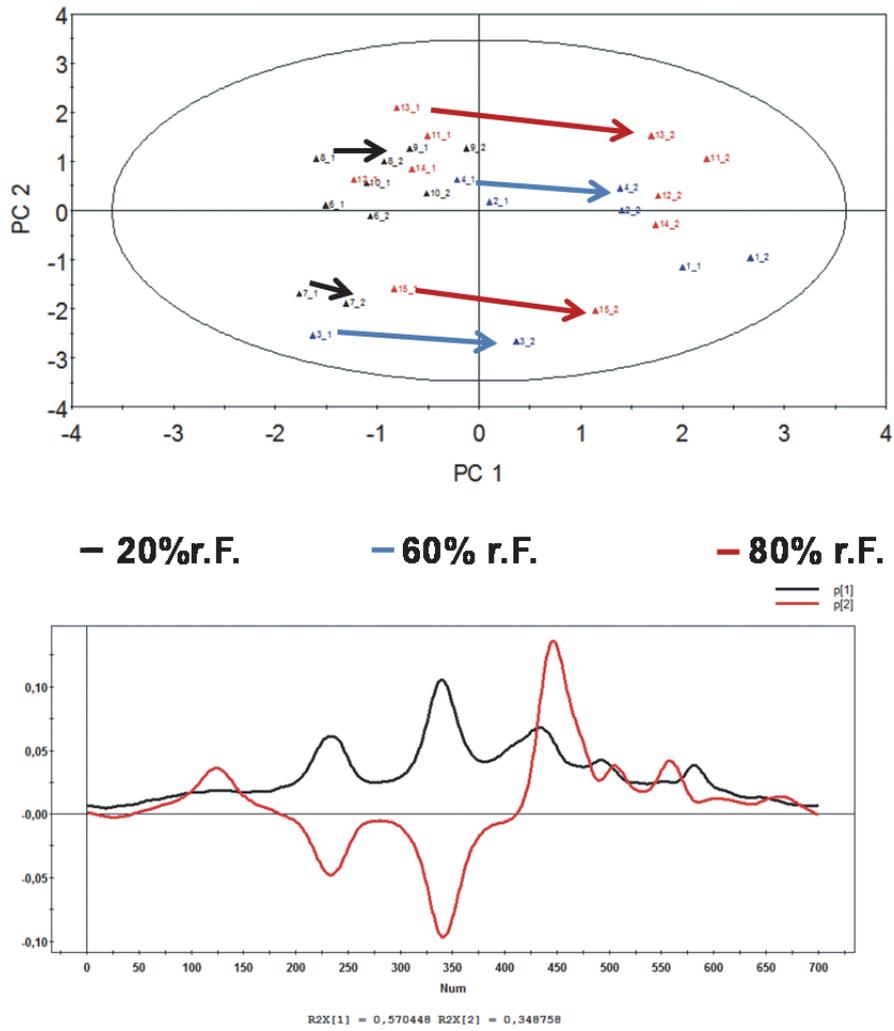


Abbildung 3-60: Evaluation der Einflussgröße Luftfeuchtigkeit auf die Intensität des Raman Signals (oben: Score Plot; schwarz: 20 % r.F., blau: 60 % r.F., rot: 80 % r.F.; unten: p-Loadings der ersten und zweiten Hauptkomponente)

### 3.4.4. Modellpflege und Rekalibrierung

Die Prozessapplikation der im Rahmen dieser Dissertation entwickelten analytischen Methode stellt höchste Anforderungen an Richtigkeit, Präzision und Robustheit der erstellten multivariaten Modelle. Sie stellt den Abschluss einer erfolgreichen Implementierung dar. Diese Arbeit beschreibt die einzelnen Schritte von ersten Machbarkeitsstudien über Laborversuche bis hin zur Überführung in den Produktionsmaßstab. Darüber hinaus wird die Validierung der Methode beschrieben. In Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass die relevante Zielgröße, die Menge an aufgetragenem Wirkstoff, aus den gemessenen Raman Spektren errechnet werden kann. Störfaktoren und Variabilität des Prozesses sowie ihr Einfluss auf die gemessenen Spektren wurden im Rahmen von Versuchen im Produktionsmaßstab, deren Grundlage ein statistischer Versuchsplan war, untersucht. Allerdings ist die Methode so noch nicht abschließend bereit für den Einsatz in der Routineproduktion. Die vorliegende Methode, die auf multivariaten Modellen basiert, muss routinemäßig gepflegt und gegebenenfalls rekalibriert werden. Dabei bedeutet Modellpflege, dass das Modell weiterentwickelt wird, indem über den Zeitraum der Anwendung das Kalibrierdatenset um neu gemessene Spektren erweitert wird. Es stellt sich somit die Frage, wie die Modellpflege praktisch durchführbar ist und wie man die Langzeitstabilität eines Modells beurteilen kann.

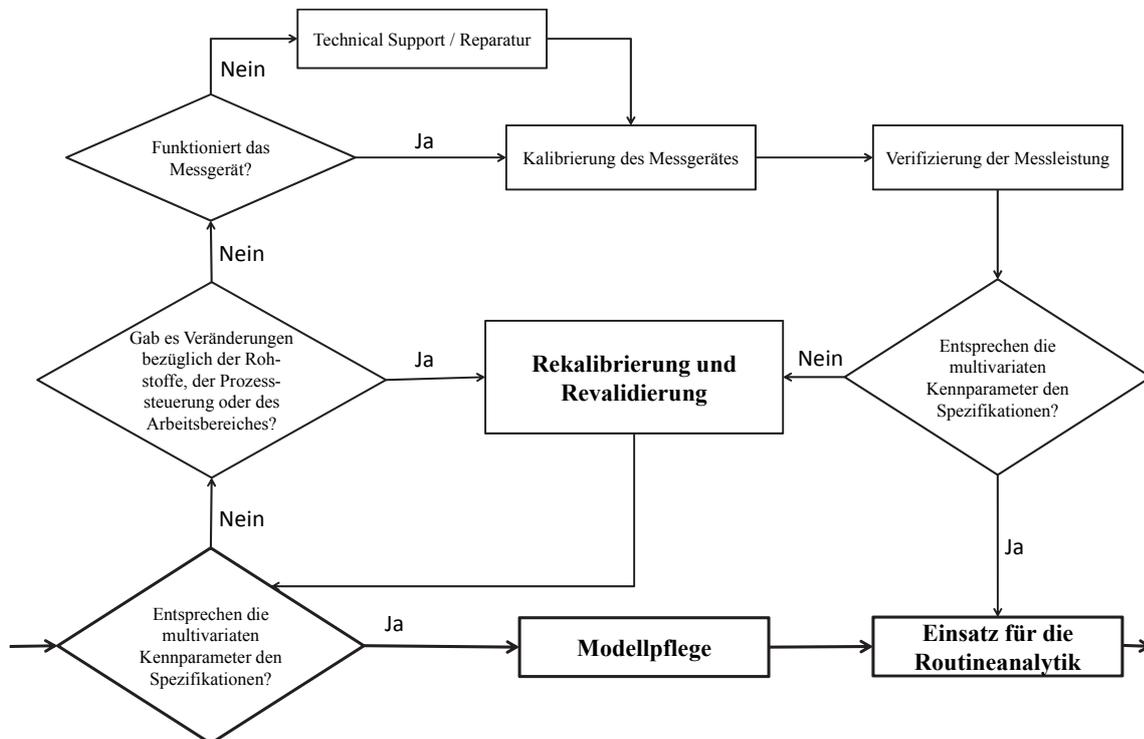


Abbildung 3-61: Modellpflege und Rekalibrierung eines multivariaten Modells (adaptiert nach [127])

Anders als bei der Berechnung eines Konfidenzintervalls im Rahmen einer univariaten Regression, in die der Freiheitsgrad eingeht, welcher jedoch bei der multivariaten Regression unbekannt ist, kann für die vorliegenden multivariaten Modelle kein Konfidenzintervall angegeben werden [53, 128-130]. In der Literatur findet man verschiedene Vorgehensweisen, sich einem Äquivalent für das Vertrauensintervall der Vorhersage basierend auf multivariaten Modellen zu nähern. Eine einfache und praktikable Form der Berechnung schlägt die American Society for Testing and Materials (ASTM) in ihren Books of Standards vor [131].

Sie definiert das Vorhersageintervall ( $\gamma Dev$ ) wie folgt:

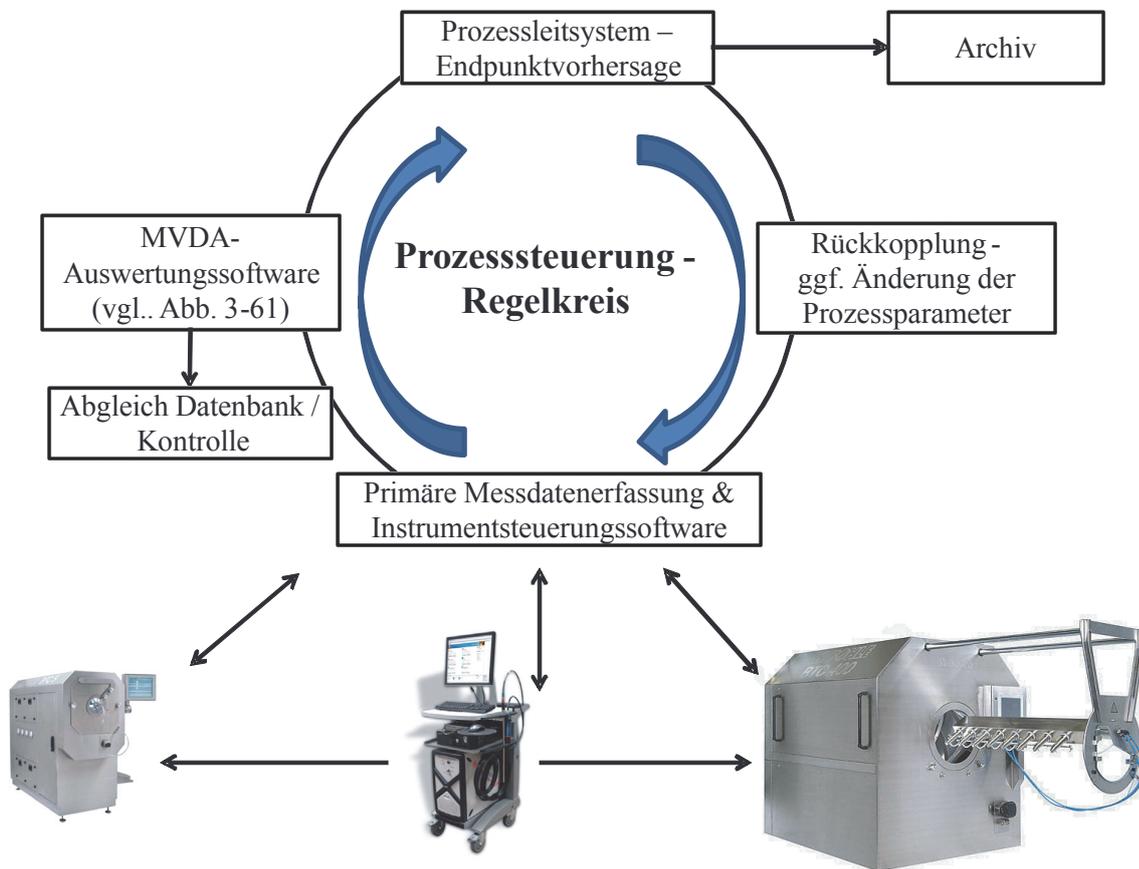
$$\gamma Dev = RMSEC * \sqrt{(1 + h)} \quad \text{Gl. 3-16}$$

wobei  $h$  den Leverage darstellt. Dieser gibt den Einfluss, den ein Objekt auf das Kalibriermodell hat, an. Je größer der Leverage, desto weiter ist die Probe vom Modellmittelpunkt entfernt und desto stärker wird das Kalibriermodell verändert. Dadurch ist die Wahrscheinlichkeit für größere Vorhersagefehler deutlich erhöht [55].

Es lässt sich mit Hilfe des Leverage somit eine multivariate Variante des Konfidenzintervalls angeben und zusätzlich ist damit eine Überwachung des X-Datenraums möglich, die in Form einer Regelkarte nützliche Informationen bezüglich der Langzeitstabilität des jeweiligen Modells geben kann. Ein weiterer multivariater Kennparameter im Sinne der Überwachung des multivariaten Modells wären die Residuen, also der Teil der Daten, der nicht durch die Hauptkomponenten des multivariaten Modells erklärt wird.

Abbildung 3-61 zeigt anhand eines weiterentwickelten Flussdiagramms (Entscheidungsbaum) nach welchen Kriterien zwischen Modellpflege und Rekalibrierung entschieden werden kann. Dabei wurde auf die Anforderungen der multivariaten Datenanalyse und der Raman Spektroskopie eingegangen. Bevor ein gemessenes Raman Spektrum zum Zeitpunkt  $x$  direkt für die Vorhersage des Candesartancilexetilaufrages zu diesem Zeitpunkt freigegeben werden kann, muss dieses Spektrum softwareunterstützt aufbereitet werden. Wie in Abbildung 3-62 dargestellt, muss dafür die zum Spektrometer gehörende Messsoftware die aufgezeichneten Raman Spektren an ein zweites Softwarepaket, das dezentral auf dem gleichen Rechner wie die Messsoftware oder auch zentral an ein Prozessleitsystem angegliedert ist, transferieren. Dieser Schritt ist insofern

entscheidend, dass hierbei die spektralen Daten mit Hilfe einer multivariaten Datenanalyse-Software verarbeitet werden und somit zunächst die multivariaten Kennparameter berechnet werden können, bevor anschließend die Vorhersage des Wirkstoffauftrags basierend auf einem multivariaten Modell (im vorliegenden Fall ein PLS Modell) getroffen werden kann.



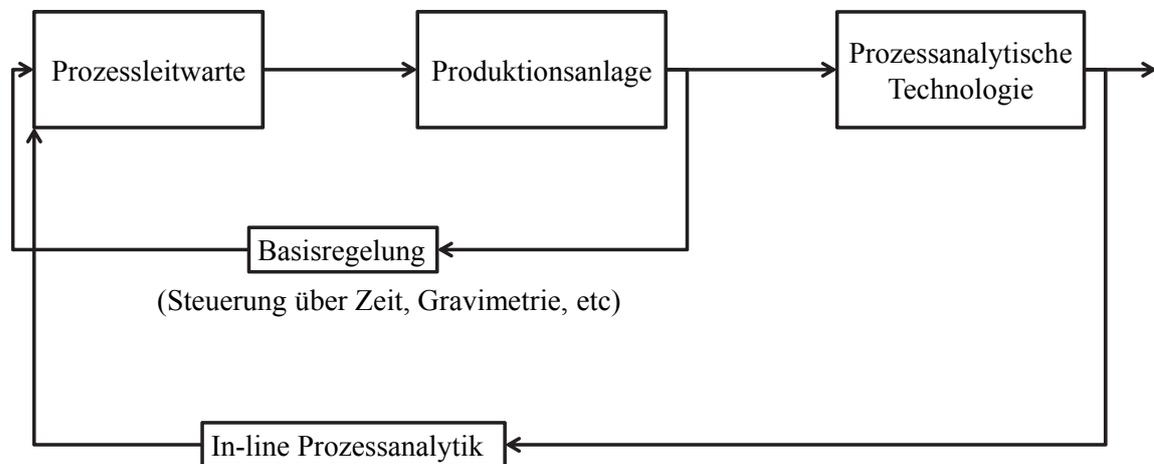
**Abbildung 3-62: Einbindung der in-line Raman Analytik in ein Prozessleitsystem**

In diesem Schritt findet zugleich eine Kontrolle statt, inwieweit das entwickelte multivariate Modell in der Lage ist, die aktuell gemessenen Raman Spektren zu verarbeiten oder ob die Spektren außerhalb des „design spaces“ des Modells liegen und das Modell somit nicht auf solche Spektren trainiert ist. An diesem Punkt würde sich bei negativer Antwort der Kontrollinstanz der in Abbildung 3-61 skizzierte Regelkreis anschließen, der über eine Modellpflege bzw. Rekalibrierung entscheidet.

Sofern das PLS Modell die Raman Spektren verarbeiten kann, werden die vorhergesagten Wirkstoffauftragsmengen an das Prozessleitsystem übertragen. Dieses ist u.a. dafür verantwortlich, dass sämtliche gewonnenen Daten bezüglich der in-line Analytik aber auch der Prozessparameter archiviert werden. Darüber hinaus errechnet dieses System

basierend auf einem entwickelten Algorithmus die effektive Sprühdichte und den theoretischen Prozessendpunkt (vgl. Abschnitt 3.4.5) und gibt diese Informationen an die Instrumentensteuerungssoftware weiter. Falls Abweichungen diesbezüglich auftreten und der Warnbereich („Lower and Upper Warning Limit“, LWL, UWL) oder die Eingriffsgrenzen („Lower and Upper Control Limit“, LCL, UCL) überschritten werden, greift die Prozessleittechnik im Sinne einer Rückkopplung in die Prozesssteuerung ein, indem gegebenenfalls Prozessparameter des Überzugsprozesses angepasst werden.

Um die Akzeptanz der Applikation zu erhöhen, sollten Rückfallstrategien bei nicht zur Verfügung stehender in-line Analytik (z.B. während der Kalibrierung) schon zu Beginn geplant und implementiert werden (vgl. Abbildung 3-63) [132].



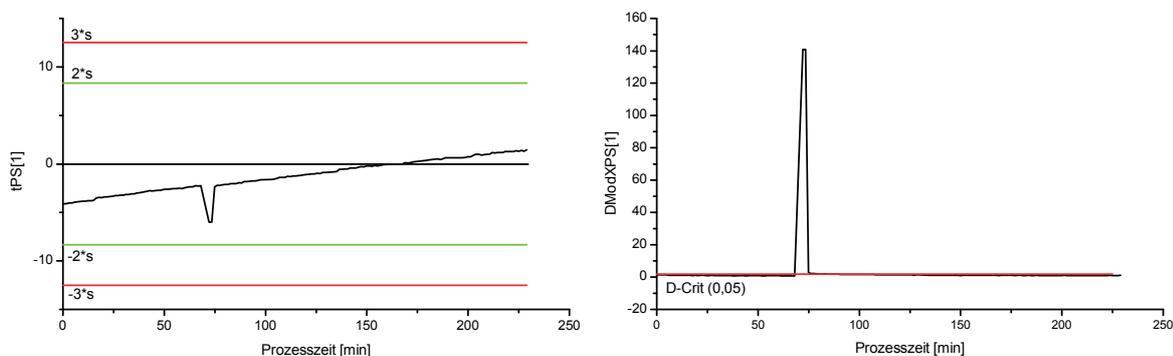
**Abbildung 3-63: Rückfallstrategie: Einbindung der in-line Prozessanalytik neben einer funktionierenden Basisregelung**

Als mögliche Rückfallstrategie bietet es sich an, auf etablierte Basisregelungen aus der Zeit vor dem Einsatz von PAT-Werkzeugen zurückzugreifen. Für einen Überzugsprozess wäre mit Einschränkungen eine Steuerung über die Zeit und die versprühte Menge an Wirkstoff möglich.

Im Folgenden soll nun die Vorgehensweise näher erläutert werden, wenn die multivariaten Kennparameter nicht den Spezifikationen entsprechen und somit Spektren gemessen werden, die außerhalb des „design spaces“ des entwickelten Modells liegen. Darüber hinaus werden mögliche Formen von Qualitätsregelkarten für eine multivariate statistische Prozesskontrolle („Multivariate Statistical Process Control“, MSPC) vorgestellt.

Moderne automatisierte Produktionsprozesse messen gewöhnlich eine große Anzahl von Variablen, die den Prozess auf jeder einzelnen Stufe und über mehrere Stufen hinweg beschreiben. Standardmäßige Techniken der Qualitätsregelkarten sind nur auf jeweils eine einzelne Variable anwendbar. Werden diese Karten auf moderne Produktionsprozesse mit Hunderten von zu überwachenden Variablen angewendet, so führen die Kriterien, die gewöhnlich auf univariate Karten angewendet werden, zu einer großen Anzahl von Fehlalarmen. In vielen Fällen kann es sogar zu einem nahezu konstanten, unbefristeten Alarmzustand kommen. Darüber hinaus ignoriert der univariate Ansatz die Korrelation zwischen den Variablen, so dass wichtige Information verloren geht.

Als eine Möglichkeit zur Lösung des beschriebenen Problems können sogenannte multivariate Shewhart-Karten [133] eingesetzt werden: Statt der Originalvariablen (z.B. einzelne Wellenzahlen) werden die Scores der multivariaten Datenanalyse aufgezeichnet. Sie stellen insoweit die ideale Messgröße dar, als dass sie eine Zusammenfassung der Prozessvariablen darstellen und einen geringeren Rauschanteil bedingt durch die vorausgehende multivariate Datenanalyse aufweisen. Dabei werden die entsprechenden PLS Scores,  $t$ , und Hotelling's  $T^2$  gegen die Prozesszeit aufgetragen. Dadurch zeigt diese Regelkarte, wie sich der Prozess in der entsprechenden PLS Dimension entwickelt. Die genaue Vorgehensweise ist in der Literatur näher erläutert [52].



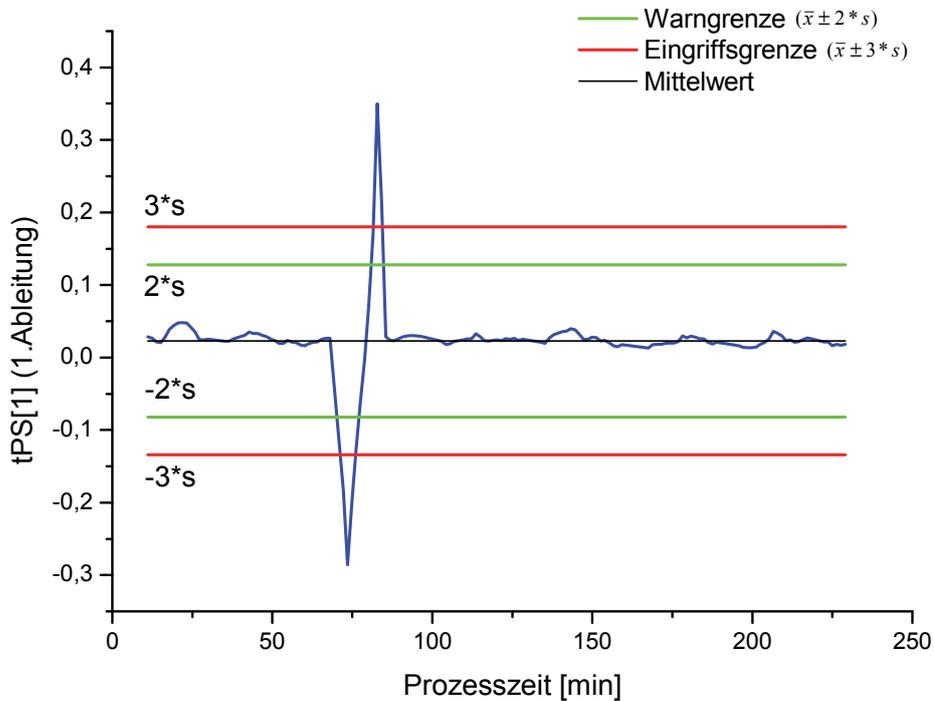
**Abbildung 3-64: Multivariate Shewhart-Regelkarte**

Abbildung 3-64 zeigt eine multivariate Shewhart-Qualitätsregelkarte für einen Überzugsprozess im Produktionsmaßstab. In der linken Abbildung ist der einem im Prozess gemessenen Spektrum jeweils zugehörige Score-Wert als Funktion der Prozesszeit aufgetragen. Als Warn- bzw. Eingriffsgrenze ist  $\bar{x} \pm 2 * s$  bzw.  $\bar{x} \pm 3 * s$  in grün bzw. rot eingezeichnet. Berechnet werden die Parameter aus dem zugrunde liegenden multivariaten Modell, d.h. aus allen für das Modell verwendeten Spektren und den daraus

errechneten Score-Werten. Zwei Charakteristika fallen dabei auf: Zum einen, dass sich ein linearer Anstieg bezüglich der Score-Werte im Verlaufe der Prozesszeit feststellen lässt und zum anderen nach ca. 75 min Prozesszeit ein kurzzeitiger Abfall in den Score-Werten. Zur Erklärung dieser Unregelmäßigkeit hilft der zweite Teil der Shewhart-Karte, auf der der sogenannte DModX aufgetragen wird, der ein Maß für die Entfernung eines Score-Wertes in Bezug auf den normalen Score-Wertebereichs des vorliegenden Kalibrierungsmodells darstellt [52]. Die beschriebene Unregelmäßigkeit zeigt sich auch im DModX-Plot der Shewhart-Karte und deutet darauf hin, dass sie durch Spektren verursacht wurde, die nicht in das „design space“ des Kalibrierungsmodells passen. Bezieht man die aufgezeichneten Prozessparameter mit ein, zeigt sich, dass die betroffenen Spektren zur Zeit einer Prozessunterbrechung aufgenommen wurden und somit die Messbedingungen zu diesem Zeitpunkt entscheidend verändert waren.

Das vorliegende Beispiel zeigt, dass die Shewhart-Qualitätsregelkarte für eine automatisierte Spektren-Überprüfung nur bedingt eingesetzt werden kann. Veränderungen der Prozessbedingungen, wie z.B. eine Unterbrechung des Prozesses, Einschalten der Trommelbeleuchtung oder Sprühunterbrechungen, wirken sich direkt auf die gewonnenen spektralen Daten aus. Solche systematisch verfälschten Spektren führen zu unrealistischen vorhergesagten Wirkstoffaufträgen, wenn sie in das multivariate Modell einfließen. Im Sinne einer erfolgreichen Integration der in-line Analytik in die Prozesssystemleittechnik müssen solche Spektren automatisiert aussortiert werden und mit „Wert ungültig“ gekennzeichnet werden [134]. Jedoch stellt sich die Frage, inwieweit diese Form der Qualitätsregelkarte für den vorliegenden Prozess zur Überwachung der qualitätsbestimmenden Attribute geeignet ist. Etabliert wurde diese Art der Regelkarte für die Überwachung von Prozessen, die Güter einer gleichbleibenden Qualität erzeugen sollen. Beispielhaft lässt sich hierbei die Gewährleistung einer konstanten Mischgüte oder eines konstanten Wirkstoffgehaltes in einer Arzneiform anführen. Die Methodik ist nicht für die Bestimmung von Prozessendpunkten oder das Monitoring eines Prozesses von Anfang bis Ende geeignet. So sind die errechneten Warn- bzw. Eingriffsgrenzen gerade dadurch sehr weit gefasst, da in die Berechnung der Standardabweichung Score-Werte von Prozessanfang bis Ende miteinfließen. Somit ergibt sich eine relativ hohe Streuung, die eine Überwachung der Qualität des entsprechenden Prozesses erschwert. Dadurch fällt auch der Anstieg der Score-Werte im Verlaufe der Prozesszeit als ungewohnt auf. Prozesse, die um ihren Mittelwert mehr oder weniger stark schwanken, profitieren deutlich stärker von dieser Form der Qualitätsregelkarte.

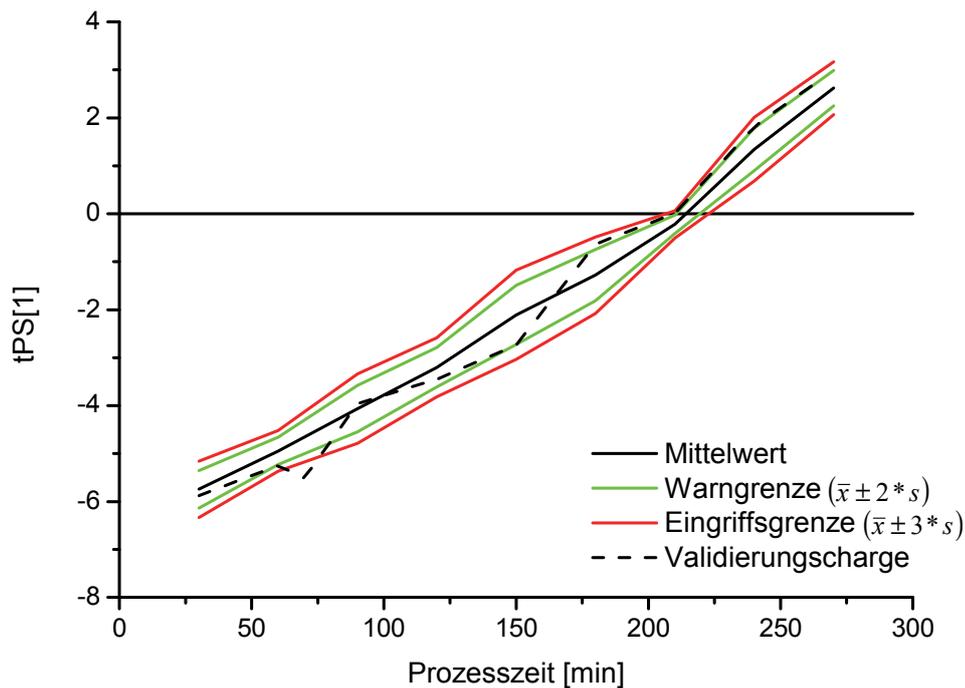
Es gilt also, einen anderen Ansatz für die Erstellung einer aussagekräftigen Qualitätsregelkarte zu verfolgen. Dabei wurden im Rahmen dieser Arbeit zwei Regelkarten-Prototypen entwickelt. Abbildung 3-65 zeigt eine den Anforderungen der vorliegenden Fragestellung angepasste Regelkarte nach Shewhart.



**Abbildung 3-65: Modifizierte Qualitätsregelkarte nach Shewhart**

Hierbei wurden nicht die t-Scores gegen die Prozesszeit aufgetragen, sondern die erste Ableitung für jeweils einen Zeitraum von 10 Minuten. Auch bei dieser Form der Darstellung werden Prozessstörungen, wie z.B. das Anschalten der Trommelbeleuchtung oder Unterbrechungen des Prozesses nach ca. 60 Minuten Prozesszeit, ersichtlich.

Abbildung 3-66 zeigt eine zweite entwickelte Methode, mit der beurteilt werden kann, ob ein Prozess innerhalb der kalibrierten Grenzen verläuft oder ob durch starke Schwankungen bzw. Verschiebungen des Prozessmittelpunktes der Prozess Gefahr läuft nicht spezifikationskonforme Ergebnisse zu liefern. Zur Bestimmung der Warn- und Eingriffsgrenzen wurde nicht der vollständige Prozessverlauf einbezogen, sondern es wurde jeweils zum Zeitpunkt von Probeziehungen für drei Herstellungschargen die Standardabweichung ihrer Score-Werte berechnet.



**Abbildung 3-66: Prototyp einer Qualitätsregelkarte für die Prozessüberwachung eines Überzugsprozesses**

Voraussetzung für solch eine Methode ist eine Modellkalibrierung, die auf möglichst vielen unter identischen Prozessbedingungen hergestellten Chargen beruht. Für die Entwicklung einer Prototyp-Qualitätsregelkarte konnte nur auf Produktionschargen zurückgegriffen werden, die im Rahmen einer experimentellen Versuchsplanung hergestellt wurden. Somit wurden die entscheidenden Prozessparameter, wie z.B. die Sprühdichte, während der Versuche variiert. Da es sich um erste Testchargen handelte, traten zusätzlich häufige Prozessunterbrechungen auf, die sich negativ auf das vorgestellte Regelkarten-Modell auswirken. Trotzdem konnten drei Chargen für die Erstellung der Regelkarte ausgewählt werden und die Regelkarte mit einer unabhängigen Testcharge validiert werden. In Abbildung 3-66 wird deutlich, dass sich die Testcharge über große Bereiche hinweg prozesstechnisch an der Warngrenze bewegt. Auch hierbei bildet der Score-Wert eines Spektrums die Ausnahme und überschreitet während einer Prozessunterbrechung zum Zeitpunkt der Probenziehung die Eingriffsgrenze. Das Überschreiten von Warn- bzw. Eingriffsgrenzen kann sowohl von Prozessstörungen ausgelöst werden als auch durch Störungen von Seiten der analytischen Methodik hervorgerufen werden. Daher darf das Überschreiten nicht direkt mit einer Prozessabschaltung einhergehen, sondern sollte Anlass für eine gründliche Überprüfung der Methodik wie auch des Prozesses an sich sein.

Für einen möglichen Prozesseinsatz dieser Form einer Qualitätsregelkarte bedeutet dies, dass zunächst eine neue Kalibrierung an möglichst identisch hergestellten Chargen erfolgen muss, die dann zur Überprüfung wiederum an Testchargen validiert werden muss.

Nachdem automatisierbare Regelkarten zur multivariaten statistischen Prozesskontrolle vorgestellt wurden und somit Abweichungen der multivariaten Kennzahlen von den Spezifikationen detektierbar sind, muss entschieden werden, ob bei gegebener Abweichung eine Rekalibrierung des Instruments oder ein Modellpflege des Modells durchgeführt werden muss.

Das Flussdiagramm in Abbildung 3-61 (S. 100) stellt einen Entscheidungsbaum dar, nach dem entschieden werden kann, ob die Fehlersuche instrumentenbezogen oder modellbezogen durchgeführt werden soll. Sind Veränderungen im Hinblick auf die verwendeten Rohstoffe und Ausgangsmaterialien oder die Prozessparameter entstanden, ist eine Rekalibrierung mit anschließender Validierung unumgänglich. Liegen solche offensichtliche Gründe für die Abweichungen jedoch nicht vor, schließt sich zunächst eine Funktionsüberprüfung und gegebenenfalls eine Reparatur des Messgerätes an. Nach erfolgreicher Rekalibrierung und Verifizierung der Messleistung kann im Prozesseinsatz evaluiert werden, ob die multivariaten Kennparameter nun den Spezifikationen entsprechen. Bei erfolgreichem Ausgang der Prüfung, wäre die in-line Analytik wieder einsatzfähig für die Routineapplikation.

### 3.4.5. Endpunktbestimmung

Das Ziel dieser Arbeit besteht darin, für eine technologische herausfordernde Arzneiform ein Modell zu entwickeln, das eine in-line Vorhersage des Wirkstoffauftrages ermöglicht. Weiter soll dadurch eine direkte Endpunktvorhersage ermöglicht werden, die eingebunden in eine Prozesssteuerungssoftware die Abschaltung des Überzugsprozesses zum richtigen Zeitpunkt ermöglicht.

Für spektroskopische Methoden, die für die in-line Prozessanalytik eingesetzt werden, bieten sich zwei Herangehensweisen an:

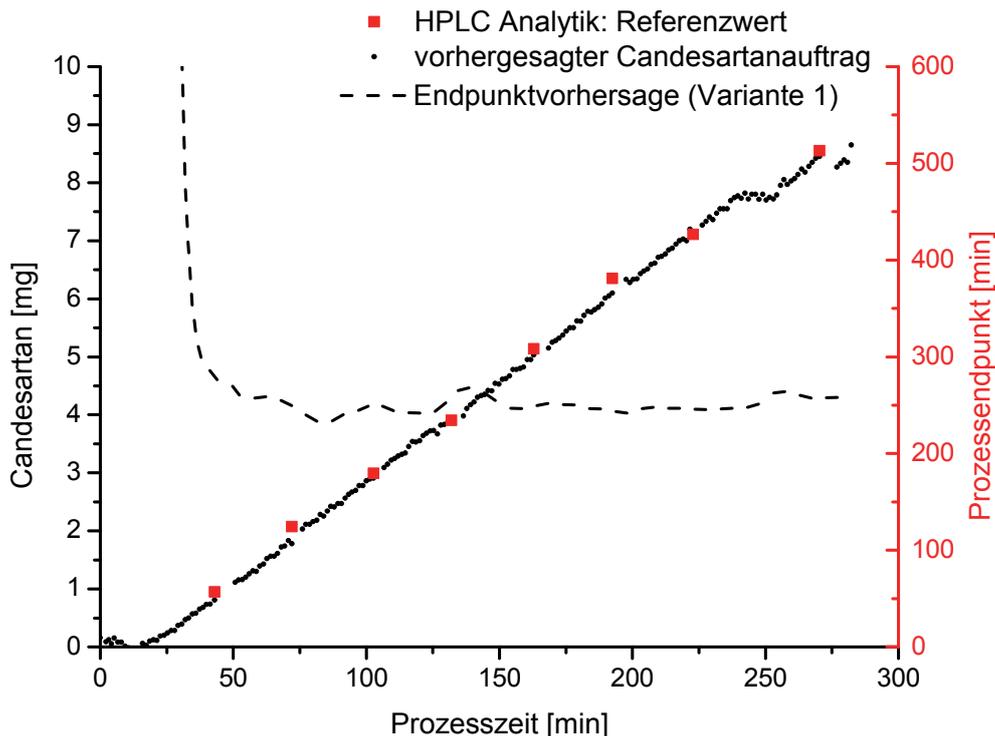
- Prozessstopp, sobald der definierte Wirkstoffauftrag erreicht ist
- Endpunktvorhersage und Prozessstopp basierend auf Regressionsmethoden

Der Ansatz einer automatischen Prozessabschaltung bei Erreichen des in der Spezifikation angegebenen Wirkstoffauftrags birgt in seiner Einfachheit den Nachteil in sich, dass bei stark schwankenden Vorhersagen gegebenenfalls ein Ausreißer den Prozessstopp hervorrufen kann. Dies könnte durch Sicherheitsvorgaben, dass z.B. erst nach dreimaligem Überschreiten der spezifizierten Mindestmenge der Prozessstopp ausgelöst wird, umgangen werden. Allerdings ermöglicht diese Methode zu keiner Zeit eine Angabe des prognostizierten Prozessendpunkts. Wie in Abschnitt 3.4.3.1 gezeigt werden konnte, ist die hohe Signalstabilität charakteristisch für die Raman Spektroskopie. Somit wäre eine direkte Prozessabschaltung bei dieser analytischen Methode möglich.

Regressionsverfahren werden typischerweise bei Methoden eingesetzt, die stärkeren Schwankungen ausgesetzt sind, z. B. bei NIR Methoden. Dabei werden für einen gegebenen Zeitraum (z.B. 20 Spektren entsprechend ca. 26 min Prozesszeit) die Steigung und der Achsenabschnitt anhand der vorhergesagten Wirkstoffaufträge errechnet. Bezogen auf eine gewünschte Wirkstoffmenge lässt sich so der Prozessendpunkt vorhersagen. Diese gleitende Regression wandert im Laufe des Prozesses Spektrum für Spektrum weiter und ihre Vorhersage stabilisiert sich zunehmend während des ungestörten Prozessverlaufes.

Abbildung 3-67 zeigt den Verlauf der Endpunktvorhersage an der Herstellung einer Produktionscharge. Dadurch, dass auch zum Zeitpunkt Null das multivariate Modell einen bestimmten Wirkstoffauftrag vorhersagt, und dies in die gleitende Regressionsmethode

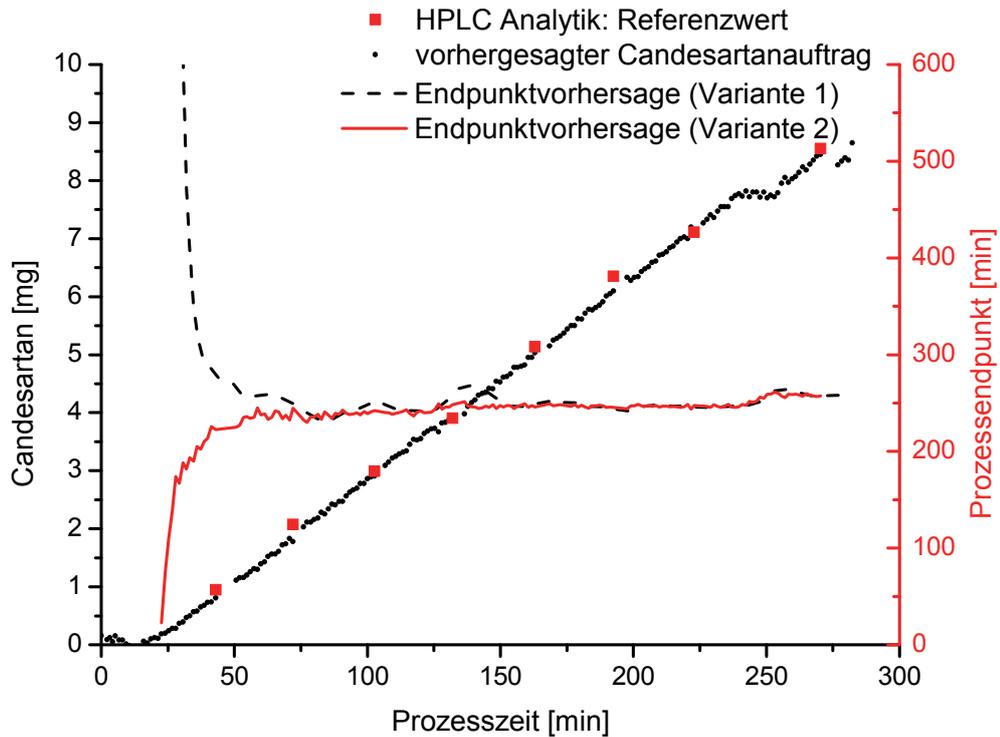
einbezogen wurde, werden zu Beginn des Prozesses unrealistisch hohe Endpunktvorhersagen getroffen. In dieser Phase ist die errechnete Steigung der Regressionsgeraden sehr gering. Diese ungünstigen Werte könnten dadurch verhindert werden, dass der Endpunktbestimmungslogarithmus erst 20 Spektren nach dem eigentlichen Überzugsprozess gestartet wird. Über die Anzahl an Spektren, die für die Regression verwendet werden, lässt sich steuern, wie flexibel die Methode auf Prozessänderungen und –unterbrechungen reagieren kann.



**Abbildung 3-67: Endpunktvorhersage auf Basis der Regressionsmethode am Beispiel der Produktionscharge 1 GITS 30 mg (Variante 1: Regressionsverfahren)**

Im Gegensatz zur gleitenden Regressionsmethode wird in einem alternativen Ansatz die mittlere bis zum Betrachtungszeitpunkt aufgetragene Menge an Wirkstoff errechnet. Für die erste Berechnung wird dabei nur auf einen Zeitraum von knapp 1,5 min zurückgegriffen. Dies ändert sich jedoch im Prozessverlauf, so dass zunehmend über einen größeren Zeitraum gemittelt wird. Zu Beginn des Prozesses liefert die Endpunktvorhersage keine realistischen Vorhersagen. Aufgrund von Variationen in der Zusammensetzung der Tablettenkerne ist das multivariate Modell nicht in der Lage, einen Candesartancilexetilaufrag von exakt Null zu erkennen. So ergibt sich auch ohne Candesartancilexetilaufrag ein durch das Modell vorhergesagter Candesartancilexetilaufrag von bis zu 0,1 mg. Dies führt dazu, dass bereits nach kurzer

Prozessdauer ein höherer Candesartancilexetilaufrag vorhergesagt wird als tatsächlich vorhanden ist. Somit wird zu Beginn des Überzugsprozesses die verbleibende Prozessdauer deutlich zu gering vorhergesagt. Dadurch dass im weiteren Prozessverlauf eine über einen größeren Zeitraum gemittelte Auftragsmenge errechnet wird, ergibt sich ab 30 min realer Sprühzeit eine stabile Endpunktvorhersage.



**Abbildung 3-68: Vergleich zweier Endpunktvorhersagemethoden am Beispiel der Produktionscharge 1 GITS 30 mg (Variante 1: Regressionsverfahren, Variante 2: Sprühdrate-Verfahren)**

Stabile Herstellungsprozesse, die keine Prozessunterbrechungen aufweisen und mit einer gleichbleibenden Sprühdrate über die gesamte Prozesszeit gefahren werden, profitieren von dieser Endpunktvorhersage-Methode. Sobald jedoch für einzelne Prozessphasen unterschiedliche Sprühdraten verwendet werden und häufige Prozessunterbrechungen auftreten, werden die Vorhersagen nicht direkt auf die Prozessänderungen reagieren können und somit stärker fehlerbehaftet sein als beim Regressionsverfahren.

### 3.4.6. Zusammenfassung

Die in dieser Arbeit implementierte analytische Methode zur in-line Prozesssteuerung von Überzugsprozessen konnte in Anlehnung an die EMA Richtlinie validiert werden [119].

Tabelle 3-15: Übersicht zur Validierung der Raman Methodik

<b>Validierung einer in-line kalibrierten analytischen Methode nach EMA [119]</b>		
<b>Validierungskriterien</b>	<b>Art der Anwendung der EMA Richtlinie</b>	<b>Bemerkungen</b>
<b>Richtigkeit:</b> - multivariate Kennparameter (RMSEC, BIAS, RMSEP) - gepaarter t-Test	Transfer	- Richtigkeit der Methode konnte bestätigt werden.
<b>Spezifität:</b> - Vergleich von p-Loadings mit Rohspektren - t[1]/u[1] Graph	Transfer	- Signalantwort ist spezifisch für den Wirkstoffauftrag.
<b>Linearität:</b> - F-Test nach Mandel	Transfer	- Im Arbeitsbereich von 3,41 mg bis 31,11 mg konnte die Linearität bewiesen werden.
<b>Präzision:</b> - Wiederholbarkeit - Vergleichspräzision	Neuentwicklung	- Wiederholbarkeit: $VK \leq 0,59 \%$ - Vergleichspräzision: $VK \leq 0,50 \%$
<b>Robustheit:</b> - Änderungen an Prozessgröße, -aufbauten und -geometrien - Einfluss von Temperatur und Feuchtigkeit	Neuentwicklung	- Robustheit der Methodik konnte anhand von Scale up Versuchen bewiesen werden. - Prozessrelevante Temperatur- und Feuchtigkeitsänderungen wirken sich bei der richtigen Spektrenvorbehandlung nicht auf die Vorhersagekraft der Methode aus.
<b>Arbeitsbereich:</b> - Festlegung anhand der Ergebnisse der Richtigkeit, Linearität und Präzision		

Hierzu wurden neue Herangehensweisen entwickelt, um die Validierungselemente Präzision und Robustheit gemäß den Anforderungen einer in-line kalibrierten

Modellerstellung zu untersuchen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Raman Spektroskopie zusammen mit der entwickelten Modellerstellungsstrategie valide Vorhersagen bezüglich des Wirkstoffauftrages beim active coating treffen kann und somit ein geeignetes PAT-Instrument für die Überwachung sowohl im Labor- als auch im Produktionsmaßstab darstellt.

Umfassende Untersuchungen bezüglich der Robustheit der Methode verdeutlichen, inwieweit prozessbedingte bzw. messtechnische Veränderungen Einfluss auf die Ergebnisse haben. Im Gegensatz zu den sich aus der Literatur ergebenden Erwartungen konnte in der vorliegenden Arbeit eine robuste Methode entwickelt werden, die große Veränderungen in Bezug auf den Messabstand und auf den Herstellungsmaßstab toleriert. Trotz der hohen Robustheit der Methode ist im Fall einer Prozessapplikation eine in festgelegten Abständen routinemäßige Verifikation der entwickelten Methode erforderlich. Entsprechende Schemata zur kontinuierlichen Weiterentwicklung des multivariaten Modells bzw. zur Rekalibrierung im Falle von grundlegenden Veränderungen bezüglich der Prozessparameter, der Messinstrumente oder der eingesetzten Ausgangsmaterialien wurden erarbeitet.

Für die Bestimmung des Endpunktes konnte an zwei Algorithmen eine zuverlässige Vorhersage entwickelt werden. Je nach Anforderungsprofil des vorliegenden Herstellungsprozesses bietet sich entweder eine stärker mittelnde und dafür stabilere Methode an oder ein Verfahren, das flexibler auf Prozessschwankungen und -unterbrechungen eingehen kann. Es bedarf jedoch weiterer Untersuchungen im Praxiseinsatz für beide Verfahren im Hinblick auf ihre Anwendbarkeit und Validität.

---

## 4. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Eignung der Raman Spektroskopie für die Überwachung und Steuerung eines active coating Prozesses im industriellen Maßstab nachzuweisen. Während in bisherigen Arbeiten die grundsätzliche Anwendbarkeit anhand einfacher Modellsysteme und unter idealisierten Bedingungen (kleine Chargengröße, off-line Messungen) gezeigt werden konnte, wurde im Rahmen dieser Arbeit der Schritt zur Implementierung und Validierung der Methode unter den realen Bedingungen einer pharmazeutischen Produktion vollzogen. Als Probensystem wurde ein aus analytischer Sicht anspruchsvolles Zweischichttablettensystem verwendet. Der Auftrag des Wirkstoffs auf die Tablettenkerne sollte mit Hilfe der Raman Spektroskopie so überwacht werden, dass eine korrekte Endpunktbestimmung des Prozesses ermöglicht wird. Dabei ist es von entscheidender Bedeutung, die Anforderungen des Europäischen Arzneibuchs in der Monographie „Gleichförmigkeit einzeldosierter Arzneiformen“ (Ph. Eur. 7.4: Monographie 2.9.40) zu erfüllen.

Zunächst wurden verschiedene Modellerstellungsstrategien für die Befilmung der oben beschriebenen Arzneiform mit dem Wirkstoff Candesartancilexetil im Labormaßstab (Chargengröße: 3 kg) getestet. Dabei ließ sich der Wirkstoffauftrag während des Überzugsprozesses mit einer Abweichung von weniger als 2 % präzise vorhersagen, wenn in-line gemessene Raman Spektren von einer einzigen Herstellungscharge als Grundlage für die multivariate Modellerstellung verwendet wurden. Obwohl die Raman Intensität bei hohen Schichtdicken eine methodenbedingte Sättigung aufweist, konnte eine hinreichend genaue Vorhersage der aufgetragenen Wirkstoffmenge für Tablettenkerne, wie sie unter realistischen Bedingungen verwendet werden, getroffen werden. Somit konnte mittels Raman-Spektroskopie der Endpunkt des Überzugsprozesses in-line, also ohne Prozessunterbrechung, präzise bestimmt werden. Dieses Ergebnis bildet die Grundlage für eine Übertragung auf Chargengrößen, wie sie im Produktionsmaßstab üblich sind, und ist somit für eine Anwendung in der pharmazeutischen Industrie entscheidend.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde das für den Labormaßstab entwickelte multivariate Modell in den Produktionsmaßstab (bei einer ca. 100-fach größeren Chargengröße) übertragen. Mit einem Modell, basierend auf Raman Spektren, die in-line im Produktionsmaßstab gemessen wurden, konnte eine Endpunktbestimmung bei darauf folgenden Chargen präzise vorgenommen werden. In einem nächsten Schritt wurde die

Robustheit des für den Labormaßstab erstellten multivariaten Modells dadurch getestet, dass dieses Modell direkt auf Spektren des Produktionsmaßstabs angewendet wurde. Zusätzlich wurde in diesem Zusammenhang der Einfluss weiterer kritischer sondenspezifischer Parameter, wie z.B. der Abstand zwischen Sonde und Tablettenbett und eine Abweichung von senkrechter Inzidenz, auf die Vorhersagekraft untersucht. Das für den Labormaßstab erstellte Modell erwies sich als robust genug, um auch unter veränderten Prozessbedingungen (wie z.B. Änderungen an Prozessgröße, -aufbauten und –geometrien) hinreichend genaue Vorhersagen zu treffen. Einschränkungen der Robustheit zeigten sich erst bei gleichzeitiger Veränderung des eingesetzten Spektrometers, der Prozessgröße und einer Abweichung des optimalen Messabstandes von mehr als 35 %, also unter deutlich schlechteren Bedingungen, als dies in einer realen pharmazeutischen Produktion zu erwarten ist. Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Methodik kann daher in industriell geführten Prozessen sicher und erfolgreich eingesetzt werden.

Abschließend wurde die Validität der entwickelten Methodik unter Anwendung der Richtlinie der Europäischen Arzneimittel Agentur, die auf den Anforderungen der ICH Richtlinie basiert, überprüft. Dies ist für eine Zulassung als GMP-konformes Instrument zur Prozessüberwachung in der pharmazeutischen Industrie erforderlich. Neben dem oben beschriebenen Nachweis der Robustheit, der auf eine Variation von Temperatur und Feuchte ausgedehnt wurde, ist besonderer Wert auf die Überprüfung der Präzision gelegt worden. Es wurden für diese Validierungskriterien neue Prüfmethode entwickelt, die den besonderen Anforderungen der in-line kalibrierten Methodik genügen. Die Methodik erfüllt alle einschlägigen regulatorischen Anforderungen und kann somit unter GMP-konformen Bedingungen zur automatischen Prozessüberwachung in der pharmazeutischen Industrie eingesetzt werden. Anhand des vorgestellten Regelkarten-Prototyps für die multivariate statistische Prozesskontrolle und neu entwickelter Endpunktbestimmungsalgorithmen wurden weitere Schritte zur automatisierten Prozessführung vorgeschlagen.

Zusammenfassend konnte im Rahmen dieser Arbeit erstmals eine Methodik zur Prozesskontrolle entwickelt werden, die den Anforderungen für den Einsatz in der pharmazeutischen Industrie selbst im Fall komplizierter Arzneiformen gerecht wird. Hierdurch wird in Zukunft der Einsatz einer in-line Methode zur Prozessüberwachung in industriellen pharmazeutischen Prozessen möglich sein, wodurch eine erheblich effizientere Produktion realisiert werden kann.

## 5. Summary

The aim of this study was to demonstrate the suitability of Raman spectroscopy for monitoring and controlling an active coating process at production scale. While in previous work the applicability could be demonstrated based on simple model systems and under ideal conditions (small batch size, off-line measurements), in this work the step towards implementation and validation of the method under the actual conditions of a pharmaceutical production was completed. From an analytical point of view a challenging two-layer tablet system was used as a model system. The application of an active pharmaceutical ingredient (API) on tablet cores should be monitored by Raman spectroscopy, so that a correct endpoint determination of the process can be achieved. Thereby, it is of crucial importance to fulfill the requirements of the European Pharmacopoeia in the monograph "Uniformity of dosage units" (Ph. Eur 7.4: monograph 2.9.40).

Initially, different modeling strategies for the above described dosage form were tested at laboratory scale (batch size: 3 kg). The amount of API applied during the coating process could accurately be predicted with a deviation of less than 2 %, when in-line measured Raman spectra out of one batch were used as the basis for multivariate modeling. Although the Raman intensity showed saturation at high film thicknesses, a sufficiently accurate prediction of the applied amount of API was achievable for tablet cores as they are used under realistic conditions. Consequently, by means of Raman spectroscopy, the present work succeeded in implementing a process analytical method for a drum coating process at the laboratory scale realizing a precise in-line endpoint determination without interrupting the process. This result is the basis for a transfer to batch sizes as used in production scale and is thus crucial for an application in the pharmaceutical industry.

In the second part of this work, the multivariate model, which was developed at laboratory scale, was transferred to production scale (with an approximately 100 times larger batch size) and tested under realistic conditions. Using a model based on Raman spectra, which were measured in-line at production scale, the endpoint in subsequent batches could be determined precisely.

In a next step, the robustness of the multivariate model, which was calibrated at laboratory scale, was tested by applying this model directly to spectra measured at production scale.

In addition, the influence of other critical parameters, such as the distance between probe and tablet bed as well as a deviation from normal incidence, was analyzed with respect to the predictive power. The laboratory scale model was robust enough to make sufficiently accurate predictions even under changing process conditions (such as changes in process scale, constructions and geometries). Limitations to the robustness only appeared, when the spectrometer and the coating equipment were exchanged and, simultaneously, the optimal measuring distance was increased by more than 35 %. Such strong changes in process conditions are not likely to occur in a realistic pharmaceutical production. Consequently, the methodology developed in this work can be successfully applied to industrial processes.

Finally, the validity of the developed methodology was verified using the guideline of the European Medicines Agency, which base on the requirements of ICH guideline. This is mandatory for an admission as a GMP-compliant tool for process monitoring in the pharmaceutical industry. The aforementioned evidence of the robustness has been extended to a variation of temperature and humidity. Additionally, special emphasis has been placed on verifying the precision. New approaches have been developed for these validation criteria to meet the special requirements of an in-line calibrated methodology. Conclusively, it has been shown that the methodology meets all relevant regulatory requirements and can therefore be used under GMP conditions for automatic process control in the pharmaceutical industry. On the basis of the presented control chart prototype for multivariate statistical process control and the developed endpoint detection algorithms, further steps for an automated process control have been proposed.

In summary, in the course of this work a methodology for process control has been developed that fulfills all requirements for an implementation in pharmaceutical industry even in the case of sophisticated dosage forms. Thus, in future it will be possible to apply an in-line Raman method for monitoring industrial pharmaceutical processes, thereby realizing a significantly increased production efficiency of technologically sophisticated dosage forms.

## 6. Experimenteller Teil

### 6.1. Materialien

#### 6.1.1. Arzneistoffe und Arzneiformen

Tabelle 6-1: verwendete Arzneistoffe

Substanz	Charge	Herkunft
<b>Candesartancilexetil</b>	80210020	Bayer Pharma AG
	80410790	Berlin, Deutschland
<b>Nifedipin</b>	BXA4S1B	Bayer Pharma AG Berlin, Deutschland

Tabelle 6-2: Arzneimittel

Substanz	Charge	Herkunft
<b>Nifedipin GITS 20 mg</b>	BXA433C	Bayer Pharma AG
	BXAX0E8	Berlin, Deutschland
<b>Nifedipin GITS 30 mg</b>	BXAX0E7	Bayer Pharma AG
	BXA1S65	Berlin, Deutschland
<b>Nifedipin GITS 60 mg</b>	BXAX0E6	Bayer Pharma AG Berlin, Deutschland
<b>uniforme Nifedipin Kerne</b>	20110315	Bayer Pharma AG Leverkusen, Deutschland

Abbildung 6-1 stellt schematisch die Unterschiede der in dieser Arbeit verwendeten Arzneiformen dar. Dabei wird zwischen Nifedipin GITS und uniformen Nifedipin Kernen unterschieden. Die Nifedipin GITS stellen eine OROS-Tablette dar, die aus einer mit Celluloseacetat überzogenen Zweischichttablette besteht. Diese setzt sich wiederum aus einer nifedipinhaltigen Wirkstoffschicht (vgl. Abschnitt 6.2.3, Zubereitung I) mit unterschiedlicher Wirkstoffkonzentration (20, 30 oder 60 mg) und einer osmotisch aktiven Schicht (vgl. Abschnitt 3.1.3.3) zusammen. Die uniformen Nifedipin Tablettenkerne entsprechen qualitativ der nifedipinhaltigen Wirkstoffschicht der Zweischichttablette.

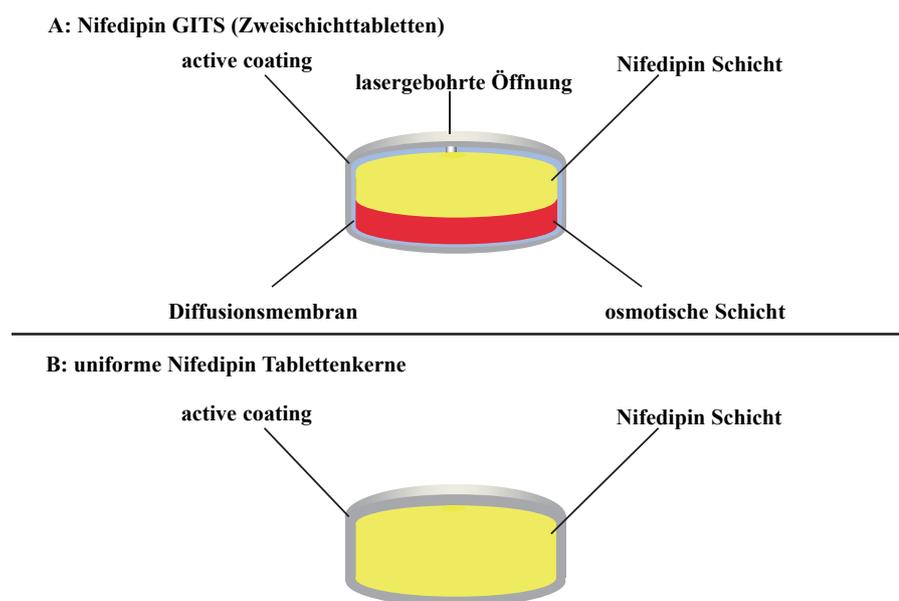


Abbildung 6-1: Schema der unterschiedlichen Arzneiformen

### 6.1.2. Weitere Hilfsstoffe

Tabelle 6-3: Hilfsstoffe für die Überzugsprozesse und weitere analytische Methoden

Substanz	Charge	Herkunft
<b>Opadry® II clear</b> (85F19250)	DT570684 DT574393	Colorcon GmbH Idstein, Deutschland
Substanz	Charge	Herkunft
<b>Hydroxypropylmethylcellulose</b> (Pharmacoat® 606)	0028031	Shin-Etsu Chemical, Tokyo Japan
<b>Polyethylenoxid 200.000</b> (Polyox® WSR, 40-100 mPa*s)	TG1355S5H4	Dow Chemical Company, USA
<b>Mikrokristalline Cellulose</b> (MCC Sanaq 101 L)	31238	Pharmatrans Sanaq, Schweiz
<b>sprühgetrocknete Lactose</b> (Flowlac® 100)	9480	Meggle, Wasserburg, Deutschland
<b>Magnesiumstearat</b>	623299	Welding, Hamburg, Deutschland
<b>Methanol</b> <b>HiPerSolv CHROMANORM®</b>	diverse	Merck, Darmstadt, Deutschland

Substanz	Charge	Herkunft
Phosphorsäure 85 %	130598	Bernd Kraft GmbH, Duisburg, Deutschland
Wasser, gereinigt (Ph.Eur.)	-	Gewinnung mittels Destillation

## 6.2. Herstellungsmethoden

### 6.2.1. Überzugsverfahren im Labormaßstab (BFC 5)

#### 6.2.1.1. Zusammensetzung und Herstellung der Lacksuspension

Für die Versuche im Labormaßstab wurde jeweils eine wässrige Suspension mit 40 % Candesartancilexetil-Konzentration bezogen auf den Feststoffanteil hergestellt. In die vorgelegte Wassermenge wurde mit Hilfe einer Dispergierscheibe (R1302 DissolVERRührer, IKA Werke GmbH, Staufen, Deutschland) der Wirkstoff bei 400 UpM suspendiert. Dazu wurde die Drehgeschwindigkeit so eingestellt, dass ein Vortex entstand: Es sollte jedoch vermieden werden, dass sowohl Pulverauflagerungen an der Oberfläche der Flüssigkeit entstanden, als auch, dass Luft in die Suspension eingearbeitet wurde. Sobald der Wirkstoff homogen verteilt war, wurde die PVA-basierte Hilfsstoffmischung Opadry® hinzugegeben und für 45 min gerührt. Die hergestellte Suspension wurde direkt vor der Verwendung durch ein Sieb mit der Maschenweite 350 µm gegeben und während der gesamten Prozesszeit gerührt, um eine eventuelle Sedimentation zu verhindern.

Ein berechneter Herstellungszuschlag von 15 % auf die theoretische Lackmenge diente dem Ausgleich von Sprühverlusten und des gerätespezifischen Totvolumens.

Tabelle 6-4: Rezeptur der Lacksuspension

Substanz	Anteil an Feststoffmenge [%]	Anteil an Suspensionsmenge [%]
Candesartancilexetil	40 %	11,8 %
Opadry® II clear	60 %	17,6 %
deionisiertes Wasser	-	70,6 %

### 6.2.1.2. Prozessparameter im Labormaßstab

Im Labormaßstab (BFC 5, L.B. Bohle, Ennigerloh, Deutschland) wurden jeweils Chargen von 3 kg Zweischichttablettenkernen im Trommelcoater befilmt. Die Durchführung der Überzugsprozesse erfolgte mit folgender Konfiguration des Coaters: Der Sprüharm wurde auf die Trommel zentriert (Position 5, Neigung 40°) und mit zwei Düsen (Durchmesser: 1,0 mm) betrieben. Ein Abstand der Düsen zum Tablettenbett von 10 cm wurde eingehalten, indem der Sprüharm auf die Position 1,3 cm eingestellt wurde. Die Prozesszeit variierte in Abhängigkeit von der aufgetragenen Menge an Sprühflüssigkeit und der verwendeten Arzneiform. Die Prozessparameter sind in Tabelle 6-5 angegeben:

Tabelle 6-5: Prozessparameter im Labormaßstab (BFC 5)

Phase	Trommeldrehzahl [UpM]	Zuluftmenge [Nm <sup>3</sup> /h]	Zulufttemperatur [°C]	Ablufttemperatur [°C]	Zerstäubedruck [bar]	Formierdruck [bar]	Sprührate [g/min]
<b>Aufwärmen</b>	5	160	60	40	-	-	-
<b>Sprühen I (0 - 60 min)</b>	18	160	55	45	0,8	0,7	8
<b>Sprühen II (61 min – Ende)</b>	18	160	55	45	0,8	0,7	12
<b>Trocknen</b>	18	160	55	45	-	-	
<b>Abkühlen</b>	5	160	25	30	-	-	

### 6.2.2. Überzugsverfahren im Produktionsmaßstab (BFC 400)

#### 6.2.2.1. Herstellung der Lacksuspension

Bedingt durch eine Weiterentwicklung der Suspensionsherstellung und gerätespezifische Ursachen ergab sich eine Veränderung der Herstellungsanweisung für den Produktionsmaßstab:

In einem ersten Schritt wurde eine Vormischung aus Wirkstoff und Opadry® im Röhrenmischer im Rahmen einer 10-minütigen Mischzeit hergestellt. Diese Mischung wurde in die vorgelegte Wassermenge langsam hinzudosiert und anschließend 60 min mit einer Dispergierscheibe (Eigenbau Bayer Pharma GmbH, Leverkusen, Deutschland) bis zur vollständigen Benetzung gerührt. Auch die nach dieser Methode hergestellte Suspension wurde während der gesamten Prozesszeit weitergerührt, um eine Sedimentation zu verhindern.

### 6.2.2.2. Prozessparameter im Produktionsmaßstab

Im Produktionsmaßstab (BFC 400, L.B. Bohle, Ennigerloh, Deutschland) wurden jeweils Chargen von 240 - 260 kg Zweischichttablettenkernen im Trommelcoater befilmt. Folgende Konfiguration des Coaters wurde verwendet: Der Sprüharm wurde mit vier Düsen (Durchmesser 1,2 mm) betrieben und der Auszug vom Arm auf 12 cm eingestellt. So ergab sich ein Abstand der Düsen zum Tablettenbett bei 260 kg Kernen von ca. 19 - 20 cm, bei 240 kg von ca. 21 - 22 cm vor dem Sprühen und eine Neigung von ca. 55°. Eine zweite Sprühphase mit einer veränderten Sprühdosis entfiel bei den Produktionsmaßstabsprozessen. Die Prozessparameter sind in Tabelle 6-6 aufgeführt:

Tabelle 6-6: Prozessparameter im Produktionsmaßstab (BFC 400)

Phase	Trommeldrehzahl [UpM]	Zuluftmenge [Nm <sup>3</sup> /h]	Zulufttemperatur [°C]	Ablufttemperatur [°C]	Zerstäubedruck [bar]	Formierdruck [bar]	Sprühdosis [g/min]
<b>Aufwärmen</b>	9	2900	60	40	-	-	-
<b>Sprühen</b>	9	2900	52	42	3	2,5	180 - 360
<b>Abkühlen</b>	4	2900	25	30	-	-	

Die Prozesszeit variierte in Abhängigkeit von der aufgetragenen Menge an Sprühflüssigkeit, der eingestellten Sprühdosis und der verwendeten Arzneiform.

### 6.2.3. Herstellung uniformer Nifedipin Kerne

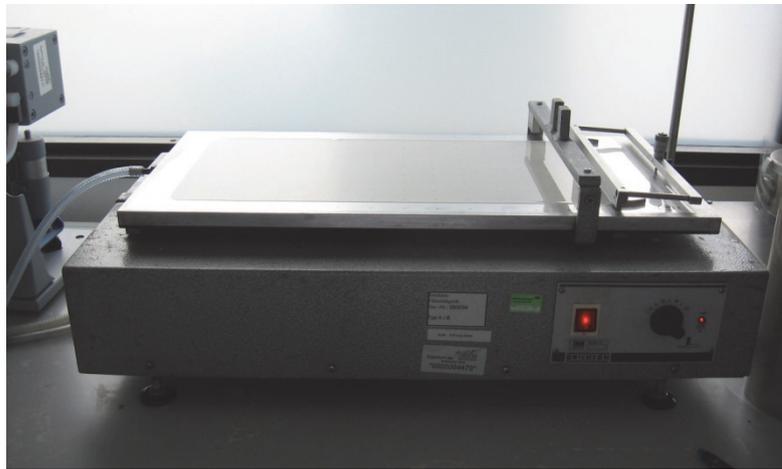
Substanz	Zubereitung I	Zubereitung II	Zubereitung III
<b>Nifedipin, mikronisiert</b>	20,15 %	20,15 %	20,15 %
<b>Hydroxypropylmethylcellulose (6 mPa*s)</b>	5 %	5 %	5 %
<b>Polyethylenoxid 200000</b>	74,6 %	-	-
<b>Mikrokristalline Cellulose</b>	-	74,6 %	-
<b>sprühgetrocknete Lactose</b>	-	-	74,6 %
<b>Magnesiumstearat</b>	0,25 %	0,25 %	0,25 %

Für weiterführende Untersuchungen sollten gleichförmige Tablettenkerne hergestellt werden, die ein möglichst identisches Raman Signal im Vergleich zu der gelben Seite der Zweischichttabletten liefern sollten. Zubereitung I stellt die Originalrezeptur für die gelbe Schicht der Zweischichttabletten dar. Diese Zubereitung war aufgrund ihrer schlechten Fließeigenschaften und unzureichender Tablettierbarkeit nicht direkt auf einer Rundläufertablettenpresse verpressbar. Somit wurden die Zubereitungen II und III entwickelt, die sich gut direkt verpressen ließen und für erste Raman Messungen verwendet wurden.

Aufgrund der unterschiedlichen qualitativen Zusammensetzung der Tablettiermischungen traten leichte Veränderungen in den gemessenen Raman Spektren auf. Somit erfolgten die vergleichenden Untersuchungen in Abschnitt 3.1.3.3 mit Tabletten der Zubereitung I. Dazu musste die Tablettiermischung zunächst der Walzenkompaktierung als Granulationsverfahren unterzogen werden, damit u.a. durch die Verkleinerung der spezifischen Oberfläche und die Erhöhung der Schüttdichte das Tablettierverhalten der Mischung so verbessert werden konnte, dass die Verpressung auf einer Rundläufertablettenpresse möglich wurde. Dieser Herstellungsprozess wurde von der Abteilung „Production Technology“ der Bayer Pharma AG, Leverkusen übernommen. Für die vergleichenden Untersuchungen wurde auf den Celluloseacetat-Überzug verzichtet.

#### 6.2.4. Filmherstellung

Die zu untersuchenden Filme wurden mit zwei verschiedenen Verfahren hergestellt: Bei der Filmziehmethode wurden Filme definierter Dicke mit Hilfe eines Erichsen-Filmziehgerätes (Coatmaster 509/1, Erichsen, Hemer, Deutschland) auf einem Release-Liner (Hostaphan<sup>®</sup> RN50, Mitsubishi Polyester Film, Wiesbaden, Deutschland) hergestellt. Rakeleinstellungen von 800  $\mu\text{m}$  und 1000  $\mu\text{m}$  bei einer Filmziehgeschwindigkeit von 6 mm/s wurden verwendet. Die gezogenen Filme wurden anschließend in einem Trockenschrank (Memmert U50, Memmert, Schwabach, Deutschland) bei 40 °C getrocknet.



**Abbildung 6-2: Filmziehgerät Coatmaster 509/1 (Erichsen, Hemer, Deutschland)**

Mit Hilfe der Filmgießmethode konnten Filmdicken von über 200  $\mu\text{m}$  erzielt werden. Dazu wurden definierte Volumina an flüssiger Lacksuspension in Petrischalen gegossen und im Trockenschrank bei 40 °C getrocknet.

## 6.2.5. Modellerstellung

### 6.2.5.1. Univariate Modellerstellung

#### 6.2.5.1.1. Off-line

##### *Filme*

Für die Raman Messungen wurden Kreise mit definiertem Durchmesser (1 cm) aus den Rohfilmen herausgestanzt. Die so definierten Filme wurden ramanspektroskopisch zweifach vermessen und jeweils der Mittelwert gebildet. Die Raman Intensität bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  und  $1713,3 \text{ cm}^{-1}$  wurde sowohl mit der jeweiligen Schichtdicke als auch mit dem mittels HPLC-Referenzanalytik erhaltenen Wirkstoffauftrag korreliert (vgl. Abschnitt 3.1.2.2, Abbildung 3-13). Die Abmessungen der Tablette wurden mit einer Mikrometerschraube (MDC-25SB, Mitutoyo Corporation, Kawasaki, Kanagawa, Japan) bestimmt. Mittelwert und Standardabweichung wurden aus jeweils drei Messwerten berechnet (vgl. Abschnitt 3.1.2.2).

#### 6.2.5.1.2. Off-line / in-line

##### *Zweischichttabletten*

Während des Überzugsprozesses wurden zu 16 verschiedenen Zeitpunkten Proben gezogen. Die Raman Spektren beider Tablettenseiten wurden off-line in einer Probenkammer aufgenommen (vgl. Tabelle 6-7), daraus jeweils ein gewichteter Mittelwert (Faktor 4 aufgrund der unterschiedlichen Messzeiten) berechnet, der für die univariate Modellerstellung herangezogen wurden. Die gemessenen Raman Intensitäten (SNV-transformiert) bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  wurden mit den mittels HPLC Referenzanalytik bestimmten Durchschnittsgehalten aus jeweils 10 Tabletten korreliert. Die daraus errechnete Polynomfunktion 4. Grades konnte für die Prozessverfolgung der Kalibrierungscharge und einer zweiten unabhängigen Validierungscharge verwendet werden (vgl. Abschnitt 3.1.3.2: Abbildung 3-14, Abbildung 3-15 und Abbildung 3-16). Für die Auswertung der Versuche wurde die Software Origin<sup>®</sup> Pro 8.5G (OriginLab Corporation, Northhampton, USA) verwendet.

## 6.2.5.2. Multivariate Modellerstellung

### 6.2.5.2.1. Off-line / in-line

#### *Zweischichttabletten*

Die zum jeweiligen Probezeitpunkt entnommenen Tabletten wurden zweifach von beiden Seiten off-line ramanspektroskopisch vermessen. Die zum Probezeitpunkt für die jeweilige Seite resultierenden Spektren ( $n = 10$ ) wurden gemittelt. Folgende Modellerstellungsstrategien kamen dabei zum Einsatz:

- Modellerstellung basierend auf off-line gemessenen Spektren der gelben Seite zum jeweiligen Probezeitpunkt
- Modellerstellung mittels arithmetischer Mittelwertbildung der unterschiedlichen Tablettenseiten zum jeweiligen Probezeitpunkt.
- Modellerstellung mittels gewichteter Mittelwertbildung: Bei der gewichteten Methode wurden die unterschiedlichen Messzeiten der gelben und roten Tablettenseite (vgl. Tabelle 6-7) in Form eines Korrekturfaktors bei der Mittelwertbildung berücksichtigt.

Für die PLS Modellerstellung mittels SIMCA<sup>®</sup>-P+ 12 (Umetrics, Umeå, Schweden) wurden die jeweiligen Spektren mit dem mittels HPLC-Referenzanalytik bestimmten Wirkstoffauftrag korreliert (vgl. Tabelle 3-2).

#### *Uniforme Nifedipin Tablettenkerne*

Zur Modellerstellung wurden dem Überzugsprozess an 13 Probezeitpunkten Tabletten entnommen. Diese Tabletten wurden zweifach von beiden Seiten off-line ramanspektroskopisch vermessen. Die zum Probezeitpunkt resultierenden Spektren ( $n = 10$ ) wurden gemittelt. Für die PLS Modellerstellung (SIMCA<sup>®</sup>-P+ 12, Umetrics, Umeå, Schweden) wurden die jeweiligen Spektren mit dem mittels HPLC-Referenzanalytik bestimmten Wirkstoffauftrag korreliert (vgl. Tabelle 3-2).

#### **6.2.5.2.2. In-line / in-line Modellerstellung**

##### *Labormaßstab*

Für die in-line Modellerstellung im Labormaßstab wurden die zum Zeitpunkt der Probenziehung gemessenen Raman Spektren mit den mittels HPLC-Referenzanalytik bestimmten durchschnittlichen Wirkstoffaufträgen aus jeweils 10 Tabletten korreliert. Die PLS Modellerstellung (vgl. Tabelle 3-4) erfolgte mit Hilfe der multivariaten Datenanalysesoftware SIMCA<sup>®</sup>-P+ 12 (Umetrics, Umeå, Schweden). Zur Validierung des Modells wurde das kalibrierte Modell mit einer unabhängigen Testcharge überprüft. Abhängig von der Fragestellung wurden für die Validierung Spektren einer Labormaßstab- oder einer Produktionsmaßstab-Charge verwendet.

##### *Produktionsmaßstab*

Die Modellerstellung für den Produktionsmaßstab wurde nach dem gleichen Verfahren durchgeführt wie unter dem Abschnitt Labormaßstab beschrieben wurden. Weitere Angaben zum Kalibriermodell führt Abschnitt 3.3 (Tabelle 3-10) auf. Die Prüfung der kalibrierten Modelle auf ihre Validität erfolgte mit einer Testcharge aus dem Produktionsmaßstab. Durch deutliche längere Probeziehzeiten als im Labormaßstab, währenddessen keine Raman Spektren aufgenommen werden konnten und weiter gesprüht worden ist, wurden die vorhergesagten Wirkstoffaufträge der Spektren vor und nach den Probeziehungen gemittelt und dieser Wert mit dem HPLC-Referenzwert verglichen bzw. für die Berechnung des Vorhersagefehler verwendet.

## 6.3. Analytische Methoden

### 6.3.1. Raman Spektroskopie

#### 6.3.1.1. Messparameter

Mit einem Raman RXN2 Hybrid<sup>TM</sup> Spektrometer (Kaiser Optical Systems, Ann Arbor, USA) wurden sowohl für die off-line als auch die in-line Messungen über ein faseroptisches System (PhAT Sonde, Kaiser Optical Systems, Ann Arbor, USA) kontaktfrei Raman Spektren aufgenommen. Es handelt sich um ein dispersives Raman Spektrometer, das mit einem NIR-Laser (785 nm) zur Anregung der Raman Streuung und mit einem luftgekühlten CCD-Detektor ausgestattet ist. Für die in-line Raman Messungen im Produktionsmaßstab wurde die standardmäßige PhAT-Sonde mit einem 3 m Glasfaserkabel gegen eine Edelstahlversion mit 10 m Kabellänge ausgetauscht. Tabelle 6-7 führt die Messparameter der Raman Spektroskopie auf:

**Tabelle 6-7: Messparameter der Raman Messungen (\*: gelbe Seite der Zweischichttabletten \*\*: Filme, \*\*\*: rote Seite der Zweischichttabletten)**

	off-line	in-line (Labormaßstab)	in-line (Produktionsmaßstab)
<b>Optik</b>	6 mm Spotgröße	6 mm Spotgröße	6 mm Spotgröße
<b>Messaufbau</b>	Probenkammer	Spülhülse	Spülhülse
<b>Messabstand [cm]</b>	22	~22	>30 / ~22
<b>Messzeit [s]</b>	30*/60**/120***	60	60
<b>Dunkelstromabgleich</b>	ja	ja	ja
<b>„cosmic ray filtering“</b>	ja	ja	ja

Während der in-line Raman Messungen schützte eine Spülhülse aus Edelstahl, die mit Druckluft durchspült wurde, die Optik vor Verschmutzung. Vor den Messungen erfolgte ein Dunkelstromabgleich, der eine Dunkelbild-Kalibrierung der Kamera darstellt. Außerdem wurde zur Entfernung von einzelnen Peaks aus den Spektren, die durch kosmische Strahlung verursacht werden, ein „cosmic ray filtering“-Algorithmus angewendet. Die Messsoftware iC Raman<sup>®</sup> 4.1 (Mettler Toledo & Kaiser Optical Systems,

Ann Arbor, USA) führte sowohl den Dunkelstromabgleich als auch das „cosmic ray filtering“ automatisch durch.

### 6.3.1.2. Spektrenvorbehandlung

Die gemessenen Raman Spektren wurden vor der multivariaten Datenanalyse nach einem standardisierten Verfahren vorbehandelt (vgl. Abschnitt 3.1.2). Eine Segmentierung jedes Spektrums, gefolgt von einer variablenabhängigen und objektbezogenen Datenvorverarbeitung, stellte die Vorbehandlung der Spektren dar. Ein Wellenzahlbereich von 1749,9 - 1540,2  $\text{cm}^{-1}$  wurde ausgewählt. Danach wurde mit der Software SIMCA<sup>®</sup>-P+12 (Umetrics, Umeå, Schweden) eine Mittenzentrierung (CTR) und eine SNV-Transformation durchgeführt. Die im Abschnitt 3.1.2.1 untersuchte Pearson-Vorbehandlung konnte mit Hilfe der Messsoftware iC Raman<sup>®</sup> 4.1 (Mettler Toledo & Kaiser Optical Systems, Ann Arbor, USA) durchgeführt werden.

### 6.3.1.3. Validierung der Methode nach EMA

#### 6.3.1.3.1. Richtigkeit, Spezifität und Linearität

##### *Richtigkeit*

Für die entwickelte analytische Methode wurde die Richtigkeit anhand folgender multivariater Parameter überprüft:

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_i^n (y_i - \hat{y}_{ic})^2}{n}} \quad \text{Gl. 6-1}$$

$$BIAS = \frac{\sum_i^n (y_i - \hat{y}_i)}{n} \quad \text{Gl. 6-2}$$

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_i^n (y_i - \hat{y}_{ip})^2}{n}} \quad \text{Gl. 6-3}$$

Somit wurde die Übereinstimmung der mit Hilfe der Referenzanalytik berechneten Analyseergebnissen,  $y_i$ , mit denen durch das Modell vorhergesagten Ergebnissen,  $\hat{y}_{ic}$  bzw.  $\hat{y}_{ip}$ , verglichen. Abhängig davon, ob man sich auf die Kalibrierungscharge oder

Validierungscharge bezieht, erhält man den RMSEC bzw. RMSEP. Dabei beziehen sich die Ergebnisse in Abschnitt 3.4.2.1 auf den Probensatz der Kalibrierung GITS 30 mg im Labormaßstab (vgl. Abschnitt 3.2.3) und der Validierung GITS 30 mg im Produktionsmaßstab (vgl. Abschnitt 3.3.3).

#### *Spezifität*

Die Spezifität der Methode wurde in einem Vergleich der Rohstoffspektren mit den Loadings des multivariaten Modells näher untersucht. Des Weiteren wurden die Scores der x- und y-Datenmatrix ( $t[1]/u[1]$ ) dargestellt, um zu überprüfen, inwiefern ein Zusammenhang zwischen der Varianz in den Raman Spektren (x-Datenmatrix) und dem Anstieg im Wirkstoffauftrag (y-Datenmatrix) besteht. Dies wurde anhand des Probensystems GITS 30 mg (Labormaßstab) gezeigt.

#### *Linearität*

Die Überprüfung der Linearität erfolgte gemäß der DIN Vorschrift 38402 Teil 51 [121] anhand des Probensystems GITS 30 mg (Labormaßstab).

#### **6.3.1.3.2. Präzision**

Zur Bestimmung der Präzision wurden in-line auf drei verschiedenen Coatingleveln Raman Messungen durchgeführt. Die Messparameter sind in Tabelle 6-7 aufgeführt. Als Probensystem dienten GITS 30 mg und GITS 60 mg Chargen sowohl aus dem Labormaßstab als auch aus dem Produktionsmaßstab (vgl. Abschnitt 3.4.3.1).

#### **6.3.1.3.3. Robustheit**

##### *Temperatur*

Am Probensystem GITS 20 mg wurde im Labormaßstab der Einfluss der Temperatur auf die gemessene Raman Intensität bestimmt. 10-minütige Plateauphasen unterbrachen die Aufheizphase von 36,5 bis 49,1 °C. Daran schloss sich ohne Unterbrechung eine kontinuierliche Abkühlphase an. Die Lufttemperatur in der Trommel wurde mit dem Messgerät Testo 625 (Testo, Lenzkirch, Deutschland) bestimmt. Die Auswertung erfolgte univariat bei  $1616,1 \text{ cm}^{-1}$  sowohl mit Rohspektren als auch mit SNV-vorbehandelten Raman Spektren.

*Feuchtigkeit*

Die Lagerung der 15 befilmten Tabletten erfolgte in Hygrostatenkammern. Mit Hilfe gesättigter Salzlösungen ließen sich die jeweiligen relativen Feuchten einstellen. Die Tabletten wurden für 14 Tage unter definierten Bedingungen gelagert und sowohl vor der Lagerung als auch danach off-line raman-spektroskopisch vermessen. Dazu wurden die Tabletten von der gelben Seite für 30 s vermessen.

Die relative Luftfeuchtigkeit wurde mit einem Messgerät (Testo 625, Testo, Lenzkirch, Deutschland) bestimmt.

**Tabelle 6-8: Relative Luftfeuchten in den Hygrostatenkammern**

<b>verwendetes Salz</b>	<b>relative Luftfeuchtigkeit [%] bei 20 °C</b>	<b>Tabletten-Nummer</b>
<b>Kaliumacetat</b>	20	6-10
<b>NaBr*2H<sub>2</sub>O</b>	60	1-5
<b>KBr</b>	84	11-15

Es wurde eine PCA mit zwei Hauptkomponenten aus den 14 Raman Spektren der Tabletten im Wellenzahlbereich 1749,9 - 1540,2 cm<sup>-1</sup> durchgeführt. Dabei wurde dieselbe Vorbehandlungsstrategie angewendet, die auch bei allen vorherigen Modellerstellungen verwendet wurde. Des Weiteren wurde der Einfluss der Feuchtigkeit auf die Vorhersage des Wirkstoffauftrages getestet. Dazu wurden die Raman Spektren vor und nach der Lagerung als unabhängiges Validierdatenset für ein erstelltes PLS Modell (n = 124, PC: 2, ctr, SNV, 1749,9 - 1540,2 cm<sup>-1</sup>) verwendet. Um zu testen, ob die Mittelwerte zweier voneinander abhängiger Verteilungen signifikant verschieden sind, wurde ein Student-t-Test ( $\alpha = 5\%$ ) für abhängige Stichproben durchgeführt.

## 6.3.2. HPLC

### 6.3.2.1. Methodenentwicklung

In Anlehnung an eine existierende Gehaltsbestimmungsmethode der Bayer Pharma AG wurde eine neue HPLC-Methode entwickelt, indem die Säulenmaterialien und methodenspezifische Parameter angepasst wurden. So wurde eine „ultra-fast HPLC“ Methode (ULPC, Partikelgrößen  $\leq 2,5 \mu\text{m}$ ) auf eine konventionelle und isokratische HPLC Analytik (LaChrom Elite<sup>®</sup>, VWR-Hitachi, Darmstadt, Deutschland) mit einer Partikelgröße des Säulenmaterials von  $3,5 \mu\text{m}$  übertragen. Die Gerätekonfiguration und die Parameter der HPLC-Methode sind in Tabelle 6-9 und Tabelle 6-10 angegeben:

**Tabelle 6-9: HPLC-System LaChrom Elite<sup>®</sup>**

Pumpe	Autosampler	Säulenofen	Detektor
L-2130	L-2200	L-2300	L-2400

Die Auftrennung der Proben und Quantifizierung von Candesartancilexetil erfolgte mit einer Säule der Firma Waters (XBridge<sup>™</sup> C18, Milford, USA). Die Flussrate betrug  $0,6 \text{ ml/min}$  und als mobile Phase wurde eine  $80:20 \text{ (V/V)}$  Mischung aus Methanol und einem  $5 \text{ mM}$  Phosphatpuffer  $\text{pH } 3$  eingesetzt. Die UV-Detektion erfolgte im Absorptionsmaximum von  $260 \text{ nm}$ . Für Candesartancilexetil ergab sich unter diesen Bedingungen eine Retentionszeit von ca.  $3,2 \text{ min}$ .

#### *Probenvorbereitung*

Zur Quantifizierung musste die vorliegende Arzneiform so aufbereitet werden, dass der Wirkstoff gelöst vorlag. Dazu wurde nach einem vierstufigen Verfahren vorgegangen:

Ein GIT wurde zunächst mit  $10 \text{ ml}$  Wasser versetzt und für  $10 \text{ min}$  stehen gelassen. Danach schloss sich eine  $20\text{-minütige}$  Behandlung im Ultraschall (Sonorex Super 10 P, Bandelin, Berlin, Deutschland) an. Nachdem mit ca.  $80 \text{ ml}$  Methanol aufgefüllt worden war, wurde die Probe erneut für mindestens  $20 \text{ min}$  mit Ultraschall behandelt. Die mit Methanol auf  $100,0 \text{ ml}$  aufgefüllten Proben wurden anschließend bei  $3000 \text{ UpM}$  für  $5 \text{ min}$  zentrifugiert (Heraeus Multifuge 1L, Thermo Scientific, Waltham, USA). In einem letzten Schritt wurden die Proben  $1:10 \text{ (V/V)}$  verdünnt und durch einen Einmalfilter ( $25 \text{ mm}$

Spritzenvorsatzfilter, Polypropylen Membran, VWR, Darmstadt, Deutschland) mit der Porengröße 0,45 µm filtriert.

**Tabelle 6-10: HPLC-Methode: Parameter**

<b>stationäre Phase</b>	XBridge™ C18
<b>Vorsäule</b>	
<b>Partikelgröße [µm]</b>	3,5
<b>Durchmesser / Länge [mm]</b>	3,0 x 20
<b>Hauptsäule</b>	
<b>Partikelgröße [µm]</b>	3,5
<b>Durchmesser / Länge [mm]</b>	3,0 x 150
<b>Temperatur [°C]</b>	40
<b>Flussrate [ml/min]</b>	0,6
<b>Druck [bar]</b>	210 - 230
<b>Injektionsvolumen [µl]</b>	5
<b>Detektion [nm]</b>	260

### 6.3.2.2. Validierung der Methode

Da die HPLC-Analytik als Referenzanalytik für die multivariate Modellerstellung verwendet wurde und diese Modellerstellungsmethode wiederum selbst für eine Prozessapplikation validiert werden sollte, galt es ebenso die vorliegende HPLC-Methode nach den Richtlinien der ICH Q2 [116] auf ihre Validität zu überprüfen.

Tabelle 6-11: Validierungskriterien für eine Gehaltsbestimmung nach ICH Q2 [116]

Validierungskriterien	Gehaltsbestimmung
<b>Richtigkeit</b>	+
<b>Präzision</b>	
<b>Wiederholbarkeit</b>	+
<b>Vergleichspräzision</b>	+
<b>Spezifität</b>	+
<b>Nachweisgrenze</b>	-
<b>Bestimmungsgrenze</b>	-
<b>Linearität</b>	+
<b>Arbeitsbereich</b>	+
<b>Robustheit</b>	-

Die Prüfung auf Robustheit des Verfahrens ist laut ICH-Guideline nicht vorgeschrieben. Weiterhin sind die Bestimmung der Erfassungs- und Bestimmungsgrenze im Rahmen der vorliegenden Methode nicht erforderlich.

### *Richtigkeit*

Die Prüfung auf additive ( $a \neq 0$ , Achsenabschnitt) oder multiplikative ( $b \neq 1$ , Steigung) systematische Fehler mittels indirekter Regression erfolgte an einer realen Probe [120]: Eine Probe (GITS mit active coating) wurde entsprechend der Prüfvorschrift aufbereitet und auf drei Probenaufgeteilt:

- Probe A: 10,0 ml der Probenlösung wurden mit Lösungsmittel (Methanol / Wasser: 10:1, V/V) auf 20,0 ml verdünnt
- Probe B: 20,0 ml der Probenlösung
- Probe C: 10,0 ml der Probenlösung werden mit einer Kalibrierlösung (10 ml; 0.0379 mg/ml Candesartancilexetil;  $x_+$ ) versetzt.

Von jeder Probe ( $x_1$  (Probe A),  $x_2$  (Probe B) und  $x_3$  (Probe C)) wurden drei Messungen durchgeführt.

$$a = 2 * x_1 - x_2 \text{ und } b = \frac{x_3 - x_1}{x_+} \quad \text{Gl. 6-4}$$

$$\bar{a} = -0,002 \text{ und } \bar{b} = 1,009$$

Der anschließende t-Test ( $\alpha = 0,05$ ;  $f = n - 1$ ) zeigte, dass sich der Achsenabschnitt nicht signifikant von null bzw. die Steigung sich nicht signifikant von 1 unterscheidet.

Zur Zeit der Validierung der Methode und der HPLC-Analytik selbst stand aus patentrechtlichen Gründen noch keine Referenzsubstanz (Candesartancilexetil CRS) zur Verfügung. Lediglich der Reinstoff der Firma lag vor.

*Präzision*

Messpräzision:

Eine Lösung von Candesartancilexetil (Probe A: 8 mg) wurde dreimal hintereinander vermessen (Wiederholbarkeit) bzw. an sechs verschiedenen Tagen von zwei unterschiedlichen Mitarbeitern je dreimal vermessen (Vergleichspräzision).

Methodenpräzision:

Es wurden 2 Proben folgender Zusammensetzung hergestellt (Probe B und C):

- Probe B: 1 GITS + 16 mg Candesartancilexetil
- Probe C: 32 mg Candesartancilexetil + 48 mg Opadry®

Die Zusammensetzung entsprach der eines fertig lackierten GITS. Die Standardabweichung wurde aus jeweils drei Bestimmungen bestimmt.

**Tabelle 6-12: Bestimmung der Wiederholbarkeit und Vergleichspräzision**

	Wiederholbarkeit VK [%]	Vergleichspräzision VK [%]
<b>A</b>	0,26	0,69
<b>B</b>	0,12	0,80
<b>C</b>	0,23	0,72

*Spezifität*

Drei synthetisch hergestellte Probelösungen wurden verglichen. Der Einfluss der Matrixbestandteile auf das Verfahren sollte überprüft werden,

- Probe 1: Matrixlösung (1 GITS + 48 mg Opadry<sup>®</sup>)
- Probe 2: Analytlösung (Candesartancilexetil 16 mg/100 ml)
- Probe 3: Matrix + Analyt (1 GITS + 48 mg Opadry<sup>®</sup> + 16 mg/100 ml Candesartancilexetil)

Es wurden jeweils drei Bestimmungen durchgeführt.

**Tabelle 6-13: Bestimmung der Spezifität I (nd: nicht detektierbar)**

	Wirkstoff [mg]	VK [%]
<b>Matrix</b>	nd	nd
<b>Analyt</b>	16,05	0,30
<b>Matrix + Analyt</b>	16,09	0,44

Des Weiteren wurde die Wiederfindungsrate (W) bestimmt. Dazu wurden drei Lösungen hergestellt, die jeweils dreifach vermessen wurden. Der jeweilige Mittelwert ging in die Berechnung ein (vgl. Gl. 6-5):

- Probe A: Probelösung und Kalibrierlösung (je 10 ml)
- Probe B: Probelösung und Lösungsmittel (je 10 ml)
- Probe C: Lösungsmittel und Kalibrierlösung (je 10 ml)

Als Probelösung wurde das aufgearbeitete Endprodukt einer Herstellungsladung und als Kalibrierlösung eine 0,0081 mg/ml konzentrierte Standardlösung verwendet.

$$W = \left[ \frac{A - B}{C} \right] * 100[\%] \quad \text{Gl. 6-5}$$

$$W = 102 \%$$

Die Wiederfindungsrate beträgt 102 %.

*Linearität*

Es wurden 10 Lösungen verschiedener Konzentrationen hergestellt. Der Arbeitsbereich umfasste die Konzentrationen von 2 mg – 32 mg / 100 ml Candesartancilexetil. Entsprechend der ICH-Guideline Q2 wurde der zu vermessende Bereich auf ca.  $\pm 30\%$  der Arbeitsbereichsgrenzen ausgeweitet (41,6 mg – 1,4 mg / 100 ml). Jede Lösung wurde dreifach vermessen. Es wurde der F-Test nach Mandel zur Überprüfung der Linearität durchgeführt [121]:

$$f_1 = 1, f_2 = N - 3, P = 99\% \text{ bei } N = 7, F = 21,20$$

$$\text{Prüfwert (PW)} = 16,22$$

$$PW \leq F$$

Die Kalibrierfunktion kann in dem untersuchten Arbeitsbereich als linear angesehen werden.

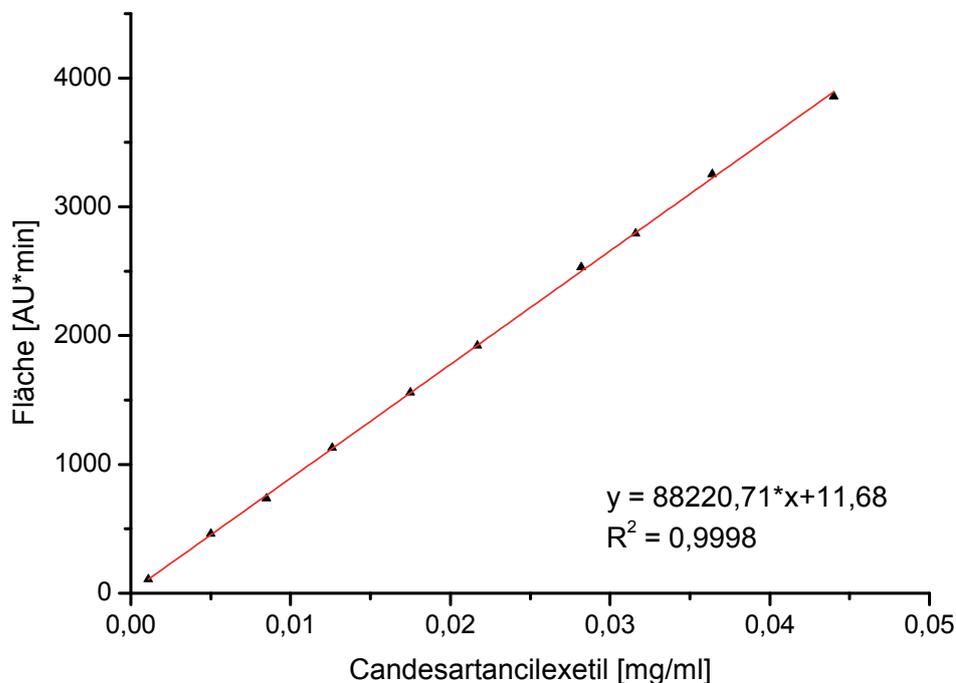


Abbildung 6-3: Darstellung der Kalibriergeraden der HPLC-Referenzmethode

### *Arbeitsbereich*

Der Arbeitsbereich der HPLC-Methode ist der Konzentrationsbereich des Wirkstoffs in der Probe, der mit einem akzeptablen Maß an Präzision, Richtigkeit und Linearität angegeben werden kann. Laut ICH Richtlinie liegt der empfohlene Arbeitsbereich zwischen 80 und 120 % der Zielkonzentration. Dies konnte im Rahmen der Linearitätsüberprüfung für die vorliegende HPLC Methode nachgewiesen werden.

### **6.3.3. Bestimmung der Filmdicke**

Zur Bestimmung der geometrischen Abmessungen der Tablettenkerne und der Filmdicke der überzogenen Tablettenkerne wurde ein Bildanalyse-System verwendet. Das System bestand aus einer Kaltlichtlampe (Leica KL 1500, Cambridge, UK), einem Stereomikroskop (Leica MZ 75, Cambridge, UK), einer Digitalkamera (CS300 F, auch Leica) und einer Bildanalyse-Software (Qwin<sup>®</sup>, Leica, Cambridge, UK).

Zur Bestimmung der Filmdicke wurden pro Probenzug jeweils fünf Tabletten diametral mit einem Tablettenteiler (Exakt<sup>®</sup> Tablettenteiler, MEDA Pharma, Bad Homburg, Deutschland) durchgeschnitten und die Filmdicke an 10 unterschiedlichen Messpunkten bestimmt (vgl. Abbildung 6-4).

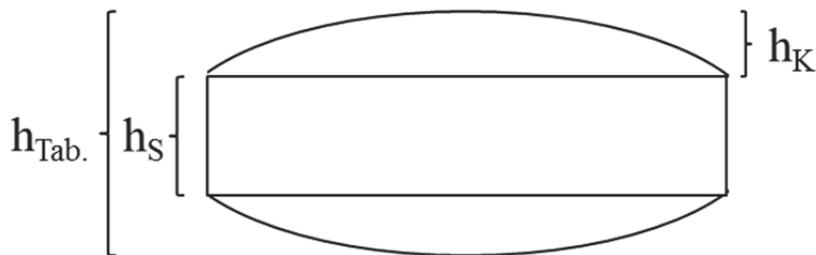


**Abbildung 6-4: Vertikalschnitt durch Probenmuster „554 min“ (uniformer Nifedipin Tablettenkern)**

Zur Bestimmung der geometrischen Kennzahlen, wie z.B. der Tablettenoberfläche, wurde derselbe Messaufbau verwendet. Mit Hilfe der Gleichung 6-6 konnte somit die Oberfläche berechnet werden [135]:

$$A = 2\pi \cdot \left( \frac{d}{2} \cdot h_s + \left( \frac{d}{2} \right)^2 + h_K^2 \right) \quad \text{Gl. 6-6}$$

Wobei der Durchmesser auf Steghöhe,  $d$ , die Steghöhe,  $h_s$ , und die Kalottenhöhe,  $h_K$  dafür verwendet werden (vgl. Abbildung 6-5).



**Abbildung 6-5: Geometrische Kennzahlen einer bikonvexen runden Tablette (Seitenansicht)**

## 7. Literatur

1. FDA - Food and Drug Administration, *Guidance for industry: PAT - A framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing and quality assurance*. 2004.
2. ICH - International Conference on Harmonization, *Guidance for industry - Pharmaceutical development (Q8)*. 2005.
3. EMA - European Medicines Agency, *Guideline on process validation (Draft)*. 2012.
4. Ph. Eur. PAT Working Party, European Pharmacopeia Commission, *Demonstration of uniformity of dosage units using large sample sizes (Proposal: Ph. Eur. 2.9.47)*. 2011.
5. V. Kumar, B. Prasad und S. Singh, *Pharmaceutical issues in the development of a polypill for the treatment of cardiovascular diseases*. Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies, 2008. **5**(1): p. 63-71.
6. WHO - World Health Organization - Department of Essential Drugs and Medicines Policy, *Priority medicines for Europe and the World - WHO/EDM/PAR/2004.7*. 2004.
7. WHO - World Health Organization, *Guidelines for registration of fixed-dose combination medicinal products*. 2005.
8. S. Yusuf et al., *Effects of a polypill (Polycap) on risk factors in middle-aged individuals without cardiovascular disease (TIPS): A phase II, double-blind, randomised trial*. Lancet, 2009. **373**(9672): p. 1341-51.
9. N. J. Wald und M. R. Law, *A strategy to reduce cardiovascular disease by more than 80 %*. British Medical Journal, 2003. **326**(7404): p. 1419-23.
10. A. Guglietta und M. Guerrero, *Issues to consider in the pharmaceutical development of a cardiovascular polypill*. Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine, 2009. **6**(2): p. 112-19.
11. S. S. Bharate, B. B. Bharate und A. N. Bajaj, *Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: A comprehensive review*. Journal of Excipients and Food Chemistry, 2010. **1**(3): p. 3-26.
12. W. A. Ritschel und A. Bauer-Brandl, *Die Tablette: Handbuch der Entwicklung, Herstellung und Qualitätssicherung*: ECV- Editio Cantor Verlag, Aulendorf 2002.
13. G. S. Banker und C. T. Rhodes, *Modern Pharmaceutics*: Marcel Dekker Inc., New York - Basel 2002.

14. D. Desai, J. Wang, H. Wen, X. Li und P. Timmins, *Formulation design, challenges, and development considerations for fixed dose combination (FDC) of oral solid dosage forms*. Pharmaceutical Development and Technology, 2012. DOI 10.3109/10837450.2012.660699.
15. G. J. Vergote, F. Kiekens, C. Vervaet und J. P. Remon, *Wax beads as cushioning agents during the compression of coated diltiazem pellets*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2002. **17**(3): p. 145-51.
16. H. Stricker, *Arzneiformen-Entwicklung: Feste Zubereitungen*: Springer-Verlag, Heidelberg 2003.
17. F. Eisenacher, A. Schädlich und K. Mäder, *Monitoring of internal pH gradients within multi-layer tablets by optical methods and EPR imaging*. International Journal of Pharmaceutics, 2011. **417**(1-2): p. 204-15.
18. L. Benkerrou, O. Galley, F. Quinet, A. Abebe und P. Timmins, *Multilayered tablet containing pravastatin and aspirin and method*. US 2004/0115265 A1. 2004.
19. A. Kulkarni und M. Bhatia, *Development and evaluation of regioselective bilayer floating tablets of atenolol and lovastatin for biphasic release profile*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2009. **8**(1): p. 15-25.
20. J. Nirmal et al., *Bilayer tablets of atorvastatin calcium and nicotinic acid: Formulation and evaluation*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2008. **56**(10): p. 1455-58.
21. M. Efentakis und C. Peponaki, *Formulation study and evaluation of matrix and three-layer tablet sustained drug delivery systems based on carbopols with isosorbite mononitrate*. AAPS PharmSciTech, 2008. **9**(3): p. 917-23.
22. A. Streubel, J. Siepmann, N. A. Peppas und R. Bodmeier, *Bimodal drug release achieved with multi-layer matrix tablets: Transport mechanisms and device design*. Journal of Controlled Release, 2000. **69**(3): p. 455-68.
23. S. R. Vaithiyalingam und V. A. Sayeed, *Critical factors in manufacturing multi-layer tablets - Assessing material attributes, in-process controls, manufacturing process and product performance*. International Journal of Pharmaceutics, 2010. **398**(1-2): p. 9-13.
24. F. Podczek, *Theoretical and experimental investigations into the delamination tendencies of bilayer tablets*. International Journal of Pharmaceutics, 2011. **408**(1-2): p. 102-12.
25. S. P. Li et al., *Evaluation of bilayer tablet machines - A case-study*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 1995. **21**(5): p. 571-90.
26. P. Kleinebudde. Habilitationsschrift: Pharmazeutische Pellets durch Extrudieren / Sphäronisieren. Christian-Albrechts-Universität Kiel 1997.

27. K. Knop, *Pellets*, in *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis*, Springer Verlag, Berlin 1991.
28. I. Ghebre-Sellassie, *Pellets: A general overview*, in *Pharmaceutical pelletization technology*, Marcel Dekker, New York 1989.
29. M. Ishida, K. Abe, M. Hashizume und M. Kawamura, *A novel approach to sustained pseudoephedrine release: Differentially coated mini-tablets in HPMC capsules*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008. **359**(1-2): p. 46-52.
30. D. Desai et al., *An active film-coating approach to enhance chemical stability of a potent drug molecule*. *Pharmaceutical Development and Technology*, 2012. **17**(2): p. 227-35.
31. R. D. Lipper, D. Desai und S. Kiang, *Case study: Implementation of design space.*, in *AAPS: Real world applications of PAT and QbD in drug process development and approval*. Arlington, USA 2006.
32. D. S. Desai und B. V. Li, *Coated tablet formulation and method*. US 2005/0266080 A1. 2011.
33. N. Pourkavoos, *Pharmaceutical compositions of a combination of metformin and a dipeptidyl peptidase-IV inhibitor*. US 2010/0330177 A1. 2010.
34. S. T. Charlton und S. J. Nicholson, *A novel immediate release active film coat formulation for use with an extended release gel matrix tablet core*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2010. **62**(10): p. 1397-98.
35. A. Kuhl et al., *Pharmaceutical dosage form comprising nifedipine or nisoldipine an angiotension-II antagonist and/or a diuretic*. EP 2370065 A1. 2011.
36. L. X. Yu, *Pharmaceutical quality by design: Product and process development, understanding, and control*. *Pharmaceutical Research*, 2008. **25**(4): p. 781-91.
37. FDA - Food and Drug Administration, *Pharmaceutical current Good Manufacturing Practices (cGMPs) for the 21<sup>st</sup> century - A risk-based approach*. 2003.
38. ICH - International Conference on Harmonization, *Guidance for industry - Quality risk management (Q9)*. 2005.
39. M. Levin, *How to scale up scientifically: Scaling up manufacturing process*. *Pharmaceutical Technology*, 2005. **3**: p. 4s-12s.
40. P. Pandey, M. Katakdaunde und R. Turton, *Modeling weight variability in a pan coating process using Monte Carlo simulations*. *AAPS PharmSciTech*, 2006. **7**(4): p. 1-10.
41. A. Kalbag und C. Wassgren, *Inter-tablet coating variability: Tablet residence time variability*. *Chemical Engineering Science*, 2009. **64**(11): p. 2705-17.

42. R. Turton, *The application of modeling techniques to film-coating processes*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2010. **36**(2): p. 143-51.
43. E. Sahni und B. Chaudhuri, *Experimental and modeling approaches in characterizing coating uniformity in a pan coater: A literature review*. Pharmaceutical Development and Technology, 2012. **17**(2): p. 134-47.
44. D. Suzzi et al., *DEM simulation of continuous tablet coating: Effects of tablet shape and fill level on inter-tablet coating variability*. Chemical Engineering Science, 2012. **69**(1): p. 107-21.
45. W. Chen et al., *Modeling of pan coating processes: prediction of tablet content uniformity and determination of critical process parameters*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010. **99**(7): p. 3213-25.
46. J. Wang et al., *An evaluation of process parameters to improve coating efficiency of an active tablet film-coating process*. International Journal of Pharmaceutics, 2012. **427**(2): p. 163-9.
47. R. W. Kessler, *Prozessanalytik: Strategien und Fallbeispiele aus der industriellen Praxis*: Wiley-VCH Verlag, Weinheim 2006.
48. K. Danzer, H. Hobert, C. Fischbacher und K.-U. Jagemann, *Chemometrik - Grundlagen und Anwendungen*: Springer Verlag, Berlin 2001.
49. S. Wold, *Chemometrics: What do we mean with it and what do we want from it*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1995. **30**: p. 109-15.
50. M. A. Sharaf, D. L. Illman und B. R. Kowalski, *Chemometrics*: John Wiley & Sons, New York 1986.
51. K. R. Beebe, R. J. Pell und M. B. Seasholtz, *Chemometrics: A practical guide*: John Wiley & Sons, New York 1998.
52. L. Eriksson et al., *Multi- and megavariate data analysis - Part I - Basic principles and applications*: Umetrics, Umea 2006.
53. H. Martens und M. Martens, *Multivariate analysis of quality - An introduction*: Wiley, Chichester 2010.
54. T. Naes, T. Isaksson, T. Fearn und T. Davis, *Multivariate calibration and classification*: NIR Publications, Chichester 2002.
55. W. Kessler, *Multivariate Datenanalyse für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik*: Wiley-VCH Verlag, Weinheim 2007.
56. T. R. M. De Beer et al., *Near infrared and Raman spectroscopy for the in-process monitoring of pharmaceutical production processes*. International Journal of Pharmaceutics, 2011. **417**(1-2): p. 32-47.

57. C. M. McGoverin, T. Rades und C. Keith, *Recent pharmaceutical applications of Raman and Terahertz spectroscopies*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008. **97**(11): p. 4598-621.
58. G. Fini, *Applications of Raman spectroscopy to pharmacy*. Journal of Raman Spectroscopy, 2004. **35**(5): p. 335-37.
59. R. K. May et al., *Terahertz in-line sensor for direct coating thickness measurement of individual tablets during film coating in real-time*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2011. **100**(4): p. 1535-44.
60. V. Malaterre et al., *Terahertz pulsed imaging, a novel process analytical tool to investigate the coating characteristics of push-pull osmotic systems*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2008. **74**(1): p. 21-25.
61. A. S. El Hagrasy, S. Y. Chang, D. Desal und S. Kiang, *Raman spectroscopy for the determination of coating uniformity of tablets: Assessment of product quality and coating pan mixing efficiency during scale-up*. Journal of Pharmaceutical Innovation, 2006. **1**(1): p. 37-42.
62. S. Romero-Torres, J. D. Pérez-Ramos, K. R. Morris und E. R. Grant, *Raman spectroscopic measurement of tablet-to-tablet coating variability*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005. **38**(2): p. 270-74.
63. G. J. Vergote et al., *In-line monitoring of a pharmaceutical blending process using FT-Raman spectroscopy*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2004. **21**(4): p. 479-85.
64. D. S. Hausman, R. T. Cambron und A. Sakr, *Application of Raman spectroscopy for on-line monitoring of low dose blend uniformity*. International Journal of Pharmaceutics, 2005. **298**(1): p. 80-90.
65. T. R. M. De Beer et al., *Raman spectroscopy as a Process Analytical Technology (PAT) tool for the in-line monitoring and understanding of a powder blending process*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2008. **48**(3): p. 772-79.
66. A. S. El-Hagrasy, F. D'amico und J. K. Drennen, *A Process Analytical Technology approach to near-infrared process control of pharmaceutical powder blending. Part I: D-optimal design for characterization of powder mixing and preliminary spectral data evaluation*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006. **95**(2): p. 392-406.
67. A. S. El-Hagrasy, M. Delgado-Lopez und J. K. Drennen, *A Process Analytical Technology approach to near-infrared process control of pharmaceutical powder blending: Part II: Qualitative near-infrared models for prediction of blend homogeneity*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006. **95**(2): p. 407-21.

68. A. S. El-Hagrasy und J. K. Drennen, *A Process Analytical Technology approach to near-infrared process control of pharmaceutical powder blending. Part III: Quantitative near-infrared calibration for prediction of blend homogeneity and characterization of powder mixing kinetics*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006. **95**(2): p. 422-34.
69. H. Zhang, Z. D. Jiang, J. Y. Pi, H. K. Xu und R. Du, *On-line monitoring of pharmaceutical production processes using Hidden Markov Model*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009. **98**(4): p. 1487-98.
70. J. Rantanen, H. Wikstrom, F. E. Rhea und L. S. Taylor, *Improved understanding of factors contributing to quantification of anhydrate/hydrate powder mixtures*. Applied Spectroscopy, 2005. **59**(7): p. 942-51.
71. J. A. Williams und W. Bonawi-Tan, *Online quality control with Raman spectroscopy in pharmaceutical tablet manufacturing*. Journal of Manufacturing Systems, 2004. **23**(4): p. 299-308.
72. S. H. Tabasi, R. Fahmy, D. Bensley, C. O'Brien und S. W. Hoag, *Quality by design, part I: Application of NIR spectroscopy to monitor tablet manufacturing process*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008. **97**(9): p. 4040-51.
73. M. D. Mowery et al., *Rapid at-line analysis of coating thickness and uniformity on tablets using laser induced breakdown spectroscopy*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002. **28**(5): p. 935-43.
74. C. V. Möltgen, T. Puchert, J. C. Menezes, D. Lochmann und G. Reich, *A novel in-line NIR spectroscopy application for the monitoring of tablet film coating in an industrial scale process*. Talanta, 2012. **92**(0): p. 26-37.
75. M. C. Madamba, W. M. Mullett, S. Debnath und E. Kwong, *Characterization of tablet film coatings using a laser-induced breakdown spectroscopic technique*. AAPS PharmSciTech, 2007. **8**(4): p. 103.
76. L. Maurer und H. Leuenberger, *Terahertz pulsed imaging and near infrared imaging to monitor the coating process of pharmaceutical tablets*. International Journal of Pharmaceutics, 2009. **370**(1-2): p. 8-16.
77. J. J. Moes, M. M. Ruijken, E. Gout, H. W. Frijlink und M. I. Ugwoke, *Application of Process Analytical Technology in tablet process development using NIR spectroscopy: Blend uniformity, content uniformity and coating thickness measurements*. International Journal of Pharmaceutics, 2008. **357**(1-2): p. 108-18.
78. C. Buschmüller, W. Wiedey, C. Döscher, J. Dressler und J. Breitreutz, *In-line monitoring of granule moisture in fluidized-bed dryers using microwave resonance technology*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2008. **69**(1): p. 380-7.
79. J. F. Gamble, A. B. Dennis und M. Tobyn, *Monitoring and end-point prediction of a small scale wet granulation process using acoustic emission*. Pharmaceutical Development and Technology, 2009. **14**(3): p. 299-304.

80. A. Tok, X. P. Goh, W. Ng und R. Tan, *Monitoring granulation rate processes using three PAT tools in a pilot-scale fluidized bed*. AAPS PharmSciTech, 2008. **9**(4): p. 1083-91.
81. J. Rantanen, H. Wikstrom, R. Turner und L. S. Taylor, *Use of in-line near-infrared spectroscopy in combination with chemometrics for improved understanding of pharmaceutical processes*. Analytical Chemistry, 2005. **77**(2): p. 556-63.
82. M. Halstensen, P. De Bakker und K. H. Esbensen, *Acoustic chemometric monitoring of an industrial granulation production process - a PAT feasibility study*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2006. **84**(1-2): p. 88-97.
83. K. R. Morris et al., *Accelerated fluid bed drying using NIR monitoring and phenomenological modeling*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2000. **26**(9): p. 985-88.
84. A. Hartung, M. Knöll, U. Schmidt und P. Langguth, *Role of continuous moisture profile monitoring by inline NIR spectroscopy during fluid bed granulation of an enalapril formulation*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2011. **37**(3): p. 274-80.
85. A. Peinado, J. Hammond und A. Scott, *Development, validation and transfer of a near infrared method to determine in-line the end point of a fluidised drying process for commercial production batches of an approved oral solid dose pharmaceutical product*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2011. **54**(1): p. 13-20.
86. J. Müller, K. Knop, J. Thies, C. Uerpmann und P. Kleinebudde, *Feasibility of Raman spectroscopy as PAT tool in active coating*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2010. **36**(2): p. 234-43.
87. C. Gendre, M. Boiret, M. Genty, P. Chaminade und J. M. Pean, *Real-time predictions of drug release and end point detection of a coating operation by in-line near infrared measurements*. International Journal of Pharmaceutics, 2011. **421**(2): p. 237-43.
88. J. Y. Kim et al., *Investigation of an active film coating to prepare new fixed-dose combination tablets for treatment of diabetes*. International Journal of Pharmaceutics, 2012. **427**(2): p. 201-8.
89. A. El Hagrasy, S. Y. Chang, D. Desai und S. Kiang, *Application of Raman spectroscopy for quantitative in-line monitoring of tablet coating*. American Pharmaceutical Review, 2006. **9**(1): p. 40-45.
90. J. D. Perez-Ramos, W. P. Findlay, G. Peck und K. R. Morris, *Quantitative analysis of film coating in a pan coater based on in-line sensor measurements*. AAPS PharmSciTech, 2005. **6**(1): p. E127-36.
91. A. Bogomolov, M. Engler, M. Melichar und A. Wigmore, *In-line analysis of a fluid bed pellet coating process using a combination of near infrared and Raman spectroscopy*. Journal of Chemometrics, 2010. **24**(7-8): p. 544-57.

92. C. Gendre et al., *Development of a Process Analytical Technology (PAT) for in-line monitoring of film thickness and mass of coating materials during a pan coating operation*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2011. **43**(4): p. 244-50.
93. C. V. Raman und K. S. Krishnan, *A new type of secondary radiation*. Nature, 1928. **121**: p. 501-02.
94. I. R. Lewis und H. G. M. Edwards, *Handbook of Raman spectroscopy: From the research laboratory to the process line*: Marcel Dekker Inc., New York Basel, 2001.
95. H. W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata und H. M. Heise, *Introduction to Infrared and Raman spectroscopy*: Wiley-VCH Verlag, Weinheim 2002.
96. J. R. Ferraro, K. Nakamoto und C. W. Brown, *Introductory Raman spectroscopy*: Academic Press, Boston 2003.
97. M. Wirges et al., *From mini to micro scale - Feasibility of Raman spectroscopy as a Process Analytical Tool (PAT)*. Pharmaceutics, 2011. **3**(4): p. 723-30.
98. S. Romero-Torres, J. D. Pérez-Ramos, K. R. Morris und E. R. Grant, *Raman spectroscopy for tablet coating thickness quantification and coating characterization in the presence of strong fluorescent interference*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006. **41**(3): p. 811-19.
99. J. Müller, D. Brock, K. Knop, A. J. Zeitler und P. Kleinebudde, *Prediction of dissolution time and coating thickness of sustained release formulations using Raman spectroscopy and Terahertz Pulsed Imaging*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2012. **80**(3): p. 690-7.
100. J. Müller. Dissertation: Raman Spektroskopie als PAT-Methode bei Coating von Tabletten im Trommelcoater. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf 2010.
101. H. Swierenga, A. P. De Weijer, R. J. Van Wijk und L. M. C. Buydens, *Strategy for constructing robust multivariate calibration models*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1999. **49**(1): p. 1-17.
102. Y. Wang, D. J. Veltkamp und B. R. Kowalski, *Multivariate instrument standardization*. Analytical Chemistry, 1991. **63**(23): p. 2750-56.
103. J. S. Shenk, M. O. Westerhaus und W. C. Templeton, *Calibration transfer between near infrared reflectance spectrophotometers*. Crop Science. **25**(1): p. 159-61.
104. E. Bouveresse und D. L. Massart, *Standardisation of near-infrared spectrometric instruments: A review*. Vibrational Spectroscopy, 1996. **11**(1): p. 3-15.
105. J. Huang, S. Romero-Torres und M. Moshgbar, *Practical considerations in data pre-treatment for NIR and Raman Spectroscopy*. American Pharmaceutical Review, 2010. **13**(6): p. 116-25.

106. K. A. Bakeev, *Process Analytical Technology*: John Wiley & Sons Verlag, West Sussex, UK, 2010.
107. G. A. Pearson, *General baseline-recognition and baseline-flattening algorithm*. Journal of Magnetic Resonance, 1977. **27**(2): p. 265-72.
108. T. Bocklitz, A. Walter, K. Hartmann, P. Rösch und J. Popp, *How to pre-process Raman spectra for reliable and stable models?* Analytica Chimica Acta, 2011. **704**(1–2): p. 47-56.
109. K. Baert et al., *Using Raman spectroscopy as a tool for the detection of iron in glass*. Journal of Raman Spectroscopy, 2011. **42**(9): p. 1789-95.
110. K. Castro, M. Perez-Alonso, M. D. Rodriguez-Laso, L. A. Fernandez und J. M. Madariaga, *On-line FT-Raman and dispersive Raman spectra database of artists' materials (e-VISART database)*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2005. **382**(2): p. 248-58.
111. R. J. Barnes, M. S. Dhanoa und S. J. Lister, *Standard Normal Variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra*. Applied Spectroscopy, 1989. **43**(5): p. 772-77.
112. M. S. Dhanoa, S. J. Lister, R. Sanderson und R. J. Barnes, *The link between Multiplicative Scatter Correction (MSC) and Standard Normal Variate (SNV) transformations of NIR spectra*. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 1994. **2**(1): p. 43-47.
113. S. E. J. Bell, *Quantitative analysis of solid dosage formulations by Raman spectroscopy*, in *Pharmaceutical applications of Raman spectroscopy*, S. Sasic, Editor, John Wiley & Sons Inc., Hoboken, USA, 2008.
114. R. L. Mc Creery, *Photometric standards for Raman spectroscopy*, in *Handbook of vibrational spectroscopy*, J.M. Chalmers and P.R. Griffith, Editors., John Wiley & Sons, Chichester 2002.
115. J. Müller, K. Knop, M. Wirges und P. Kleinebudde, *Validation of Raman spectroscopic procedures in agreement with ICH guideline Q2 with considering the transfer to real time monitoring of an active coating process*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010. **53**(4): p. 884-94.
116. ICH - International Conference on Harmonisation, *Guideline for industry - Validation of analytical procedures: Methodology ICH-Q2B*. 1995.
117. H. Mark et al., *Validation of a near-infrared transmission spectroscopic procedure, part A: Validation protocols*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002. **28**(2): p. 251-60.
118. G. E. Ritchie et al., *Validation of a near-infrared transmission spectroscopic procedure. Part B: Application to alternate content uniformity and release assay methods for pharmaceutical solid dosage forms*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002. **29**(1-2): p. 159-71.

119. EMA - European Medicines Agency, *Guideline on the use of Near Infrared Spectroscopy (NIRS) by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations*. 2012.
120. S. Kromidas, *Handbuch Validierung in der Analytik*: Wiley-VCH Verlag, Weinheim 2011.
121. Deutsches Institut für Normung, *DIN 38402 Teil 51: Kalibrierung von Analyseverfahren, Auswertung von Analyseergebnissen und linearen Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenngrößen (A51)*. 1986.
122. Deutsches Institut für Normung, *DIN 55350-13: Begriffe der Qualitätssicherung und Statistik; Begriffe zur Genauigkeit von Ermittlungsverfahren und Ermittlungsergebnissen*. 1987.
123. US Pharmacopeial Convention, *United States Pharmacopeia 35*. 2012.
124. F. E. M. O'Brien, *The control of humidity by saturated salt solutions*. Journal of Scientific Instruments and of Physics in Industry, 1948. **25**(3): p. 73-76.
125. P. J. Gemperline und N. R. Boyer, *Classification of near-infrared spectra using wavelength distances: comparison to the Mahalanobis distance and residual variance methods*. Analytical Chemistry, 1995. **67**(1): p. 160-66.
126. F. H. Long, *Spectroscopic qualitative analysis methods for pharmaceutical development and manufacturing*. American Pharmaceutical Review, 2011. **14**(September/October 2011).
127. N. Broad et al., *Guidelines for the development and validation of near-infrared spectroscopic methods in the pharmaceutical industry*, in *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Chichester 2006.
128. K. Faber und B. R. Kowalski, *Propagation of measurement errors for the validation of predictions obtained by Principal Component Regression and Partial Least Squares*. Journal of Chemometrics, 1997. **11**(3): p. 181-238.
129. A. Olivieri et al., *Guidelines for calibration in analytical chemistry: Part 3. Uncertainty estimation and figures of merit for multivariate calibration*. Pure and Applied Chemistry, 2006. **78**(3): p. 633-61.
130. N. M. Faber, X. H. Song und P. K. Hopke, *Prediction intervals for Partial Least Square regression*. Trends in Analytical Chemistry, 2003. **22**(5): p. 330-34.
131. American Society for Testing and Materials, *Practice E1655-00: Standard practices for infrared, multivariate, quantitative analysis*. 2001.
132. A. Schocker und T. Kleinert, *Integration der Prozessanalysetechnik in die Prozessführung: Beispiele aus der industriellen Praxis bei BASF*. Chemie Ingenieur Technik, 2010. **82**(4): p. 391-404.

133. W. Shewhart, *Economic control of quality of manufactured product*. Van Nostrand, Princeton 1931.
134. NAMUR - Normenarbeitsgemeinschaft für Mess- und Regeltechnik in der chemischen Industrie, *NA 113: Online-Analytik zur Prozessführung*. 2005.
135. K. H. Bauer, K. Lehmann, H. P. Osterwald und G. Rothgang, *Überzogene Arzneiformen*: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1988.

---