

Prüfung von Ausgangsstoffen – Anwendung von NIRS in der Apotheke

**Lars Wunsch
Apotheker, Leipzig**

gesetzliche Grundlagen

→ ApBetrO schreibt in § 11 Abs. 1:

- Ausgangsstoffe für die Rezeptur müssen in der Apotheke vor der ersten Verwendung geprüft werden

→ und weiter in Abs. 2:

- bei vorliegendem Prüfzertifikat ist in der Apotheke mindestens die Identität festzustellen (noch?!)

→ Arbeitshilfe: BAK-Leitlinie



gesetzliche Grundlagen

→ Warum Ausgangsstoffprüfung?

- Sicherstellung, „... dass nur solche Ausgangsstoffe dem Herstellungsprozess zugeführt werden, die ordnungsgemäß geprüft und freigegeben worden sind.“

→ Zuständigkeiten:

- das Prüfen von Ausgangsstoffen (oder AM) ist eine Pharmazeutische Tätigkeit
- für die **Prüfung und Sicherung der Qualität** der Ausgangsstoffe ist der Apotheker verantwortlich → auch bei Bezug von Ausgangsstoffen mit Prüfzertifikat, bleibt die Verantwortung bei der Apothekenleitung (§ 11 Abs. 2 ApBetrO)!

gesetzliche Grundlagen

→ **Sicherstellung der ordnungsgemäßen Qualität** der Ausgangsstoffe richtet sich nach §§ 6 und 11 ApBetrO

- Arzneimittel, die in der Apotheke hergestellt werden, müssen die nach der pharm. Wissenschaft erforderliche Qualität haben (§ 6 Abs. 1 ApBetrO)
 - Prüfung erfolgt in der Regel nach den anerkannten pharmazeutischen Regeln des Arzneibuchs (§ 6 Abs. 1 ApBetrO)
- **Alternativmethoden zur Prüfung sind erlaubt, sofern die gleichen Ergebnisse erzielt werden, wie sie in den Arzneibuch-Monographien beschrieben sind**

37/20 Chargenrückruf: Erythromycin mikronisiert API, 5 g, 10 g, 25 g, 50 g, 100 g, 250 g, und 1 kg

Chargenrückrufe

07.09.2020

Erythromycin mikronisiert API

5 g, 10 g, 25 g, 50 g, 100 g, 250 g, und 1 kg

Ch.-B.: 18096602, 192947001, 192947002, 192947003, 192948002, 192948003, 192948004, 192948005, 192955001, 192955002, 192955003

Ergänzend zum Chargenrückruf in der Kalenderwoche 34 (siehe Pharm. Ztg. 2020 Nr. 34, Seite 74) bittet die Firma Caesar & Loretz GmbH, 40721 Hilden, um folgende Veröffentlichung:

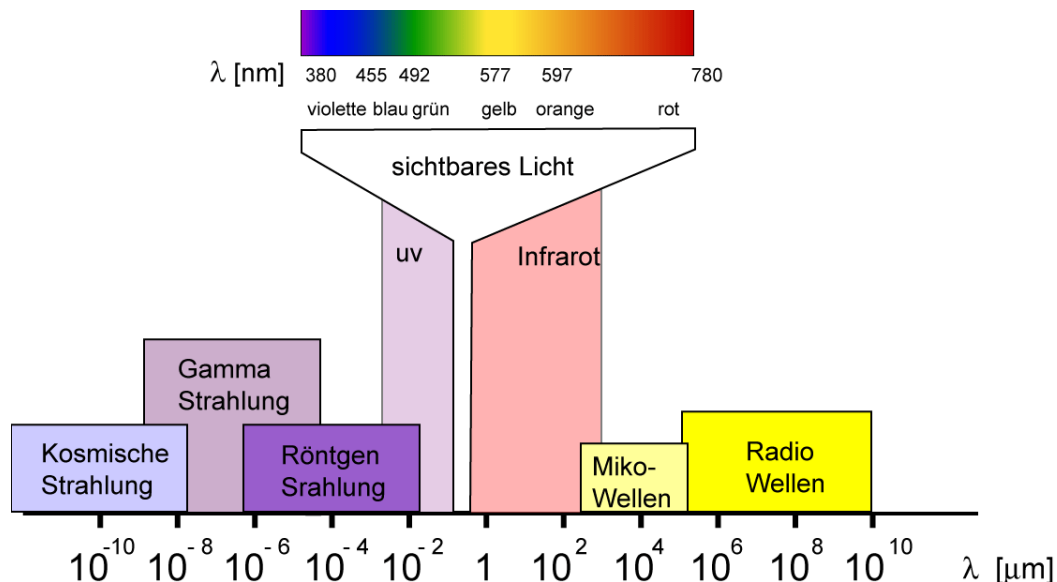
„Aufgrund von Einsendungen aus Apotheken und einer daraufhin durchgeführten Kontrolluntersuchung kann nicht ausgeschlossen werden, dass Packungen der genannten Chargen von Erythromycin mikronisiert API (mikrobielle Herkunft), 5 g, 10 g, 25 g, 50 g, 100 g, 250 g und 1 kg (PZN 03110172, 03110189, 12648396, 03110195, 03110232, 03110278 und 10206263), durch Erythromycinstearat verunreinigt sind.

Vorsorglich haben wir uns dazu entschlossen die genannten Chargen aus dem Verkehr zu ziehen.

Infrarotspektroskopie im Ph. Eur.

→ Ph. Eur. unterscheidet in zwei IR-Strahlungen (bzw. deren Anwendungen):

- NIR-Strahlung erstreckt sich von 780 – 2500 nm (entspricht Wellenzahlen von 12800 – 4000 cm^{-1})
- ab 2500 nm beginnt die mittlere IR-Region (ab Ph. Eur. 8.0 MIR)



Quelle:
http://www.didaktikonline.physik.uni-muenchen.de/spezial/infrarot/repetit/k4_spektrum.htm

NIRS – Arzneibuchmethode

- als Methode ist die NIRS mittlerweile etabliert, insbesondere in der AM-Herstellung (Inprozesskontrolle, Identifizierung)
- Eignung und Zuverlässigkeit der NIRS in der Arzneimittelherstellung wurde lange als nicht ausreichend belegt angesehen (Aufsichtsbehörde, kaum valide Daten publiziert), erst Anfang der 1990er Jahre konnte die Methode als geeignete Alternative zu offizinellen Methoden bestätigt werden
 - Aufnahme der NIRS ins Ph. Eur. erfolgte 1997
 - Methode ist als Punkt 2.2.40 unter den Methoden der Physik und der physikalischen Chemie im Ph. Eur. aufgeführt

NIRS – Arzneibuchmethode

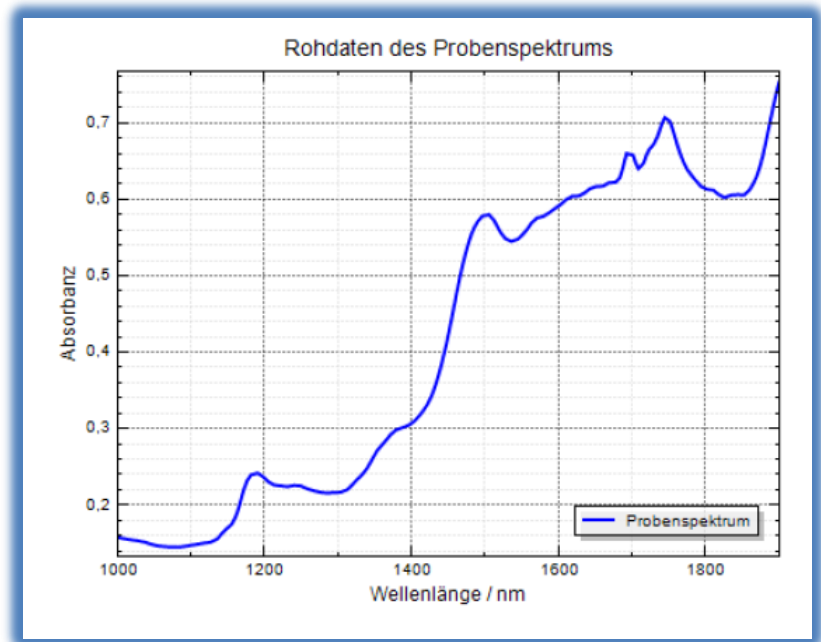
- als Methode ist die NIRS mittlerweile etabliert, insbesondere in der AM-Herstellung (Inprozesskontrolle, Identifizierung)
- bis Ende 2013 forderte das Ph. Eur. noch, dass der Anwender die angewendeten Algorithmen zur Datenbehandlung versteht
 - seit 2014 (Ph. Eur. 8.0) wird gefordert, dass die Anwendbarkeit (ausgewählter Algorithmen) validiert und dokumentiert wird

NIRS – Messprinzip

- in der NIRS werden die Wechselwirkungen der Strahlung mit den Probemolekülen in Form von Molekülschwingungen (dadurch bedingte Absorption durch erste bis dritte Oberschwingung) und Kombinationsschwingungen (der im MIR auftretenden Grundschiwingungen) registriert
- Grundschiwingungen liegen im Bereich von $4000 - 2000 \text{ cm}^{-1}$ (→ MIR), deren Oberschwiwingungen sind Gegenstand der NIRS
 - i.d.R. Schwiwingungen von kovalent gebundenen Wasserstoffatomen (C-H, N-H, O-H, S-H)
- da diese Oberschwiwingungen i.d.R. kleine Absorptionskoeffizienten besitzen, können die Proben mittels NIRS fast immer unverdünnt vermessen werden

NIRS – Messprinzip

- aufgrund der geringen Absorption ist die Eindringtiefe der NIR-Strahlung relativ hoch → auch Messung von inhomogenen Proben (z.B. Teedrogen) möglich
 - Achtung: Eindringtiefe u.a. auch abhängig von der Partikelgröße (s.u.)
- Spektren besitzen eine geringe Signalstärke (10 bis 100 x geringer als MIR), kaum scharfe Banden, dafür überlappende Peaks (und Basisliniendrifts)



NIRS – Messprinzip

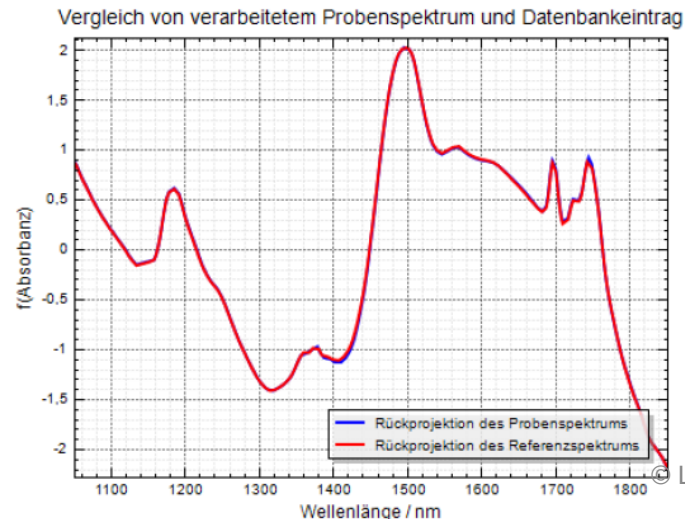
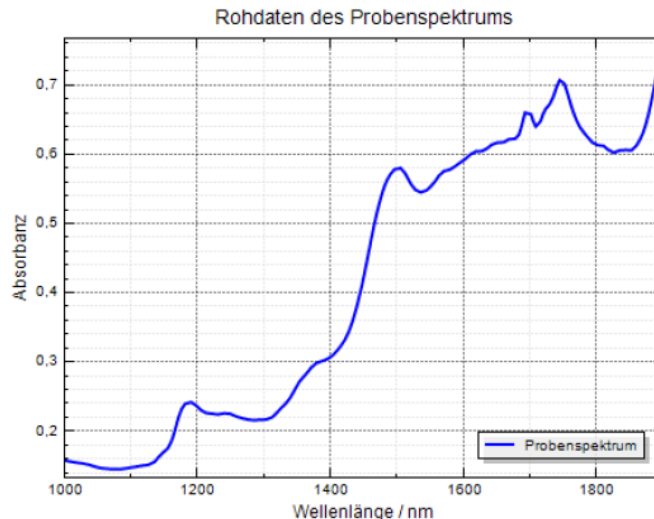
- aufgrund der geringen Absorption ist die Eindringtiefe der NIR-Strahlung relativ hoch → auch Messung von inhomogenen Proben (z.B. Teedrogen) möglich
 - Achtung: Eindringtiefe u.a. auch abhängig von der Partikelgröße (s.u.)
- Spektren sind darüber hinaus abhängig von verschiedenen Parametern, z.B.:
 - **Temperatur**
 - **Teilchengröße, Modifikation (Polymorphie)**
 - **Wassergehalt**
 - **sonstige Verunreinigungen (z.B. Restlösemittel)**
 - **Alter der Proben**

NIRS – Messprinzip

- NIR-Strahlung durchdringt Glas → Proben können direkt in einem Glasgefäß vermessen werden (Gegensatz zur MIR)
 - es erfolgt eine Vergleichsmessung mit dem leeren Messgefäß sowie mit einer Reflexionsreferenz
- abhängig von der Art der Probe können verschiedene Messverfahren genutzt werden
 - Messung der **Transmission**: klare Proben (Lichtstreuung und -beugung ist vernachlässigbar)
 - Messung der **diffusen Transmission**: bei entsprechend dünner Schichtdicke möglich sowie bei trüben flüssigen Proben
 - Messung der **diffusen Reflexion**: feste Proben, große Schichtdicke
 - Messung der **Transflexion**: für transparente Proben wird bei Reflexionsmessung eine reflexierende Oberfläche in die Probe eingebracht (Vermeidung eines Geräteumbaus)

NIRS – Messprinzip

- Bandenauswertung aus der MIRS nicht übertragbar → Anwendung chemometrischer Verfahren notwendig (multivariate Datenanalyse)
 - NIRS erster Anwendungsbereich der Chemometrie im Ph. Eur.
 - AB lässt (seit 2014) auch direkten Vergleich von Spektren mit einer Referenzsubstanz zu – normalerweise erfolgt jedoch Datenaufarbeitung (Erleichterung der Identifizierung, stabiler gegen Unregelmäßigkeiten) und somit Entfernung störender Faktoren



NIRS – Geräte

→ Geräte:

- mittlerweile sind einfache, preisgünstige Geräte verfügbar
 - verwenden einen schnell rotierenden Scanning-Grating-Spiegel, um mono-chromatische Strahlung mit ansteigender Wellenlänge auf die Probe zu strahlen
 - Detektion der Wellenlängen erfolgt sehr schnell nacheinander → Verwendung preisgünstiger Thermodetektoren (im Gegensatz zu den Photodiodenzeilen)
 - Verwendung von nicht thermostatierten Gallium-Iridium-Arsenid-Detektoren → Nachteil: Spektren können nur von 1000 – 1900 nm aufgenommen werden
 - Kalibrierung erfolgt durch fest eingebaute Proben → werden regelmäßig gemessen und die Maxima mit den AB-Anforderungen abgeglichen

NIRS – Geräte

→ Geräte:

– Hersteller stellt Datenbank zur Verfügung:

- Zugriff i.a. im Kaufpreis enthalten, Installation in der Apotheke, Updates abonnierbar
- Zugriff auf Rohdaten und Datenbehandlung wichtig! → Arzneibuchanforderung, Gewährleisten der Aussagefähigkeit gegenüber der Behörde
- Validierung und Kalibrierung der NIRS-Methode sowie entsprechende Dokumentation notwendig
- eine Substanz gilt als positiv identifiziert, wenn eine Übereinstimmung von > 98 % mit der Referenz erzielt wurde



praktisches Arbeiten – Probenvorbereitung

→ Probenvorbereitung: prinzipiell gering

- **Auswahl der Messmethode** (Transflexion, ...) sowie der Messparameter (Messzeit, Anzahl der Scanvorgänge, ...) → bei der Erstellung der Spektrenbibliothek bereits erfolgt (in der Software des **Herstellers** festgelegt)
- es muss die Vermessung einer **repräsentativen Probe** erfolgen (Entmischungstendenzen; Teedrogen!)
- vor bzw. nach jeder Messung ist auf **sorgfältige Reinigung** aller Materialien zu achten
- bei Einstichsonde: Messung direkt im Liefergefäß möglich (gilt jedoch nicht für alle Proben!)
 - **ausreichender Kontakt** mit der Probe ist sicherzustellen

praktisches Arbeiten – Probenvorbereitung

- Befüllen des Probegefäßes mit der zu vermessenden Substanz
 - **ausreichende, homogene Substanzmenge** notwendig (ca. 2 mm Dicke)
 - je nach Messmethode: Nutzung einer reflektierenden Oberfläche (Keramik, TiO_2)
 - da Schütt- und Stampfdichten das Spektrum beeinflussen, sollte ggf. das Probegefäß vor der Messung aufgestampft werden (inhomogene Proben/divergierende Pulvereigenschaften)
 - bei inhomogenen Flüssigkeiten → Redispergierung zur Vermeidung von Phasentrennungen
 - bei flüssigen/halbfesten Proben ggf. (sichtbare) Lufteinschlüsse entfernen

praktisches Arbeiten – Messeinflüsse

→ Einflussfaktoren auf die Messung

- **Temperatur**

- zu tiefe Temperatur von Substanzen (Kühlschrank!) zieht Adsorption von Feuchtigkeit nach sich (vgl. Wägevorgang!)

- **Teilchengröße**

- **Modifikation (Polymorphie)**

- Unterscheidung einzelner Modifikationen möglich → Berücksichtigung in der Datenbank notwendig (Gefahr von falsch-negativen Ergebnissen)

praktisches Arbeiten – Messeinflüsse

→ Einflussfaktoren auf die Messung

- **Wassergehalt**
 - hohe Luftfeuchte problematisch für hygroskopische Substanzen
 - Vorteil: Unterscheidung von wasserhaltigen u. wasserfreien Proben möglich
- **sonstige Verunreinigungen (z.B. Restlösemittel)**
- **Alter der Proben**

Überprüfung der Funktionsfähigkeit des Gerätes

→ Überprüfung der Funktionsfähigkeit des Gerätes:

- Überprüfung der Wellenlängenskala
 - Vergleichsmessung von Referenzsubstanzen
 - meist Gemische Oxide Seltener Erden → langzeitstabil
 - seltener CH_2Cl_2 , Talkum; für diffuse Reflexion auch Teflon od. Polystyrol möglich
 - i.d.R. in den Geräten integriert → automatische Kontrolle möglich
- Überprüfung der photometrischen Linearität
 - erfolgt mit zertifizierten Standards → liefert der Hersteller
 - Durchführung im Abstand mehrerer Jahre ausreichend

Überprüfung der Funktionsfähigkeit des Gerätes

→ Überprüfung der Funktionsfähigkeit des Gerätes:

- Überprüfung der Leistungsfähigkeit

- nach Ph. Eur. vorgeschrieben = Nachweis der Erfüllung der Anforderungen des Ph. Eur.

- aufgrund der Selbstüberprüfung der Geräte empfehlen Hersteller eine Überprüfung aller drei Jahre (i.d.R. Dienstleistung des Herstellers, **Kalibrierungsprotokoll!**)

Apothekenalltag – Anforderungen der Behörden

→ Dokumentation, Validierung und Kalibrierung:

- NIR-Spektren weisen eine gewisse Variabilität auf

- Rauschpegel der Geräte
- Partikelgrößeneffekte, Verunreinigungen, Kristallinität, Packungscharakteristiken, etc.

→ Referenzdatenbank sollte daher genügend verschiedene Proben berücksichtigen

Apothekenalltag – Anforderungen der Behörden

→ Dokumentation, Validierung und Kalibrierung:

- einzelne Modifikationen polymorpher Substanzen müssen unterschieden werden (Bsp.: Triamcinolonacetonid, Hydrocortison, ...)
- Gefahr bei neuen Produkten (z.B. neue Rohstoffquelle): abweichende Eigenschaften könnten zum Ausschluss der Substanz führen
- Rückgriff auf Standardsubstanzen zu Referenzzwecken problematisch

Apothekenalltag – Anforderungen der Behörden

→ Dokumentation, Validierung und Kalibrierung:

- Validierungsunterlagen

- stoffspezifische Validierung gefordert
- Gesamtheit aller Daten zur Erstellung der Datenbank
- Kriterium: Anzahl der Referenzproben in der Datenbank
- Ausschluss falsch positiver Übereinstimmungen

- wenn ein Datenbankeintrag keine Validität aufweist, muss die Substanz nach einer anderen Methode geprüft werden

- wenn nicht → Verantwortung gegenüber der Überwachungsbehörde (daraus abgeleitet: Pflicht zur Überprüfung der Validierungsunterlagen)

Apothekenalltag – Anforderungen der Behörden

→ Wann reicht NIRS nicht zur Identitätsprüfung aus?

- es existieren Substanzen in der Datenbank, welche sehr ähnliche Spektren ergeben
 - eine sichere Unterscheidung ist nicht möglich
 - ist eine Identifikation einer Obergruppe möglich, so sind ergänzende Prüfungen notwendig
 - alternativ: Prüfung der Substanz nach einer anderen Prüfvorschrift
- es existieren Substanzen, welche einer (N)IRS nicht zugänglich sind
 - Einsatz der NIRS nicht möglich

Anforderungen in Sachsen

→ Folgende Punkte wurden von der Landesdirektion Sachsen zur Ausgangsstoffprüfung mittels Nah-Infrarot-Spektroskopie veröffentlicht (Stand: 05.06.2020):

- Die **NIR-Methode** ist eine im EAB aufgeführte **anerkannte Methode**, um mindestens die Identität und damit die ordnungsgemäße Qualität von Ausgangsstoffen zur Herstellung von Arzneimitteln festzustellen (vgl. § 11 Abs. 1 und 2 ApBetrO).
- Da es sich bei der NIR-Bestimmung nicht um den realen Abgleich von Spektren handelt, sondern die tatsächliche Identitätsbestimmung auf einem chemometrischen Modell beruht, ist das Vorliegen einer **validen Datenbank** die **Hauptvoraussetzung für den Einsatz** dieser Methode. Wie eine valide Datenbank zu erzeugen ist, wird in der Ph. Eur. allgemein vorgegeben.

Anforderungen in Sachsen

- Vor der Nutzung der NIR-Methode zur Identitätsbestimmung eines Ausgangsstoffes hat sich der Anwender davon zu überzeugen, dass es sich um einen **validen Datenbankeintrag** handelt (vgl. § 6 Abs. 1 ApBetrO).
 - siehe unten: Checkliste der LDS

Anforderungen in Sachsen

- Nach einem Update der Datenbank kann sich der Datenbankeintrag ändern. Folglich hat sich der Prüfende aufs Neue zu vergewissern, dass es sich um einen validen Datenbankeintrag handelt. Die Verantwortung des Apothekenleiters für die ordnungsgemäße Qualität der Ausgangsstoffe bleibt unberührt (vgl. § 11 Abs. 2 Satz 3 ApBetrO).
- Im Rahmen von Apothekenbesichtigungen fiel wiederholt auf, dass der Validierungsbericht, der zum Zeitpunkt der Ausgangsstoffprüfung gültig war, nicht vorgelegt werden konnte. Daher wird empfohlen, sich beim NIR-Anbieter zu informieren, wie der Zugriff auf Validierungsberichte (auch auf historische Validierungsberichte) gewährleistet ist.

Anforderungen in Sachsen

→ Zur Prüfung, ob ein Datenbankeintrag für einen Ausgangsstoff valide ist, kann folgende Checkliste verwendet werden:

- **Ist die Anzahl der Kalibrierproben ausreichend?**
 - mindestens 6 Chargen: 2 Chargen einer Substanz von mind. 3 Hersteller = 6 Chargen
 - auch, sofern nur wenige Hersteller die Substanz vertreiben
- **Ist die Anzahl der unabhängigen Validierproben ausreichend?**
 - mindestens 3 Validierproben, keine Überschneidungen mit Kalibrierproben

Anforderungen in Sachsen

- **Ist kein falsch positives Ergebnis im Rahmen der Validierung aufgetreten?**
- **Ist der Abstand zur nächsten Fremd-Probe bzw. die festgestellte Korrelation ausreichend?**
 - gerätespezifische Vorgaben der Hersteller sind zu beachten
- **Ist eine ausreichende Abgrenzung zu ebenfalls im Arzneibuch monografierten, verwandten Ausgangsstoffen (Salze, Ester, Ether, ...) anhand valider Datensätze erkennbar?**
 - keine spezifizierte Aussage

Anforderungen in Sachsen

- Wenn Sie alle Fragen mit „Ja“ beantworten, ist der Datenbankeintrag valide.
- Wenn lediglich die Zugehörigkeit zu einer Gruppe identifiziert werden kann, müssen weitere Untersuchungen erfolgen, um die Identität des Ausgangsstoffs zweifelsfrei festzustellen.
 - es ist auf Validität solcher ergänzenden Prüfungen zu achten
 - Problem: es stehen dafür keine „offiziellen“ Monographien zur Verfügung

Anforderungen in Sachsen

- Ein nicht ordnungsgemäß geprüfter Ausgangsstoff ist in Quarantäne zu nehmen und erst nach ordnungsgemäßer Prüfung zur Verwendung freizugeben.
- Wir weisen darauf hin, dass die nicht ordnungsgemäße Prüfung von Ausgangsstoffen eine Ordnungswidrigkeit darstellt, die mit einer Geldbuße geahndet werden kann (§ 11 ApBetrO i. V. m. § 55 Abs. 8 AMG und § 97 Abs. 2 Nr. 17 AMG).

Hinweise

→ Neben den Anforderungen der LDS sei ergänzend eine Auswahl an Aspekten zu bedenken...

- **Implementierung der Methode ins QMS, u.a.:**
 - Durchführung der NIR-Messung inklusive Kalibrierung (Arbeitsanweisung, Gefährdungsbeurteilung)
 - Verhalten bei Problemen/Abweichungen der NIR-Messung
 - Dokumentation, Pflichtangaben auf Prüfprotokoll
 - regelmäßige Schulungen der Mitarbeiter (i.d.R. jährlich 30 Minuten)
 - Verfahrensweise bei negativem Ergebnis der Prüfung
 - Führen eines Gerätelogbuches (insbesondere im Filialverbund!)

Hinweise

- **Selbstinspektion** (Empfehlung: jährliche Durchführung):
 - Prüfung der Aktualität der Arbeitsanweisung
 - Prüfung der Spektrenbibliothek/Version der Validierungsunterlagen
 - Wann steht die nächste technische Wartung des Gerätes an?
 - Auswertung des Fehlermanagements ("falsch negative" Messungen?)
 - Auswertung von Beanstandungen aus Besichtigungen
 - Gerätekalibrierung/Überprüfung der Leistungsfähigkeit muss im QM beschrieben/nachgewiesen sein
 - Möglichkeit zur ergänzenden Prüfung muss vorhanden sein
 - Nutzer müssen (hinsichtlich der Gerätenutzung) nachweislich geschult sein

Hinweise

- Achtung: es herrscht „vollverantwortliche Prüfpflicht“ in jeder Apotheke → die Prüfung muss durch in der Apotheke angestelltes (pharmazeutisches) Personal erfolgen!

Fazit: NIRS – Vor- und Nachteile

→ Vorteile:

- nicht-destruktive, verlustfreie Methode (BtM!)
- kurzer Messvorgang = Zeitersparnis (Messzeit < 15 Sekunden) → kleine Zeitfenster im Apothekenalltag nutzbar
- leicht durchführbar/unkompliziert
- verursacht keine Abfälle
- relativ geringe Betriebskosten
- hoher Informationsgehalt der Spektren, Erfassung von physikalischen Zustandsgrößen und chemischen Eigenschaften

→ Nachteile:

- Auswertung nur durch chemometrische Methoden möglich
- relativ hohe Anschaffungskosten

**Vielen Dank für Ihre
Aufmerksamkeit!**



Kontakt:

Lars.Wuensch@uni-leipzig.de

Literatur/Quellen beim Verfasser