

Marcas – Patentes
Modelos – Diseños
Nombres Comerciales – Enseñas
Propiedad Intelectual
Registros en el Exterior
Registros Sanitarios INVIMA – ICA
Acciones Judiciales – Administrativas
Derecho Comercial – Industrial
Asesoría – Contratos – Otros
Corresponsalia a Nivel Mundial



Mario Delgado Echeverry e Hijos Ltda.

Abogados Consultores – Mar

Bogotá D.C. - Colombia
Avda. Kra. 24 Park Way No. 37 – 31 Of.
202
Tels. (571) 2444096 – 3690624
Fax (571) 2442496 A.A. No. 6207
E-mail: mde@mdelaw.com
mdelawof@cablenet.co
mdeabogados@cablenet.co
Miembros ACPI – ASIPI - AIPPI

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-034004- -00007-0000

Fecha: 2012-05-30 16:00:26 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 99

Act. 523 RESPUESTA Folios: 49

Señores
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Ciudad

REFERENCIA: Expediente No. 08 – 034.004

**TÍTULO: “NUEVA FORMA POLIMÓRFICA Y LA FORMA AMORFA DE 5-
CLORO-N-((5S)-2-OXO-3-[4-(3-OXO-4-MORFOLINIL)-FENIL]-1,3-
OXAZOLIDIN-5-IL}-METIL)-2-TIOFENOCARBOXAMIDA”**

SOLICITANTE: BAYER HEALTHCARE AG.

**TRÁMITE: Respuesta a Concepto Técnico notificado mediante Oficio No.
3160 del 29 de febrero de 2012.**

JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS, en mi condición de apoderado de la sociedad
BAYER HEALTHCARE AG., dentro del término legal, presento respuesta a Concepto
Técnico notificado mediante Oficio No. 3160 del 29 de febrero de 2012.

**1. Reivindicaciones relativas a un uso o a un segundo uso (Art. 14 y 21
D486)**

El Examinador Técnico de Patentes objeto las Reivindicaciones 7, 8, 9,12 y 13 porque
el uso no es patentable de acuerdo con el Art. 14.

R/: El solicitante **DESISTIO** de las Reivindicaciones 7, 8, 9,12 y 13 presentadas
originalmente, teniendo en cuenta que estas se refieren al uso que no es
patentable de acuerdo al Artículo 14

Marcas – Patentes
Modelos – Diseños
Nombres Comerciales – Enseñas
Propiedad Intelectual
Registros en el Exterior
Registros Sanitarios INVIMA – ICA
Acciones Judiciales – Administrativas
Derecho Comercial – Industrial
Asesoría – Contratos – Otros
Corresponsalia a Nivel Mundial

MDE

Mario Delgado Echeverry e Hijos Ltda.

Abogados Consultores – Marcas y Patentes

Bogotá D.C. - Colombia
Avda. Kra. 24 Park Way No. 37 – 31 Of.
202
Tels. (571) 2444096 – 3690624
Fax (571) 2442496 A.A. No. 6207
E-mail: mde@mdelaw.com
mdelawof@cablenet.co
mdeabogados@cablenet.co

Miembros ACPI – ASIPI - AIPPI

2. DE LA SOLICITUD DE PATENTE.

Reivindicaciones.

El Examinador Técnico de Patentes objeto el Capítulo Reivindicatorio porque:

“Las reivindicaciones 1,2,3,7, 8, 9, 10 , 11, no son claras porque hacen referencia a las modificaciones (I) y (II) las cuales no se encuentran definidas en el capítulo reivindicatorio, se sugiere al solicitante hacer las correcciones necesarias.”

“A lo largo del capítulo reivindicatorio se encuentran términos muy generales para definir el objeto de la invención, por lo cual no es posible tener claridad sobre la extensión de la invención, por ejemplo en la reivindicación 2, se encuentra el término disolvente inerte o agente precipitante, de igual manera en la reivindicación 3 hacen referencia al almacenamiento a altas temperaturas sin especificar el valor adecuado de la misma, se sugiere al solicitante delimitar el objeto de su invención dentro de los parámetros que estén debidamente sustentados en el capítulo descriptivo”.

“Existe un párrafo en el capítulo reivindicatorio que no tiene numeración, ni especifica la dependencia a alguna reivindicación, por lo tanto no queda claro si esto también lo reclaman como objeto a patentar”.

“El capítulo reivindicatorio no es conciso porque contiene un excesivo número de reivindicaciones independientes, lo cual hace difícil definir cuál es el objeto que se busca proteger”.

R/: Nuestro poderdante se permite manifestar lo siguiente:

De acuerdo a las sugerencias del Examinador Técnico de Patentes se procedió a modificar el capítulo reivindicatorio, donde:

- Se eliminaron las reivindicaciones originales 3, 11, y 14.

- Se elimino la forma amorfa de las reivindicaciones actuales 1 y 10 (reivindicaciones nuevas 1 a 4) para superar las objeciones del examinador con respecto a la actividad inventiva. Eliminamos las reivindicaciones actuales 5 y 6.
- Se añadieron los parámetros NIR a las reivindicaciones actuales 1, 2, 4 y 10 (reivindicaciones nuevas 1 a 4) para definir la modificación II. Esta modificación fue aceptada por la Oficina de Patentes Europea, ya que los parámetros para NIR se describen suficientemente en la solicitud de patente.
- Las expresiones “disolventes inertes”, “agentes precipitantes” y “disolvente inerte anhidro” se especificaron con más detalle en las **NUEVAS REIVINDICACIONES 2 y 3**. El sustento para esta modificación se encuentra en la página 7 líneas 11 a 21

Por lo expresado anteriormente, se reenumeraron las reivindicaciones y las reivindicaciones dependientes.

Por lo tanto, se presenta un **NUEVO CAPÍTULO REIVINDICATORIO** de la invención, de acuerdo a lo requerido por el Examinador Técnico de Patentes y el cual comprende **cuatro (4) Nuevas Reivindicaciones** en dos folios, que cumplen con los requisitos de claridad exigidos por el art. 30 de la Decisión 486.

2. DEL ANÁLISIS DE PATENTABILIDAD.

De acuerdo al análisis del examen técnico, el Examinador concluye que el nivel inventivo se ve afectado por los documentos **D1 (WO 01/47919)**, **D2 (WO2004/060887)** y **D3 (Libro 1)**, donde expresa:

“El documento D1 describe la preparación de un compuesto de fórmula (página 77-78, Ejemplo 40), el cual tiene un punto de fusión de 232-233°C. De igual manera divulga la molécula y sus características en la reivindicación 10 (página 178, líneas 5-26)”.

*“El documento **D1** se considera el documento más cercano a la invención porque divulga un compuesto de fórmula (I). El documento D3, por su parte enseña los mecanismos de obtención de polimorfos o amorfos de compuestos en estado sólido”.*

“La diferencia planteada en D1, consiste en la obtención de un polimorfo o un sólido amorfo de ese compuesto, esta diferencia le confiere una mejor solubilidad y biodisponibilidad”.

“Sin embargo, se aclara que bajo las enseñanzas proporcionadas en el documento D3, para un experto en la materia el hallazgo de la existencia de otras formas cristalinas de un compuesto no es considerado inesperado, pues hace parte de los estudios de rutina de pre-formulación, la determinación de la presencia de polimorfos en nuevas drogas preparadas para las investigaciones preliminares en animales, así como la determinación del número de polimorfos, las solubilidades, la estabilización de las formas meta-estables, los rangos de estabilidades térmica y los métodos de preparación (página 2227, columna 1). Una vez identificado que un compuesto tiene más de una forma cristalina, se disponen de diferentes técnicas para identificar la fase (2228, columna 1)”.

“De esta manera el estado de la técnica sugiere que para una persona del oficio normalmente versada en la materia, encontrar diferentes formas cristalinas o amorfos del compuesto divulgado en el documento D1, no es un hallazgo inesperado. Por el contrario supone una tarea de rutina. En consecuencia para una persona versada en la materia, la obtención y determinación de la existencia de polimorfos de un compuesto sólido se considera obvia”.

R/: Nuestro poderdante se permite manifestar lo siguiente:

En el documento **D1** (WO 01/47919) el compuesto 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)fenil]-1,3-oxazolin-5-il)metil)-2-tiofeno-carboxamida se menciona en el ejemplo 44.

La modificación cristalina en la que se obtiene el compuesto cuando se prepara siguiendo la ruta descrita en el ejemplo 44 del documento **D1** es la **"modificación cristalina I"**.

La modificación cristalina mencionada en el documento **D2** es también la **"modificación cristalina I"**.

Esta forma cristalina se menciona en la página 1, líneas 25 a 28 de la presente solicitud, que se adjunta. Esta forma cristalina se define como **"modificación cristalina I"** y, por lo tanto, es diferente a la **"modificación cristalina II"** que está cubierta por las reivindicaciones de la presente solicitud. La diferencia de las modificaciones cristalinas se muestra mediante el difractograma de rayos X, el espectro IR, el espectro Raman, el espectro FIR y el espectro NIR característicos mencionados en la descripción de la presente solicitud. Por lo tanto, la presente invención muestra novedad.

La diferencia entre las formas cristalinas se explica en la página 1 de la presente solicitud, así como en los ejemplos. La solubilidad en agua de la "modificación cristalina I" es de 0,0006 g /100 ml. Se ha hallado que la "modificación cristalina I" tiene una solubilidad inferior en un factor 4 en comparación con la modificación II (página 2, líneas 1 y 2). Debido a que las modificaciones cristalinas mencionadas en las reivindicaciones de los documentos **D1** y **D2** y en las **reivindicaciones de la presente solicitud de nuestro poderdante, son diferentes** ya que la **"modificación cristalina II"** mencionada en ésta solicitud

muestra una solubilidad mejorada sobre la "modificación cristalina I", la presente solicitud muestra una actividad inventiva sobre los documentos **D1** y **D2**.

El documento **D3** sólo menciona afirmaciones generales. Por lo tanto, **NO** era predecible que la "modificación cristalina II" mostrara una solubilidad mejorada sobre la "modificación cristalina I".

Para los picos NIR presentamos los argumentos siguientes:

La espectroscopia NIR se describe con suficiente detalle mencionando el tipo de espectrofotómetro. "Los fabricantes proporcionan instrucciones detalladas para manejar espectrofotómetros. ... Debe seguirse con exactitud el manual de instrucciones en asuntos tales como cuidado, limpieza y calibración del instrumento y técnicas de manejo de células de adsorción, así como en las instrucciones de funcionamiento. ... En espectroscopía NIR gran parte del interés actual se centra alrededor de la facilidad del análisis. Las muestras pueden analizarse en forma de polvo o mediante técnicas de reflectancia, con una pequeña preparación o sin ella." (Ver **ANEXO I**, documento **THE UNITED STATES PHARMACOPEIA** (Farmacopea de Estados Unidos), 2009, capítulo 851 en catorce folios y traducción en cinco folios). "La temperatura en funcionamiento del espectrómetro se encuentra entre 18 °C y 28 °C..." (ver **ANEXO II**, documento **ESPECTRÓMETRO DE FOURIER IFS 28**, manual del usuario, 07/93, página 6 (en seis folios y traducción en dos folios).

Para la espectroscopia NIR no es necesaria ninguna preparación específica de la muestra: "Además de los procedimientos de toma de muestra y análisis habituales, pueden tomarse mediciones directamente en las muestras in situ." (ver **ANEXO III**, documento **EUROPAISCHES ARZNEIBUCH** (Farmacopea europea), **Deutscher Apotheker Verlag** Stuttgart, 5ª edición, Grundwerk 2005,



volumen 1, página 73, preparación previa de muestras en diecisiete folios y traducción en doce folios).

Teniendo la información sobre el tipo de espectrofotómetro, un experto en la técnica sabe cómo repetir el análisis y obtener los picos de NIR mencionados en la presente solicitud de patente.

De acuerdo a lo expresado anteriormente, se añadieron los parámetros NIR a las **NUEVAS REIVINDICACIONES 1 A 4**, para definir la **modificación I** y la **modificación II**.

Por lo mencionado anteriormente, queda claramente demostrado que existen diferencias técnicas sustanciales entre los documentos **D1, D2 y D3** con respecto a la **presente solicitud de patente de invención de nuestro mandatario**, y no se derivan de manera evidente del estado de la técnica por lo cual la invención tiene **NIVEL INVENTIVO**.

Finalmente, el solicitante se permite presentar un **NUEVO CAPÍTULO DESCRIPTIVO** de la solicitud de patente de invención en estudio, en treinta y tres (33 folios) para corregir varios errores tipográficos menores en la descripción, en concreto en las páginas 1 y 11, se corrigió el número de la patente WO 01/47919; en la página 16, se corrigió la Tabla 3, Modificación I; en la página 21, se corrigió la Tabla 6, Modificación II y Modificación III.

En conclusión, nuestro poderdante pone a consideración del Examinador Técnico de Patentes, lo siguiente:

- **NUEVA DESCRIPCION DE LA INVENCION** en treinta y tres (33) folios.

Marcas – Patentes
Modelos – Diseños
Nombres Comerciales – Enseñas
Propiedad Intelectual
Registros en el Exterior
Registros Sanitarios INVIMA – ICA
Acciones Judiciales – Administrativas
Derecho Comercial – Industrial
Asesoría – Contratos – Otros
Corresponsalia a Nivel Mundial

MDE

Mario Delgado Echeverry e Hijos Ltda.

Abogados Consultores – Marcas y Patentes

Bogotá D.C. - Colombia
Avda. Kra. 24 Park Way No. 37 – 31 Of.
202
Tels. (571) 2444096 – 3690624
Fax (571) 2442496 A.A. No. 6207
E-mail: mde@mdelaw.com
mdelawof@cablenet.co
mdeabogados@cablenet.co

Miembros ACPI – ASIPI - AIPPI

- Un **NUEVO CAPÍTULO REIVINDICATORIO** el cual incluye **cuatro (4) Reivindicaciones** en dos (2) folios.

Por lo anterior, estamos dando respuesta al Concepto Técnico notificado mediante Oficio No. 3160 del 29 de febrero de 2012, quedando demostrado que la presente solicitud cumple con los requisitos técnicos de **NOVEDAD, NIVEL INVENTIVO Y APLICACIÓN INDUSTRIAL** exigidos por la Decisión 486 del Acuerdo de la Comisión de la Comunidad Andina; por lo cual solicito respetuosamente se proceda a **CONCEDER** la Patente de Invención titulada: **“NUEVA FORMA POLIMÓRFICA Y LA FORMA AMORFA DE 5-CLORO-N-(((5S)-2-OXO-3-[4-(3-OXO-4-MORFOLINIL)-FENIL]-1,3-OXAZOLIDIN-5-IL)-METIL)-2-TIOFENOCARBOXAMIDA”** a nombre de la sociedad **BAYER HEALTHCARE AG**.

Atentamente,


JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS
C.C. No. 19.270.955 Bogotá
T.P. No. 43.308 C.S.J.

Anexos:
Nueva Descripción (33 folios)
Nuevas Reivindicaciones. (2 folios)
Anexo I (19 folios)
Anexo II (8 folios)
Anexo III (29 folios)

d

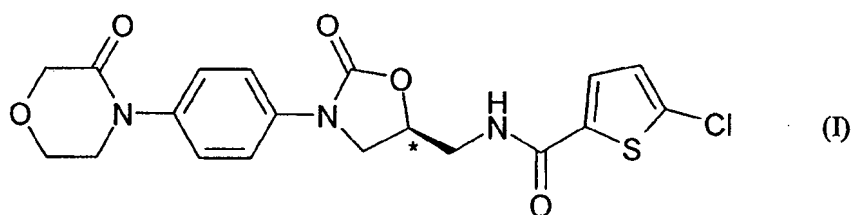
NUEVA FORMA POLIMÓRFICA Y LA FORMA AMORFA DE 5-CLORO-N-((5S)-2-OXO-3-[4-(3-OXO-4-MORFOLINIL)-FENIL]-1,3-OXAZOLIDIN-5-IL)-METIL)-2-TIOFENOCARBOXAMIDA

5

La presente invención se refiere a una nueva forma polimórfica y la forma amorfa de 5-cloro-N-((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida, procedimiento para su preparación, fármacos que contienen a ésta, así como su uso en el control de enfermedades.

10

El compuesto 5-cloro-N-((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida se conoce del documento WO 01/47919 y WO 2004/060887 y se corresponde con la fórmula (I):



15

El compuesto de fórmula (I) es un inhibidor de bajo peso molecular del factor Xa de coagulación de la sangre que puede aplicarse por vía oral y que puede utilizarse para la profilaxis, profilaxis secundaria y/o tratamiento de distintas enfermedades tromboembólicas (véase para ello el documento WO 01/47919, cuya publicación se incluye con la presente como referencia), especialmente de infarto de miocardio, angina de pecho (incluida angina inestable), reoclusiones y reestenosis después de una angioplastia o derivación aortocoronaria, apoplejía, ataques isquémicos transitorios, enfermedades arteriales obstructivas periféricas, embolias pulmonares o trombosis venosas profundas.

20

El compuesto de fórmula (I) puede prepararse como se describe en el documento WO 01/47949 y WO 2004/060887. En este sentido, el compuesto de fórmula (I) se obtiene en una modificación cristalina que a continuación se denomina modificación I. La modificación I tiene un punto de fusión de 230°C y un difractograma de rayos X, espectro IR, espectro Raman, espectro FIR y espectro NIR característicos (tab. 1-6, fig. 1-6). Se ha encontrado ahora que la modificación

25

I en comparación con la modificación II presenta una solubilidad más pequeña de un factor 4.

De manera sorprendente se descubrieron otras dos modificaciones, un hidrato, un solvato de NMP y un compuesto de inclusión con THF del compuesto de fórmula (I). El compuesto de fórmula (I) en la modificación II funde a aproximadamente 203°C o tiene un punto de transición de aproximadamente 195°C, el compuesto de fórmula (I) en la modificación III tiene un punto de transición de aproximadamente 127°C. El hidrato contiene aproximadamente 4% de agua, el solvato de NMP contiene 18,5% de N-metilpirrolidona y el compuesto de inclusión con THF aproximadamente 5-7% de tetrahidrofurano.

Objeto de la presente invención es el compuesto de fórmula (I) en la modificación II. Mediante la utilización según la invención del compuesto de fórmula (I) en la modificación II se asegura que se consigue una solubilidad más alta en comparación con la modificación conocida.

La modificación II del compuesto de fórmula (I) tiene en comparación con la modificación I, modificación III, la forma hidratada, el solvato de NMP y el compuesto de inclusión con THF un difractograma de rayos X, espectro IR, espectro NIR, espectro FIR y espectro Raman (fig. 2-6) claramente distinguibles. El compuesto de fórmula (I) en la modificación II funde a 203°C o se transforma a aproximadamente 195°C y con esto puede diferenciarse claramente de la modificación I (punto de fusión 230°C) y modificación III (punto de transición de aproximadamente 127°C). A diferencia de estas formas libres de disolvente, el hidrato del compuesto de fórmula (I), el solvato de NMP del compuesto de fórmula (I) y el compuesto de inclusión con THF del compuesto de fórmula (I) presentan pérdidas de masa en el análisis termogravimétrico (TGA) del 4%, 18,5% o 5-7% (fig. 1).

Es conocido por todos que las formas polimórficas cristalinas presentan una peor solubilidad en agua que la forma amorfa. Esto conduce a una menor biodisponibilidad en comparación con la forma amorfa.

Además, es objeto de la presente invención el compuesto de fórmula (I) en forma amorfa. Mediante la utilización según la invención del compuesto de

fórmula (I) en la forma amorfa se asegura que se consigue una máxima biodisponibilidad.

La forma amorfa del compuesto de fórmula (I) tiene un difractograma de rayos X, espectro NIR, espectro FIR y espectro Raman (fig. 8-12) característicos.

- 5 El compuesto de fórmula (I) en la forma amorfa tiene una temperatura de transición vítrea de aproximadamente 83°C (DSC, fig. 7).

- 10 El compuesto de fórmula (I) según la invención en la modificación II o en la forma amorfa se utiliza en formulaciones farmacéuticas en alta pureza. Debido a motivos de estabilidad, una formulación farmacéutica contiene principalmente el compuesto de fórmula (I) en la modificación II o en la forma amorfa y ninguna proporción mayor de otra forma como por ejemplo otra modificación o un solvato del compuesto de fórmula (I). El fármaco contiene preferiblemente más del 90 por ciento en peso, con especial preferencia más del 95 por ciento en peso del compuesto de fórmula (I) en la modificación II o en la forma amorfa referido a la
- 15 cantidad total del compuesto contenido de fórmula (I).

Otro objeto de la presente invención es la utilización del compuesto de fórmula (I) en la modificación II o en la forma amorfa para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, preferiblemente de enfermedades tromboembólicas y/o complicaciones tromboembólicas.

- 20 En el sentido de la presente invención, entre las "enfermedades tromboembólicas" figuran especialmente enfermedades como infarto de miocardio con elevación del segmento ST (IMEST) y sin elevación del segmento ST (sin IMEST), angina de pecho estable, angina de pecho inestable, reoclusiones y reestenosis después de intervenciones coronarias como angioplastia o derivación
- 25 aortocoronaria, enfermedades arteriales obstructivas periféricas, embolias pulmonares, trombosis venosas profundas y trombosis de la vena renal, ataques isquémicos transitorios, así como apoplejía trombótica y tromboembólica.

- Por tanto, el compuesto según la invención también es adecuado para la prevención y el tratamiento de tromboembolias cardiogénicas, como por ejemplo
- 30 isquemias cerebrales, ataque de apoplejía y tromboembolias e isquemias sistémicas, en pacientes con arritmias cardíacas agudas, intermitentes o

persistentes, como por ejemplo fibrilación auricular y aquellos que se someten a una cardioversión, además de en pacientes con enfermedades de las válvulas cardíacas o con válvulas cardíacas artificiales. Además, el compuesto según la invención es adecuado para el tratamiento de coagulación intravascular
5 diseminada (CID).

Además, las complicaciones tromboembólicas aparecen en anemias hemolíticas microangiopáticas, circulaciones sanguíneas extracorporales, como hemodiálisis, así como prótesis de válvulas cardíacas.

Además, el compuesto según la invención también se considera para la
10 profilaxis y/o el tratamiento de enfermedades vasculares ateroscleróticas y enfermedades inflamatorias tales como enfermedades reumáticas del aparato locomotor, y además para la profilaxis y/o el tratamiento de enfermedad de Alzheimer. Además, el compuesto según la invención puede utilizarse para la inhibición del crecimiento tumoral y de la formación de metástasis, en
15 microangiopatías, degeneración macular asociada a la edad, retinopatía diabética, nefropatía diabética y otras enfermedades microvasculares, así como para la prevención y el tratamiento de complicaciones tromboembólicas, como por ejemplo tromboembolias venosas, en pacientes con tumores, especialmente aquellos que se someten a intervenciones quirúrgicas mayores o a una
20 quimioterapia o radioterapia.

Además, el compuesto según la invención también puede utilizarse para evitar la coagulación *ex vivo*, por ejemplo para conservar hemoderivados y productos de plasma, para limpiar/tratar previamente catéteres y otros medios y aparatos médicos auxiliares, para el recubrimiento de superficies sintéticas de
25 medios y aparatos médicos auxiliares utilizados *in vivo* o *ex vivo* o en muestras biológicas que contienen el factor Xa.

Otro objeto de la presente invención es el uso del compuesto según la invención para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente de las enfermedades previamente mencionadas.

30 Otro objeto de la presente invención es el uso del compuesto según la invención para la preparación de un fármaco para el tratamiento y/o la profilaxis

de enfermedades, especialmente de las enfermedades previamente mencionadas.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente de las enfermedades
5 previamente mencionadas, con uso de una cantidad anticoagulatoriamente eficaz del compuesto según la invención.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento para evitar la coagulación sanguínea *in vitro*, especialmente en hemoderivados o muestras biológicas que contienen el factor Xa, que se caracteriza porque se añade una
10 cantidad anticoagulatoriamente eficaz del compuesto según la invención.

Otro objeto de la presente invención son fármacos que contienen el compuesto según la invención y uno o varios principios activos, especialmente para el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades previamente mencionadas. Como principios activos de combinación adecuados son de
15 mencionar a modo de ejemplo y preferiblemente:

- Agentes hiporredutores, especialmente inhibidores de la HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A)-reductasa;
- Agentes terapéuticos coronarios/vasodilatadores, especialmente inhibidores de ACE (enzima convertidora de angiotensina); antagonistas del receptor All (angiotensina II); antagonistas de los β -adrenoceptores; antagonistas de los alfa-1-adrenoceptores; diuréticos; bloqueadores de los canales de calcio; sustancias que producen un aumento de guanosinmonofosfato cíclico (GMPc), como por ejemplo estimulantes de la guanilatociclasa soluble;
- 20 • Activadores de plasminógeno (trombolíticos/fibrinolíticos) y los compuestos que aumentan la trombólisis/fibrinólisis como inhibidores del inhibidor del activador del plasminógeno (inhibidores del PAI) o inhibidores del inhibidor de la fibrinólisis activado por trombina (inhibidores de TAFI);
- 25 • Sustancias anticoagulatoriamente eficaces (anticoagulantes);
- 30 • Sustancias inhibidoras de la agregación plaquetaria (inhibidores de

la agregación plaquetaria, inhibidoras de la agregación trombocítica);

- así como antagonistas de los receptores de fibrinógeno (antagonistas de glucoproteína IIb/IIIa).

Otro objeto de la presente invención son fármacos que contienen el
5 compuesto según la invención, normalmente junto con uno o varios coadyuvantes inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados, así como su uso para los fines previamente mencionados.

El compuesto según la invención puede actuar sistémicamente y/o
localmente. Para este fin pueden administrarse de un modo adecuado, como por
10 ejemplo, por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, dérmica, transdérmica, conjuntiva, ótica o como injerto o prótesis.

Para estas vías de administración, el compuesto según la invención puede administrarse en formas de administración adecuadas.

Para la administración por vía oral son adecuados según el estado de la
15 técnica formas de administración eficaces que liberan rápidamente y/o de forma modificada el compuesto según la invención, que contienen el compuesto de fórmula (I) en la modificación II o en la forma amorfa, como por ejemplo comprimidos (comprimidos no recubiertos o recubiertos, por ejemplo con recubrimientos resistentes a los jugos gástricos o que se disuelven de forma
20 retardada o insolubles que controlan la liberación del compuesto según la invención), comprimidos que se descomponen rápidamente en la cavidad bucal o películas/obleas, películas/líofilizados, cápsulas (por ejemplo cápsulas de gelatina dura o blanda), comprimidos recubiertos de azúcar, gránulos, grageas, polvos, suspensiones o aerosoles.

25 La administración parenteral puede realizarse evitando una etapa de resorción (por ejemplo por vía intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intraespinal o intralumbar) o con inserción de una resorción (por ejemplo por vía intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Para la administración parenteral son adecuadas como formas de administración, entre
30 otras, preparados para inyección e infusión en forma de suspensiones, líofilizados o polvos estériles.

Para las otras vías de administración son adecuadas, por ejemplo, formas farmacéuticas para inhalación (entre otras inhaladores de polvo, nebulizadores), comprimidos que deben administrarse por vía lingual, sublingual o bucal, películas/obleas o cápsulas, supositorios, preparados para el oído o los ojos, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas para agitar), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, sistemas terapéuticos transdérmicos (por ejemplo parches), leche, pastas, espumas, polvos para dispersar, injertos o prótesis.

Se prefieren la administración por vía oral o parenteral, especialmente la administración por vía oral.

El compuesto según la invención puede convertirse en las formas de administración indicadas. Esto puede producirse de una manera conocida en sí mediante mezcla con coadyuvantes inertes no tóxicos farmacéuticamente adecuados. Entre estos coadyuvantes figuran, entre otros, excipientes (por ejemplo celulosa microcristalina, lactosa, manitol), disolventes (por ejemplo polietilenglicoles líquidos), emulgentes y agentes dispersantes o reticulantes (por ejemplo dodecilsulfato sódico, oleato de polioxisorbitano), aglutinantes (por ejemplo polivinilpirrolidona), polímeros sintéticos y naturales (por ejemplo albúmina), estabilizantes (por ejemplo antioxidantes como por ejemplo ácido ascórbico), colorantes (por ejemplo pigmentos inorgánicos como por ejemplo óxidos de hierro) y correctores del sabor y/o el olor.

En general, ha demostrado ser ventajoso administrar para la aplicación parenteral cantidades de aproximadamente 0,001 a 1 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a 0,5 mg/kg de peso corporal para lograr los resultados deseados. Para la administración por vía oral, la dosificación asciende a de aproximadamente 0,01 a 100 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a 20 mg/kg y de manera muy especialmente preferida de 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal.

No obstante, dado el caso puede ser necesario desviarse de las cantidades mencionadas y concretamente en función del peso corporal, vía de administración, reacción individual al principio activo, tipo de preparado y

momento o intervalo en el que tiene lugar la administración. Entonces, en algunos casos puede ser suficiente arreglárselas con menos de la cantidad mínima previamente mencionada, mientras que en otros casos debe superarse el límite superior mencionado. En caso de administración de mayores cantidades puede ser recomendable repartir éstas en varias administraciones únicas durante el día.

Otro objeto de la invención es un procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (I) en la modificación II disolviendo el compuesto de fórmula (I) en la modificación I en un disolvente inerte y precipitando el principio activo mediante adición de un agente precipitante a una temperatura entre 0°C y 80°C, preferiblemente de 20 a 25°C. El precipitado se aísla y se seca. Así se obtiene el compuesto de fórmula (I) en la modificación II.

También es objeto de la invención un procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (I) en la modificación II disolviendo el compuesto de fórmula (I) en la modificación I en un disolvente inerte y almacenando, preferiblemente a alta temperatura, especialmente a una temperatura de 30°C hasta la temperatura de reflujo del disolvente, hasta evaporación completa del disolvente y recristalización del principio activo. Así se obtiene el compuesto de fórmula (I) en la modificación II.

También es objeto de la invención un procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (I) en la modificación II suspendiendo el compuesto de fórmula (I) en la forma amorfa en un disolvente inerte anhidro y removiendo o agitando hasta conseguir el grado de conversión deseado, especialmente hasta la conversión cuantitativa, en la modificación II. El cristal obtenido se aísla y se seca. Así se obtiene el compuesto de fórmula (I) en la modificación II.

Como disolventes inertes son adecuados alcoholes inferiores como por ejemplo metanol, etanol, n-propanol, iso-propanol, n-butanol, sec-butanol, iso-butanol, 1-pentanol, o cetonas como acetona, o alcanos como n-pentano, ciclopentano, n-hexano, ciclohexano, o tetrahidrofurano, o acetonitrilo, o tolueno, o acetato de etilo o 1,4-dioxano, o mezclas de los disolventes mencionados, o mezclas de los disolventes mencionados con agua. Se prefieren acetona, tetrahidrofurano, 1-pentanol o mezclas de los disolventes mencionados. Como

agentes precipitantes son adecuados disolventes anhidros inertes en los que el principio activo es difícilmente soluble, como por ejemplo, n-heptano, ciclohexano o tolueno. Se prefiere n-heptano.

El compuesto de fórmula (I) en la modificación II se prepara preferiblemente disolviendo el compuesto de fórmula (I) en la modificación I en acetona o tetrahidrofurano y precipitando el principio activo mediante adición de n-heptano a una temperatura entre 0 y 80°C, preferiblemente a una temperatura de 20 a 25°C. El precipitado se aísla y se seca. Así se obtiene el compuesto de fórmula (I) en la modificación II.

El compuesto de fórmula (I) también se prepara preferiblemente en la modificación II disolviendo el compuesto de fórmula (I) en la modificación I en 1,4-dioxano y almacenando a alta temperatura, especialmente a una temperatura de 30°C hasta la temperatura de reflujo del disolvente, por ejemplo 50°C, hasta evaporación completa del disolvente y recristalización del principio activo. Así se obtiene el compuesto de fórmula (I) en la modificación II.

El compuesto de fórmula (I) en la modificación II se prepara preferiblemente suspendiendo el compuesto de fórmula (I) en la forma amorfa en un disolvente anhidro inerte y removiendo o agitando hasta conseguir el grado de conversión deseado en la modificación II a una temperatura de 20 a 25°C. El cristal obtenido se aísla y se seca. Así se obtiene el compuesto de fórmula (I) en la modificación II.

Otro objeto de la invención es un procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (I) en la forma amorfa fundiendo el compuesto de fórmula (I) en una forma cristalina y a continuación enfriando rápidamente. Así se obtiene el compuesto de fórmula (I) en la forma amorfa.

El compuesto de fórmula (I) se prepara preferiblemente en la forma amorfa fundiendo el compuesto de fórmula (I) en una forma cristalina a una temperatura de al menos 230°C, especialmente a una temperatura de 240 a 250°C, y a continuación enfriando rápidamente. Así se obtiene el compuesto de fórmula (I) en la forma amorfa.

En este caso, de las formas cristalinas modificación I, II y III se utilizan

preferiblemente la modificación I o II, especialmente la modificación I.

Mediante el rápido enfriamiento se lleva la temperatura del compuesto (I) preferiblemente hasta la temperatura ambiente o próxima a ella, por ejemplo hasta una temperatura de aproximadamente de 15 a 30°C, especialmente de
5 aproximadamente 20 a 25°C. El rápido enfriamiento tiene lugar preferiblemente en el plazo de pocos segundos, por ejemplo en el plazo de aproximadamente 5 segundos. Para el enfriamiento rápido se utiliza preferiblemente enfriamiento brusco.

El compuesto de fórmula (I) en la modificación III puede prepararse
10 disolviendo el compuesto de fórmula (I) en la modificación I en un disolvente inerte, por ejemplo acetona. La disolución se mezcla con agua y se deja reposar a temperatura ambiente hasta que el disolvente se evapora completamente. Así se obtiene el compuesto de fórmula (I) en la modificación III.

El hidrato del compuesto de fórmula (I) puede prepararse disolviendo el
15 compuesto de fórmula (I) en la modificación I en etanol:agua (1:1). La disolución se almacena a una temperatura de aproximadamente -20°C hasta que el disolvente se evapora. Así se obtiene el hidrato del compuesto de fórmula (I).

El solvato de NMP del compuesto de fórmula (I) puede prepararse, suspendiendo el compuesto de fórmula (I) en la modificación I en 1-metil-2-
20 pirrolidona y agitando a temperatura ambiente. Después de 2 días se filtra y el producto se seca. Así se obtiene el solvato de NMP del compuesto de fórmula (I) con una proporción de NMP del 18,5 por ciento en peso.

El compuesto de inclusión con THF del compuesto de fórmula (I) puede prepararse disolviendo el compuesto de fórmula (I) en la modificación I en
25 tetrahidrofurano. La disolución se almacena a temperatura ambiente hasta que el disolvente se evapora. Así se obtiene el compuesto de inclusión con THF del compuesto de fórmula (I).

Los datos de porcentajes en las siguientes pruebas y ejemplos son, siempre y cuando no se indique lo contrario, porcentajes en peso; partes son
30 partes en peso. Las relaciones de disolventes, relaciones de dilución y datos de concentración de disoluciones líquido/líquido se refieren respectivamente al

volumen.

Ejemplos de realización

Los termogramas se obtuvieron con uso de un calorímetro diferencial de barrido DSC 7 o Pyris-1 y analizador termogravimétrico TGA 7 de la empresa Perkin-Elmer. Los difractogramas de rayos X se registraron en un difractómetro de transmisión Stoe. Los espectros IR, FIR, NIR y Raman se grabaron con espectrómetros IR de Fourier IFS 66v (IR, FIR), IFS 28/N (NIR) y RFS 100 (Raman) de la empresa Bruker.

Ejemplo 1: 5-cloro-N-((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I

La preparación de la modificación I del compuesto del título se describe en los documentos WO 01/47919 y WO 2004/060887.

Ejemplo 2: Preparación de 5-cloro-N-((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación II

Ejemplo 2.1

Se suspendieron 208 g ácido clorotiofenocarboxílico en 1100 ml de tolueno y se calentaron hasta de 75 a 80°C. A esta temperatura se añadieron gota a gota en el plazo de 2 h 112 ml de cloruro de tionilo. La disolución de reacción formada se agitó otras 2 h hasta finalizar el desprendimiento de gases. En esto, la temperatura interna se aumentó en etapas de 5° hasta 100-110°C. La mezcla se enfrió y la disolución del cloruro de ácido se concentró en el rotavapor.

Se suspendieron 350 g de clorhidrato de oxamina en 2450 ml de NMP, se mezclaron con 385 ml de trietilamina y se agitaron 15 min. La mezcla se enfrió hasta 10°C, se mezcló con la disolución del cloruro de ácido y 70 ml de tolueno y se agitó. A esta suspensión se añadieron 350 ml de agua del grifo y se calentó hasta 82°C. Después de la filtración, el principio activo se precipitó con 3,5 l de agua y se agitó 2 h. Secado a 70°C al vacío.

Ejemplo 2.2

Se disolvieron en caliente aproximadamente 200 mg de 5-cloro-N-((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I en aproximadamente 80 ml de tetrahidrofurano. La disolución se

filtró y se dividió en dos. Una mitad se mezcló a temperatura ambiente con n-heptano hasta que precipitó el principio activo. El residuo se eliminó por filtración y se secó a temperatura ambiente. Se analizó mediante refractometría de rayos X y se correspondió con el compuesto del título en la modificación II.

5 Ejemplo 2.3

Se disolvieron en caliente aproximadamente 200 mg de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I en aproximadamente 40 ml de 1-pentanol. La disolución se filtró y se dividió en dos. Una mitad se mezcló con n-heptano hasta que precipitó el principio activo. El residuo se eliminó por filtración y se secó a temperatura ambiente. Se analizó mediante refractometría de rayos X y se correspondió con el compuesto del título en la modificación II.

Ejemplo 2.4

Se disolvieron en caliente aproximadamente 200 mg de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I en aproximadamente 40 ml de 1,4-dioxano. La disolución se filtró y se dividió en dos. Una mitad se almacenó a 50°C en una estufa de secado hasta que se evaporó el disolvente. El residuo se analizó mediante refractometría de rayos X y se correspondió con el compuesto del título en la modificación II.

20 Ejemplo 2.5

Se suspendieron aproximadamente 50 mg de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida en la forma amorfa, preparada mediante fusión en el banco de calor de Kofler a aproximadamente 240°C y posterior enfriamiento brusco hasta temperatura ambiente, en aproximadamente 2 ml de etanol y se agitaron 0,5 h a 25°C. El cristal se aisló y se secó. El residuo se analizó mediante refractometría de rayos X y se correspondió con el compuesto del título en la modificación II.

Ejemplo 2.6

Se disolvieron en caliente aproximadamente 100 mg de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I en aproximadamente 50 ml de acetona. La disolución se filtró

y se mezcló en un baño con hielo con n-heptano hasta que precipitó el principio activo. El residuo se eliminó por filtración y se secó a temperatura ambiente. Se analizó mediante refractometría de rayos X y se correspondió con el compuesto del título en la modificación II.

5 **Ejemplo 3: Preparación de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il}-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación III**

Se disolvieron en caliente aproximadamente 120 mg de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il}-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I en aproximadamente 50 ml de acetona. La disolución se filtró, se mezcló con aproximadamente 50 ml de agua y se dejó reposar a temperatura ambiente hasta que se evaporó el disolvente. El residuo se analizó mediante termoanálisis y se correspondió con el compuesto del título en la modificación III.

Ejemplo 4: Preparación del hidrato de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il}-metil)-2-tiofenocarboxamida

15 Se disolvieron en caliente aproximadamente 400 mg de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il}-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I en aproximadamente 60 ml de etanol:agua (1:1) y se filtró. Una parte de la disolución se guardó en el congelador a una temperatura de aproximadamente -20°C hasta que se evaporó el disolvente. El residuo se correspondió con el hidrato del compuesto del título.

Ejemplo 5: Preparación del solvato NMP de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il}-metil)-2-tiofenocarboxamida

25 Se suspendieron aproximadamente 3,5 g de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il}-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I en 10 ml de 1-metil-2-pirrolidona y se agitó a temperatura ambiente. Después de algunas horas se añadieron otros aproximadamente 20 ml de NMP. Después de dos días, la suspensión se aspiró y el residuo se secó a temperatura ambiente. El residuo se analizó mediante termoanálisis y se correspondió con el solvato de NMP del compuesto del título con una proporción de NMP del 18,5 por ciento en peso.

Ejemplo 6: Preparación del compuesto de inclusión con THF de 5-cloro-N-

{{(5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il}-metil)-2-tiofenocarboxamida

Se disolvieron en caliente aproximadamente 400 mg de 5-cloro-N-{{(5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il}-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I en aproximadamente 50 ml de tetrahidrofurano y se filtró. Una parte de la disolución se guardó a temperatura ambiente hasta que se evaporó el disolvente. El residuo se analizó mediante termoanálisis y se correspondió con el compuesto de inclusión con THF del compuesto del título.

Tab. 1: Calorimetría diferencial de barrido y termogravimetría

	Modificación I	Modificación II	Modificación III	Hidrato	Solvato de NMP	ESV Tolueno
Punto de fusión [°C]	230	230	-	-	-	-
Punto de transición [°C]	-	aprox. 192	aprox. 127	-	-	-
Pérdida de masa [% en peso]	0,1	0,1	< 0,5	aprox. 4	18,5	5-7

10



Tab. 2: Difractometría de rayos X

Reflejos					
Modificación I [2 theta]	Modificación II [2 theta]	Modificación III [2 theta]	Hidrato [2 theta]	Solvato de NMP [2 theta]	ESV con THF [2 theta]
8,9	17,7	16,5	21,7	21,3	14,3
12,0	18,1	17,5	22,5	21,8	14,7
14,3	18,4	19,1	24,2	22,3	16,5
16,5	19,0	19,6	25,6	22,7	16,8
17,4	19,9	19,8	25,8	23,1	17,5
18,1	20,8	23,1	28,8	23,3	19,6
19,5	21,6	23,2	29,5	23,5	19,9
19,9	22,1	23,8	31,8	24,0	21,7
21,7	22,9	24,3	32,7	24,7	22,5
22,5	24,1	28,1	4,8	24,9	23,4
23,4	26,1	28,2	5,8	25,2	24,5
24,1	26,4	31,2	7,3	26,0	24,7
24,5	26,6	3,6	10,9	26,5	25,2
24,7	27,2	14,3	14,5	26,9	25,6
25,6	27,5	16,4	15,2	28,0	26,4
26,4	28,8	16,6	15,7	28,8	26,7
26,7	29,8	17,5	16,0	29,2	28,7
30,0	31,0	19,3	17,6	29,5	30,1
30,1	31,6	19,6	17,9	29,8	31,0
31,8	32,9	19,9	20,0	9,0	31,8
12,8	11,7	20,2	20,6	12,0	

Tab. 3: Espectroscopía IR

Picos máximos				
Modificación I [cm ⁻¹]	Modificación II [cm ⁻¹]	Modificación III [cm ⁻¹]	Hidrato [cm ⁻¹]	Solvato de NMP [cm ⁻¹]
564	552	515	708	497
686	598	546	755	547
708	692	596	776	562
746	713	611	820	708
757	725	644	920	749
830	756	688	992	819
846	809	709	1054	838
920	825	748	1089	921
991	833	755	1120	987
1011	924	776	1146	1065
1056	994	812	1221	1088
1077	1067	816	1289	1123
1120	1085	842	1312	1143
1146	1097	864	1324	1162
1163	1121	921	1340	1225
1219	1146	992	1349	1242
1286	1232	1016	1413	1260
1307	1285	1054	1429	1292
1323	1310	1089	1469	1302
1341	1328	1121	1485	1315
1374	1345	1148	1518	1330
1411	1415	1161	1555	1354
1429	1431	1224	1630	1387
1470	1473	1261	1668	1414
1486	1523	1288	1738	1421
1517	1554	1313	2873	1430
1546	1631	1325	3341	1471

1605	1648	1348		1517
1646	1663	1380		1566
1669	1723	1412		1636
1737	1745	1429		1665
2867	3341	1473		1755
2895		1518		2887
2936		1553		2928
2976		1629		2948
3354		1668		2983
		1741		3045
		2878		3085
		3080		3247
		3340		

Tab. 4: Espectroscopía Raman

Picos máximos				
Modificación I [cm ⁻¹]	Modificación II [cm ⁻¹]	Modificación III [cm ⁻¹]	Hidrato [cm ⁻¹]	Solvato de NMP [cm ⁻¹]
84	86	85	85	85
111	184	112	111	105
642	276	165	132	119
672	345	671	642	485
687	485	712	672	671
745	643	743	711	710
779	672	778	744	743
792	716	793	778	776
1083	742	996	793	800
1099	778	1093	922	1193
1232	800	1288	1073	1229
1280	864	1322	1083	1233
1307	925	1428	1097	1242
1325	995	1442	1231	1259
1343	1086	1475	1301	1282
1428	1119	1555	1325	1313
1473	1149	1610	1428	1319
1485	1196	1626	1473	1328
1548	1227	1663	1485	1412
1605	1248	1669	1548	1433
1638	1282	1723	1605	1473
1664	1310	2881	1638	1608
1722	1330	2992	1722	1629
2899	1432	3020	2885	1660
2944	1474	3098	2898	1763
2983	1556		2944	2844

3074	1608		2983	2889
	1631		3074	2931
	1648			2946
	1722			2984
	2885			3075
	2938			3096
	2989			
	3077			
	3091			

Tab. 5: Espectroscopía FIR

Modificación I [cm ⁻¹]	Picos máximos		
	Modificación II [cm ⁻¹]	Hidrato [cm ⁻¹]	Solvato de NMP [cm ⁻¹]
82	83	83	84
97	96	96	126
138	126	126	137
169	146	134	169
179	159	138	190
210	190	156	209
226	213	168	237
247	244	179	282
272	279	226	297
283	293	247	308
298	304	271	317
303	344	298	344
350	363	304	353
394	401	349	400
417	416	394	413
438	437	408	417
458	456	417	432
475	484	438	459
484		455	471
		472	485
		484	498

Tab. 6: Espectroscopía NIR

Picos máximos				
Modificación I [cm ⁻¹]	Modificación II [cm ⁻¹]	Modificación III [cm ⁻¹]	Hidrato [cm ⁻¹]	Solvato de NMP [cm ⁻¹]
4082	4086	4080	4083	4040
4142	4228	4218	4228	4084
4170	4418	4329	4305	4213
4228	4457	4398	4384	4382
4299	4634	4606	4631	4552
4376	4905	4891	4905	4638
4429	5846	5066	5145	4830
4479	5911	6022	5760	5815
4633	6026	6072	5833	6091
4791	6081		5889	7213
4877	6582		6023	8527
4907			6076	
5081			6555	
5760			6868	
5885				
6002				
6441				
6564				
8473				
8833				

Ejemplo 7: Preparación de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida en forma amorfa

5 **Ejemplo 7.1**

Se fundieron aproximadamente 50 mg de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I en el banco de calor de Kofler a aproximadamente 240°C y a continuación se

llevó hasta temperatura ambiente mediante enfriamiento brusco. El principio activo se analizó mediante refractometría de rayos X y estaba en la forma amorfa.

Ejemplo 7.2

Se fundieron aproximadamente 3 g de 5-cloro-N-(((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-2-tiofenocarboxamida en la modificación I en la estufa de secado a aproximadamente 250°C y a continuación se llevaron hasta temperatura ambiente mediante enfriamiento brusco. El principio activo se analizó mediante refractometría de rayos X y estaba en la forma amorfa.

Tab. 7: Calorimetría diferencial de barrido y termogravimetría (forma amorfa)

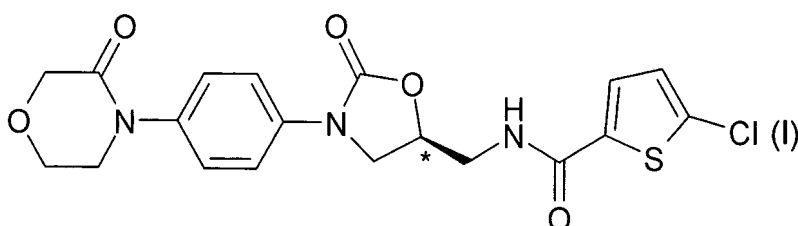
Temperatura de transición vítrea: aproximadamente 83°C

Tab. 8: Espectroscopía (forma amorfa)

Picos máximos			
IR [cm ⁻¹]	Raman [cm ⁻¹]	FIR [cm ⁻¹]	NIR [cm ⁻¹]
467	486	91	4006
512	642	97	4081
550	673	137	4224
595	711	169	4307
613	742	246	4403
643	781	272	4634
689	923	297	4875
709	965	248	5193
725	1016	393	5865
750	1078	416	6017
810	1126	438	6073
834	1224	456	6696
864	1243	474	7028
921	1290	474	8452
995	1326		8873
1015	1428		
1026	1479		
1058	1548		
1083	1607		
1126	1642		
1161	2158		
1222	2975		
1288	3090		
1312			
1325			
1380			
1407			
1428			
1480			
1516			
1549			
1607			
1647			
1753			
2126			
2869			
2933			
2967			
3084			
3317			

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. Compuesto de fórmula (I)



5 en la modificación II, que muestra máximos de pico en el espectro NIR a 4086, 4228, 4418, 4457, 4634, 4905, 5846, 5911, 6026, 6081 y 6582 cm^{-1} .

2. Procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 en la modificación II, que muestra máximos de pico en el espectro NIR a 4086, 4228, 4418, 4457, 4634, 4905, 5846, 5911, 6026, 6081 y 6582 cm^{-1} , **CARACTERIZADO PORQUE** el compuesto de fórmula (I) en la modificación I, que muestra máximos de pico en el espectro NIR a 4082, 4142, 4170, 4228, 4299, 4376, 4429, 4479, 4633, 4791, 4877, 4907, 5081, 5760, 5885, 6002, 6441, 6564, 8473 y 8833 cm^{-1} , se disuelve en alcoholes inferiores, cetonas o alcanos o tetrahidrofurano o acetonitrilo o acetato de etilo o 1,4-dioxano o mezclas de los disolventes mencionados, o mezclas de los disolventes mencionados con agua y el compuesto se precipita mediante la adición de n-heptano, ciclohexano o tolueno.

3. Procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 en la modificación II, que muestra máximos de pico en el espectro NIR a 4086, 4228, 4418, 4457, 4634, 4905, 5846, 5911, 6026, 6081 y 6582 cm^{-1} , **CARACTERIZADO PORQUE** el compuesto de fórmula (I) en la forma amorfa se suspende en n-heptano, ciclohexano o tolueno y la suspensión se remueve o agita hasta conversión cuantitativa a la modificación II.

4. Medicamento que comprende el compuesto de fórmula (I) según la

reivindicación 1 en la modificación II, que muestra máximos de pico en el espectro NIR a 4086, 4228, 4418, 4457, 4634, 4905, 5846, 5911, 6026, 6081 y 6582 cm^{-1} , en combinación con un excipiente inerte, no tóxico, farmacéuticamente adecuado.

5

10

RESUMEN

La invención se refiere a una nueva forma polimórfica y a la forma amorfa
5 de 5-cloro-N-((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morfolinil)-fenil]-1,3-oxazolidin-5-il)-metil)-
2-tiofenocarboxamida, procedimientos para su preparación, fármacos que la
contienen así como a su uso para el control de enfermedades.

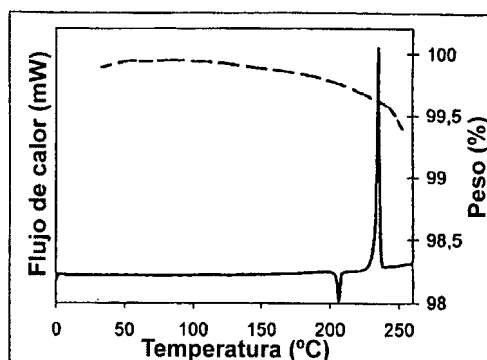
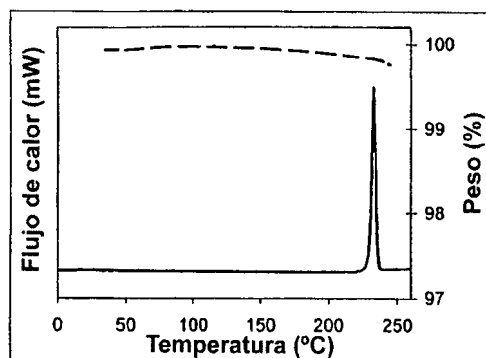
10

15

20

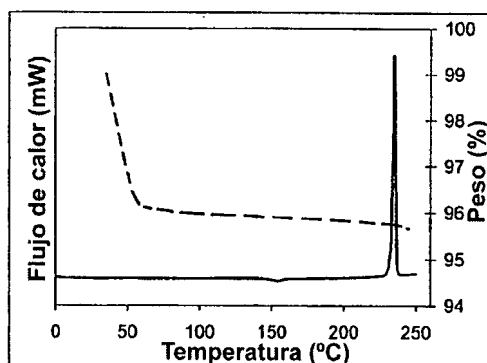
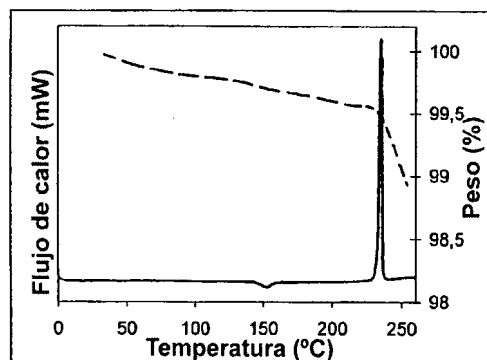
Fig. 1

Termogramas de DSC (línea continua) y TGA (línea discontinua)



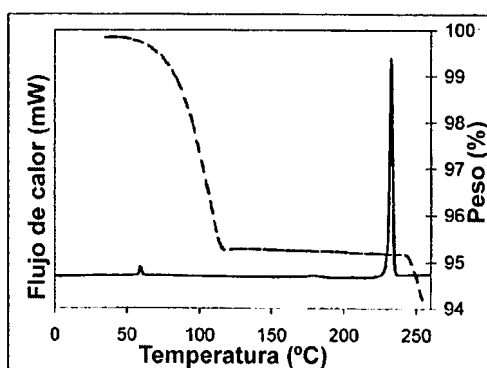
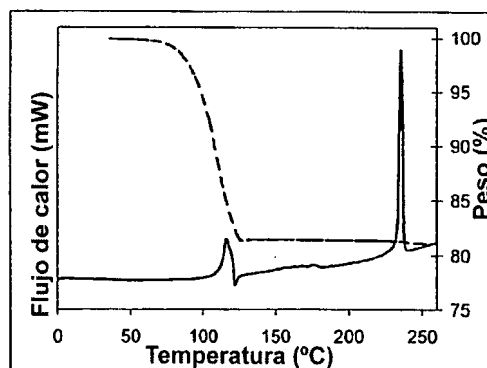
Modificación I

Modificación II



Modificación III

Hidrato



Solvato de NMP

Compuesto de inclusión con THF

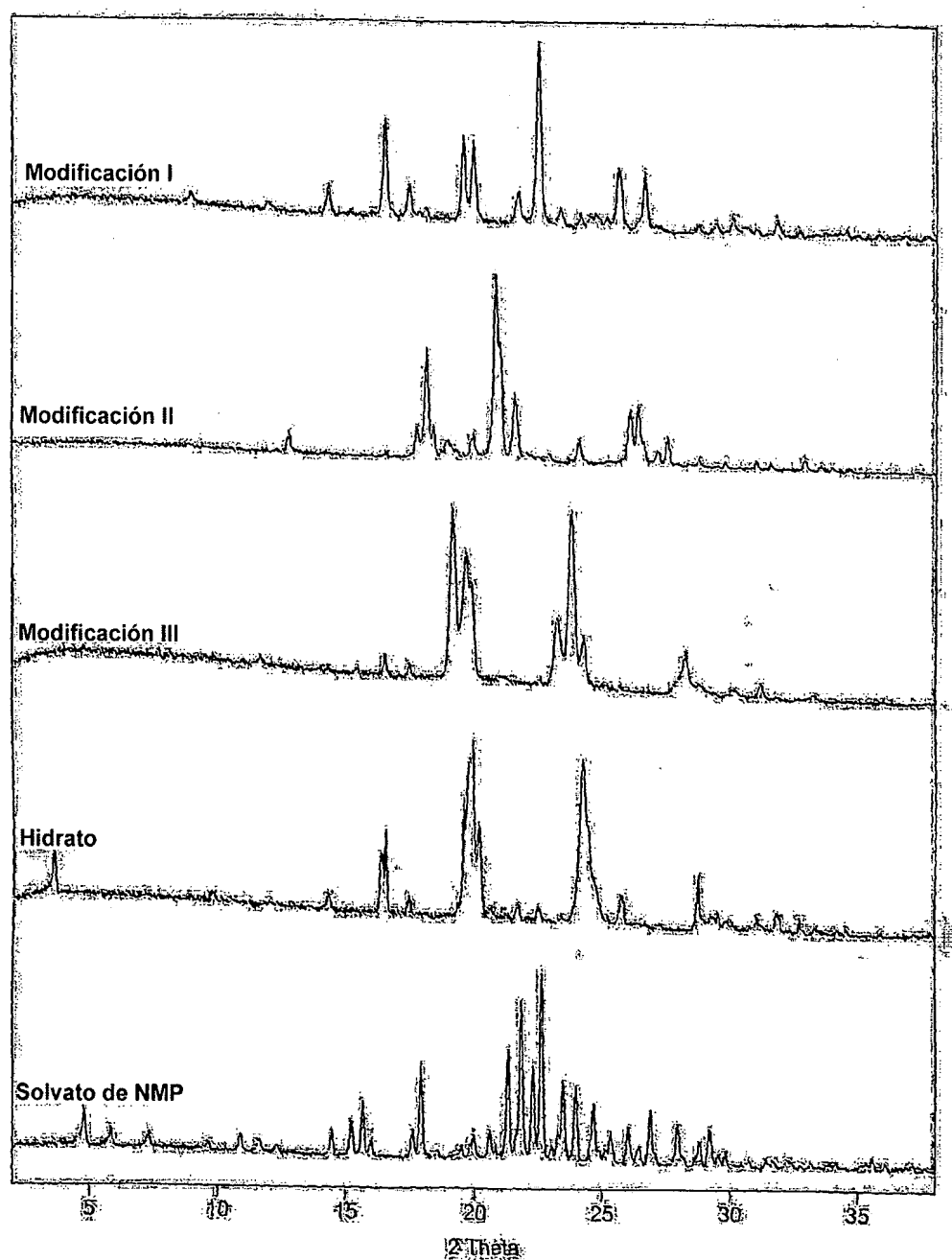
Fig. 2**Difractogramas de rayos X**

Fig. 3: Espectros IR

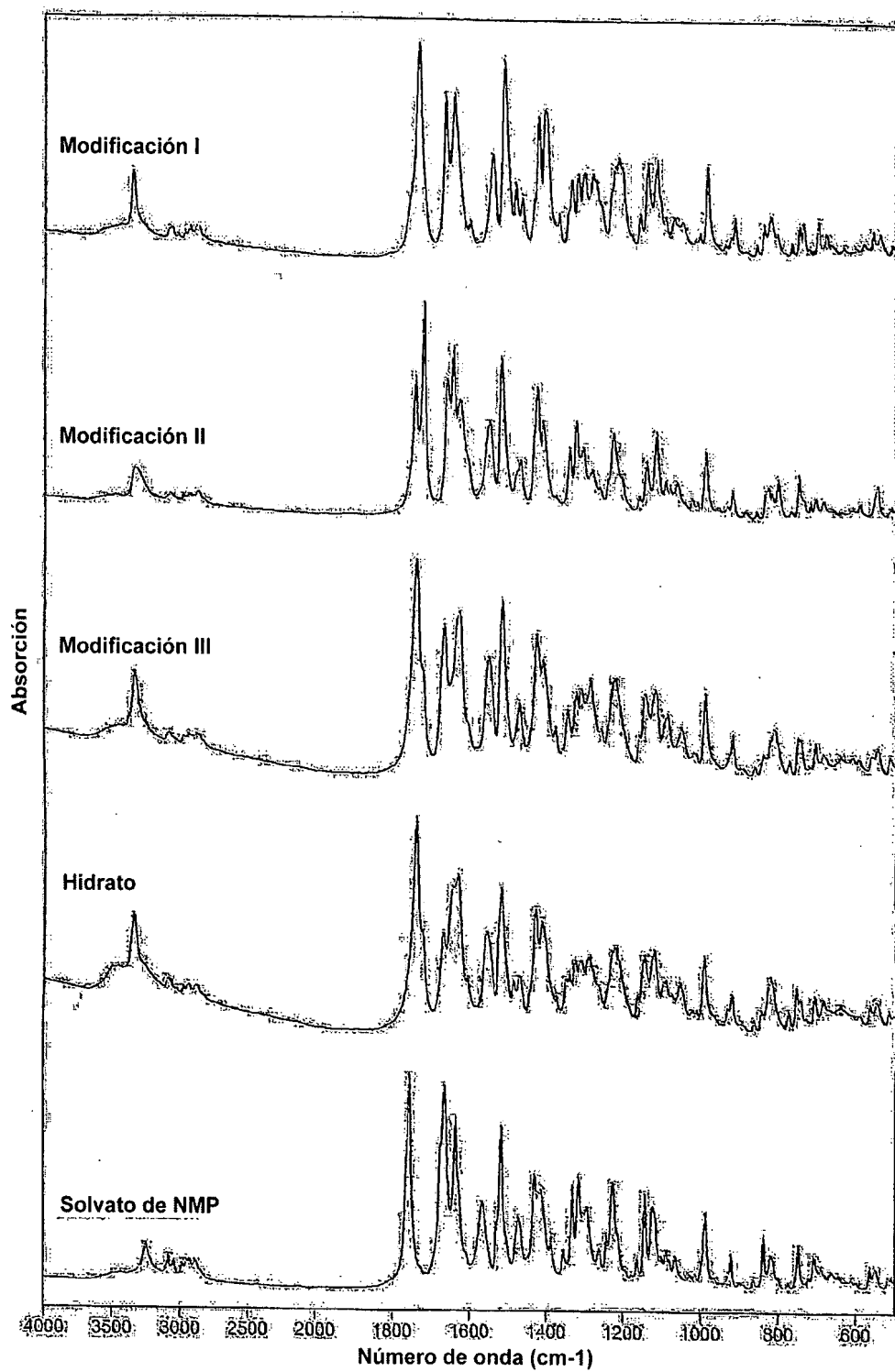


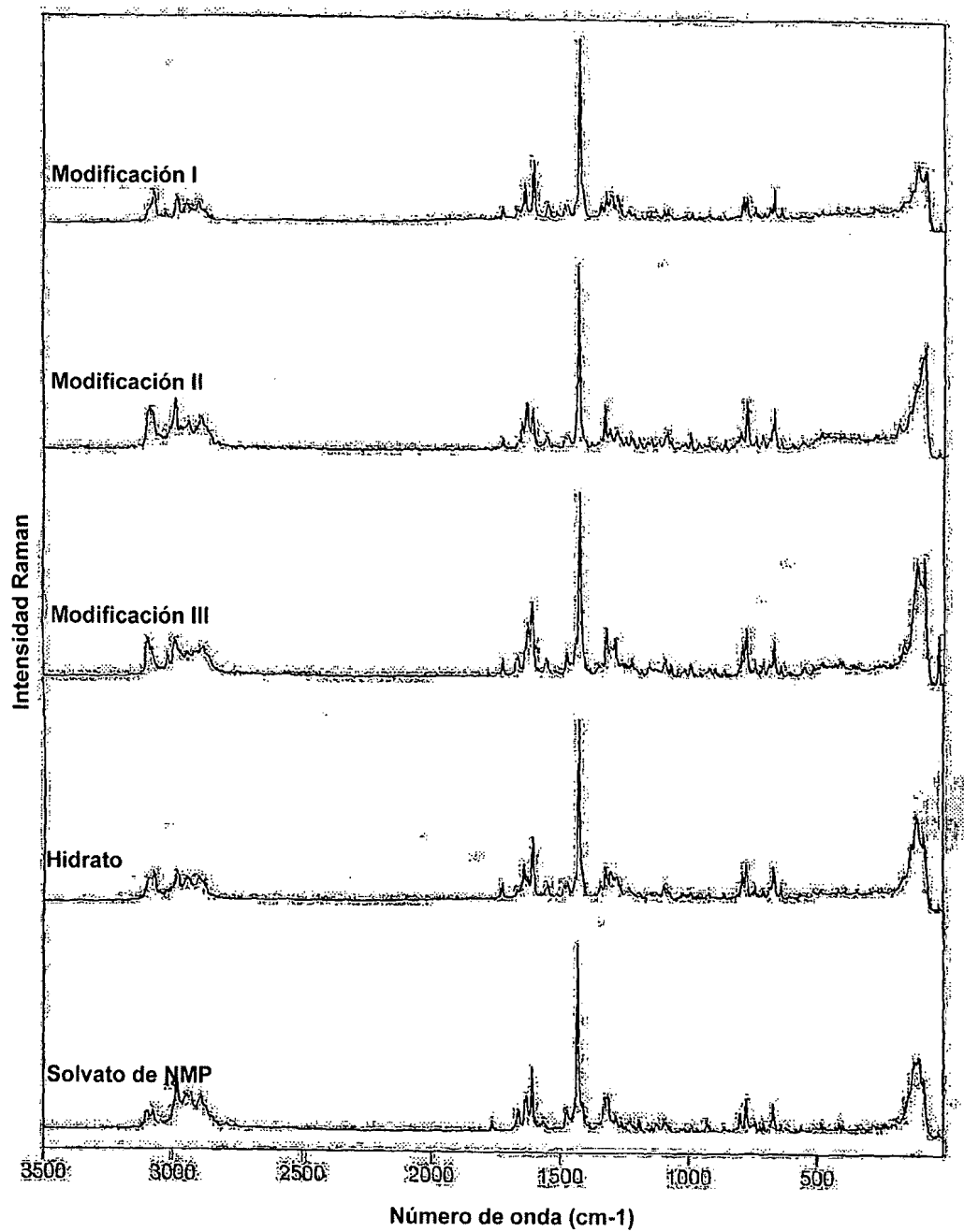
Fig. 4**Espectros Raman**

Fig. 5

Espectros FIR

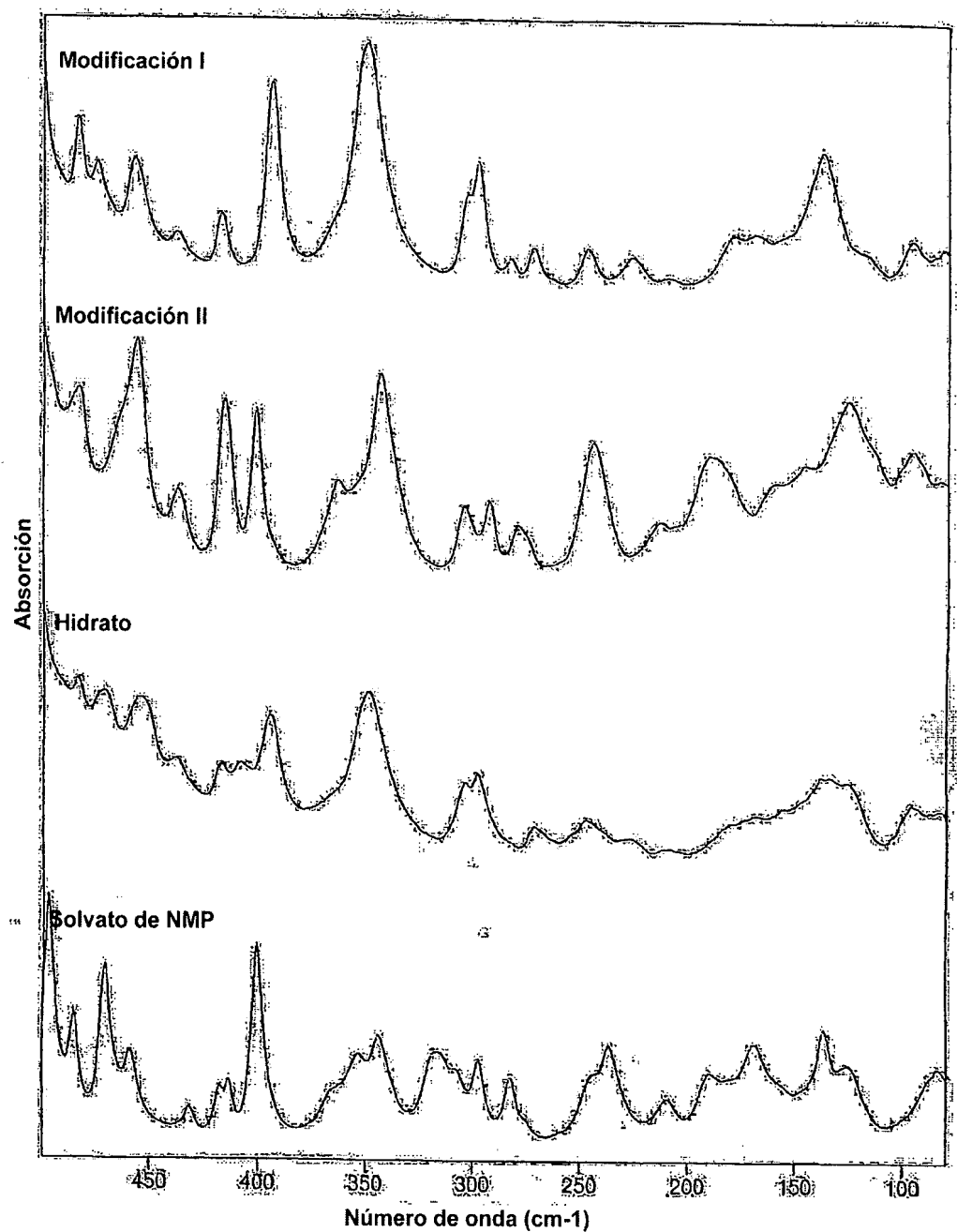


Fig. 6
Espectros NIR

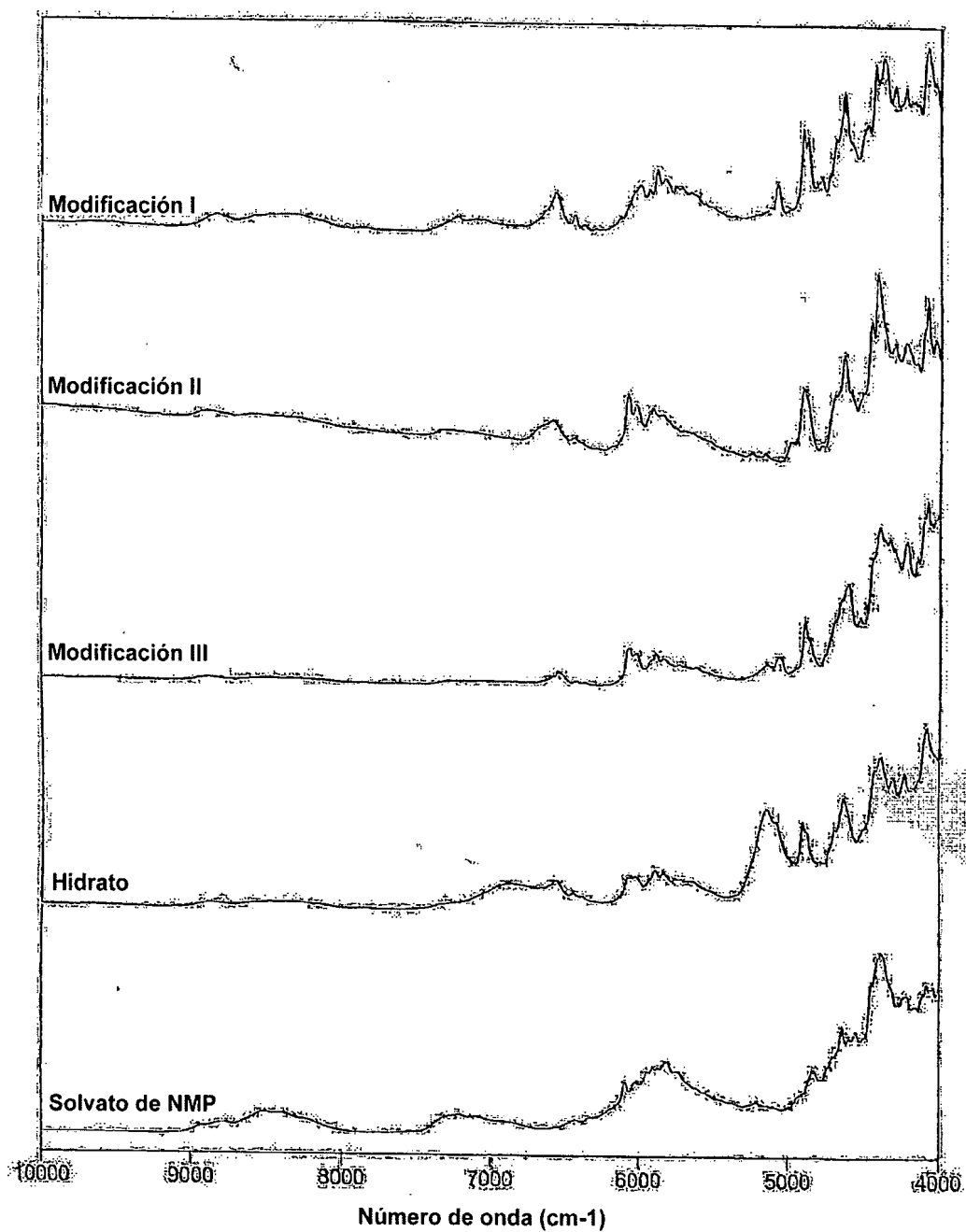


Fig. 7: Termograma de DSC (forma amorfa)

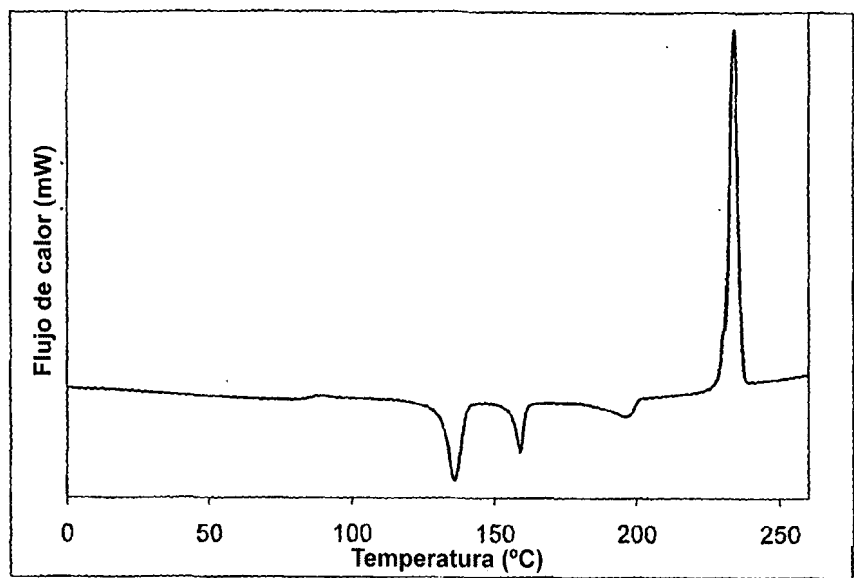


Fig. 8: Difractograma de rayos X (forma amorfa)

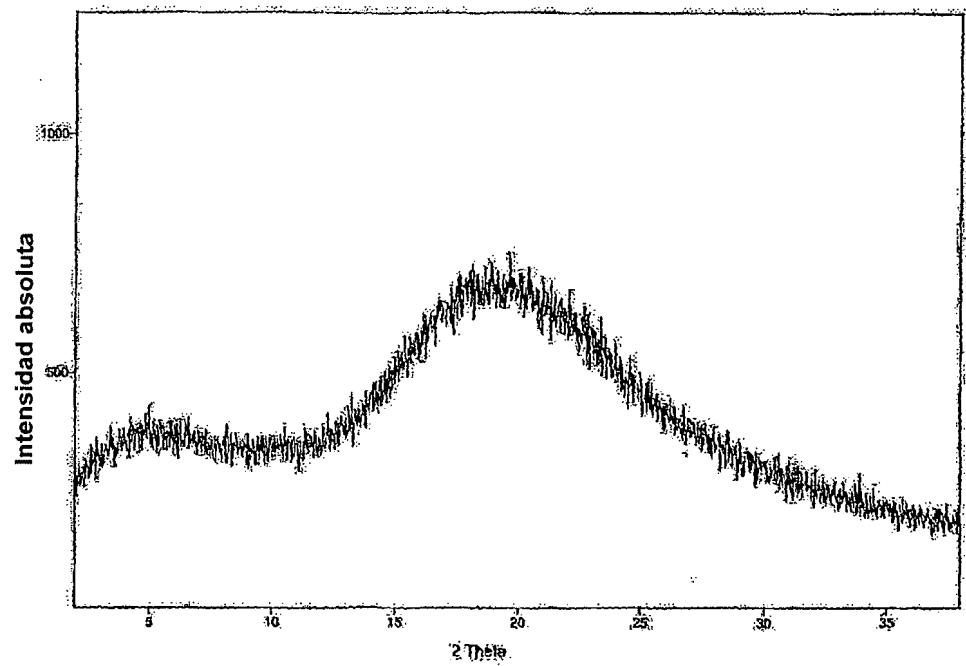


Fig. 9: Espectro IR (forma amorfa)

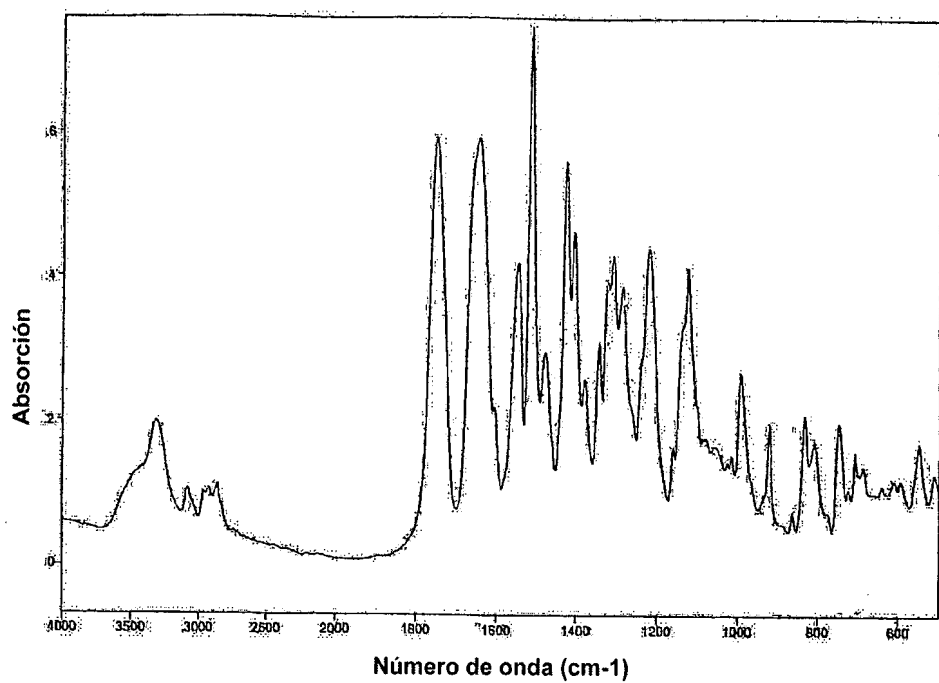


Fig. 10: Espectro Raman (forma amorfa)

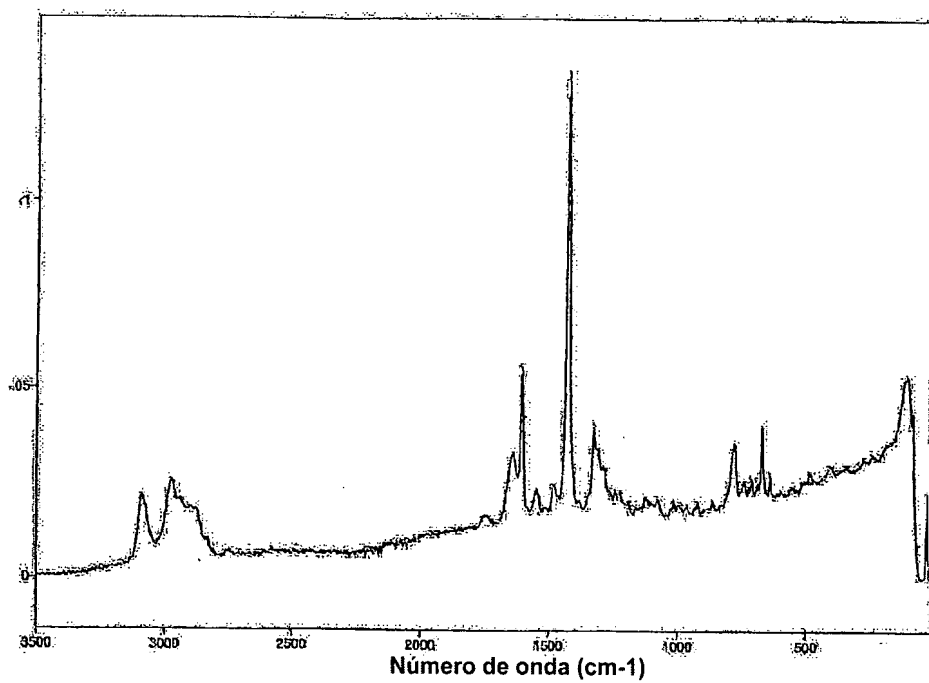


Fig. 11: Espectro FIR (forma amorfa)

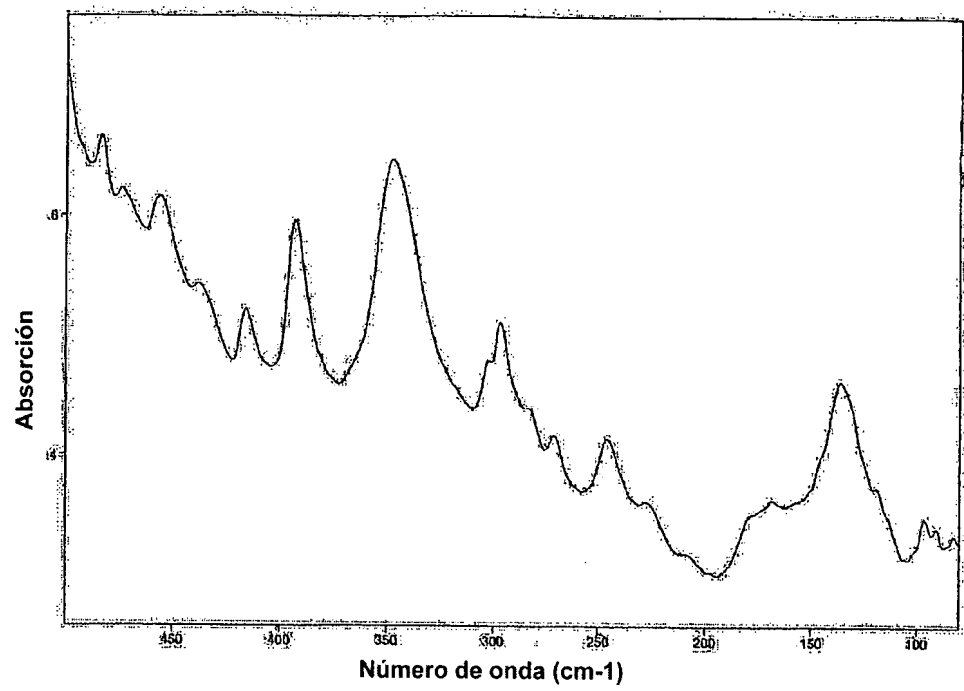
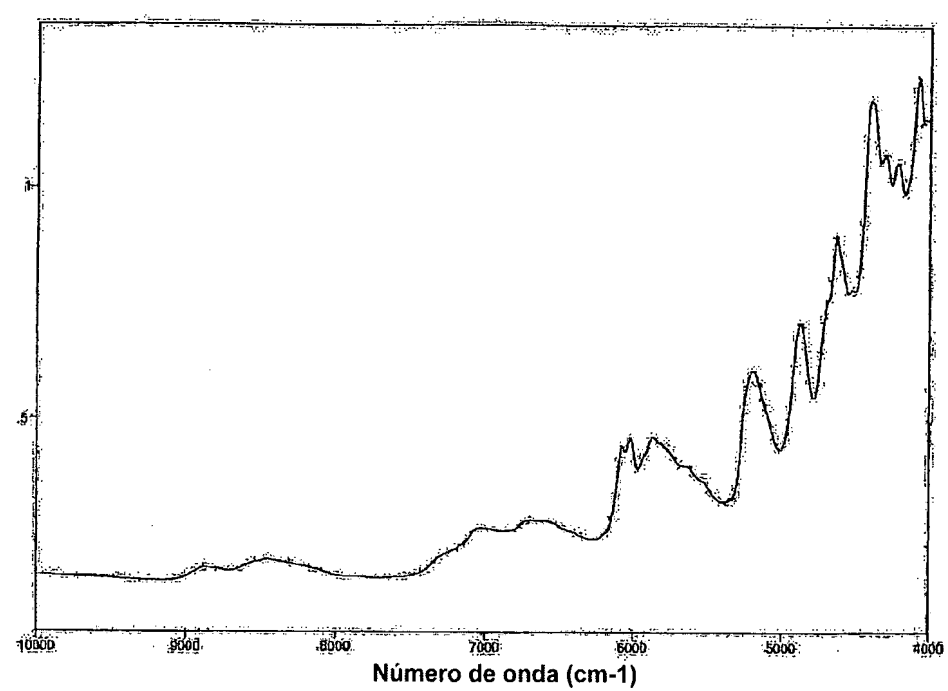


Fig. 12: Espectro NIR (forma amorfa)



2009

USP 32

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA

NF 27

THE NATIONAL FORMULARY

Volume 1

By authority of the United States Pharmacopeial Convention, meeting at Washington, D.C., March 9–13, 2005. Prepared by the Council of Experts and published by the Board of Trustees

Official from May 1, 2009

The designation on the cover of this publication, "USP NF 2009," is for ease of identification only. The publication contains two separate compendia: *The United States Pharmacopeia*, Thirty-Second Revision, and *The National Formulary*, Twenty-Seventh Edition.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION
12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852

Guide to General Chapters

(For complete alphabet list of all general chapters in this Pharmacopeia, see under "General chapters" in the index.)

General Tests and Assays

(197) Spectrophotometric Identification Tests	130
(201) Thin-Layer Chromatographic Identification Test	131

General Requirements for Tests and Assays

Injections	31
USP Reference Standards	35

Apparatus for Tests and Assays

Automated Methods of Analysis	58
Thermometers	66
Volumetric Apparatus	66
Weights and Balances	67

Microbiological Tests

Antimicrobial Effectiveness Testing	67
Biological Indicators—Resistance Performance Tests	69
Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbial Enumeration Tests	71
Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms	75
Sterility Tests	80

Biological Tests and Assays

Antibiotics—Microbial Assays	86
Bacterial Endotoxins Test	93
Biological Reactivity Tests, In Vitro	97
Biological Reactivity Tests, In Vivo	98
Calcium Pantothenate Assay	102
Design and Analysis of Biological Assays	103
Dexamphenol Assay	115
Insulin Assays	116
Protein A Quality Attributes	118
Protein—Biological Adequacy Test	123
Pyrogen Test	124
Transfusion and Infusion Assemblies and Similar Medical Devices	125
Vitamin B ₁₂ Activity Assay	125

Chemical Tests and Assays

IDENTIFICATION TESTS

Identification—Organic Nitrogenous Bases	127
Identification Tests—General	127
Identification—Tetracyclines	129

LIMIT TESTS

(206) Aluminum	132
(211) Arsenic	132
(221) Chloride and Sulfate	133
(223) Dimethylaniline	133
(226) 4-Epi-anhydrotetracycline	134
(231) Heavy Metals	134
(241) Iron	136
(251) Lead	136
(261) Mercury	137
(271) Readily Carbonizable Substances Test	138
(281) Residue on Ignition	138
(291) Selenium	139

OTHER TESTS AND ASSAYS

(301) Acid-Neutralizing Capacity	139
(311) Alginates Assay	140
(331) Amphetamine Assay	141
(341) Antimicrobial Agents—Content	141
(345) Assay for Citric Acid/Citrate and Phosphate	143
(351) Assay for Steroids	144
(361) Barbiturate Assay	144
(371) Cobalamin Radiotracer Assay	145
(381) Elastomeric Closures for Injections	145
(391) Epinephrine Assay	149
(401) Fats and Fixed Oils	150
(411) Folic Acid Assay	154
(425) Iodometric Assay—Antibiotics	154
(429) Light Diffraction Measurement of Particle Size	155
(431) Methoxy Determination	158
(441) Niacin or Niacinamide Assay	159
(451) Nitrite Titration	161
(461) Nitrogen Determination	161
(466) Ordinary Impurities	162
(467) Residual Solvents	163
(471) Oxygen Flask Combustion	175
(481) Riboflavin Assay	175
(501) Salts of Organic Nitrogenous Bases	176
(503) Acetic Acid in Peptides	176
(511) Single-Steroid Assay	177
(521) Sulfonamides	177
(525) Sulfur Dioxide	178
(531) Thiamine Assay	179
(541) Titrimetry	179
(551) Alpha Tocopherol Assay	182
(561) Articles of Botanical Origin	182
(563) Identification of Articles of Botanical Origin	189

(565) Botanical Extracts	196
(571) Vitamin A Assay	198
(581) Vitamin D Assay	199
(591) Zinc Determination	203

Physical Tests and Determinations

(601) Aerosols, Nasal Sprays, Metered-Dose Inhalers, and Dry Powder Inhalers	204
(611) Alcohol Determination	224
(616) Bulk Density and Tapped Density	226
(621) Chromatography	227
(631) Color and Achromicity	238
(641) Completeness of Solution	239
(643) Total Organic Carbon _T	239
(645) Water Conductivity	240
(651) Congealing Temperature	242
(660) Containers—Glass	243
(661) Containers—Plastic	246
(671) Containers—Performance Testing	250
(681) Repackaging into Single-Unit Containers and Unit-Dose Containers for Nonsterile Solid Liquid Dosage Forms	253
(691) Cotton	255
(695) Crystallinity	256
(696) Crystallinity Determination by Solution Calorimetry	256
(698) Deliverable Volume	257
(699) Density of Solids	261
(701) Disintegration	262
(711) Dissolution	263
(721) Distilling Range	271
(724) Drug Release	272
(726) Electrophoresis	276
(727) Capillary Electrophoresis	279
(729) Globule Size Distribution in Lipid Injectable Emulsions	283
(730) Plasma Spectrochemistry	285
(731) Loss on Drying	290
(733) Loss on Ignition	290
(736) Mass Spectrometry	290
(741) Melting Range or Temperature	294
(751) Metal Particles in Ophthalmic Ointments	296
(755) Minimum Fill	296
(761) Nuclear Magnetic Resonance	296
(771) Ophthalmic Ointments	302
(776) Optical Microscopy	302
(781) Optical Rotation	304
(785) Osmolality and Osmolarity	305
(786) Particle Size Distribution Estimation by Analytical Sieving	307
(788) Particulate Matter in Injections	310
(789) Particulate Matter in Ophthalmic Solutions	312
(791) pH	313
(795) Pharmaceutical Compounding—Nonsterile Preparations	314
(797) Pharmaceutical Compounding—Sterile Preparations	318
(801) Polarography	355
(811) Powder Fineness	357
(821) Radioactivity	358
(823) Radiopharmaceuticals for Positron Emission Tomography—Compounding	365
(831) Refractive Index	369
(841) Specific Gravity	369
(846) Specific Surface Area	370
(851) Spectrophotometry and Light-Scattering	373
(861) Sutures—Diameter	378

(871) Sutures—Needle Attachment	379
(881) Tensile Strength	380
(891) Thermal Analysis	380
(905) Uniformity of Dosage Units	382
(911) Viscosity	387
(921) Water Determination	388
(941) X-Ray Diffraction	390

General Information

(1005) Acoustic Emission	393
(1010) Analytical Data—Interpretation and Treatment	396
(1015) Automated Radiochemical Synthesis Apparatus	406
(1031) The Biocompatibility of Materials Used in Drug Containers, Medical Devices, and Implants	408
(1035) Biological Indicators for Sterilization	416
(1041) Biologics	419
(1043) Ancillary Materials for Cell, Gene, and Tissue- Engineered Products	420
(1045) Biotechnology-Derived Articles	426
(1046) Cell and Gene Therapy Products	436
(1048) Quality of Biotechnological Products: Analysis of the Expression Construct in Cells Used for Production of r-DNA Derived Protein Products	467
(1049) Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products	468
(1050) Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin	472
(1051) Cleaning Glass Apparatus	481
(1052) Biotechnology-Derived Articles—Amino Acid Analysis	481
(1053) Biotechnology-Derived Articles—Capillary Electrophoresis	490
(1054) Biotechnology-Derived Articles—Isoelectric Focusing	494
(1055) Biotechnology-Derived Articles—Peptide Mapping	496
(1056) Biotechnology-Derived Articles—Polyacrylamide Gel Electrophoresis	500
(1057) Biotechnology-Derived Articles—Total Protein Assay	505
(1058) Analytical Instrument Qualification	508
(1061) Color—Instrumental Measurement	512
(1065) Ion Chromatography	514
(1070) Emergency Medical Services Vehicles and Ambulances—Storage of Preparations	516
(1072) Disinfectants and Antiseptics	517
(1074) Excipient Biological Safety Evaluation Guidelines	521
(1075) Good Compounding Practices	523
(1078) Good Manufacturing Practices for Bulk Pharmaceutical Excipients	526
(1079) Good Storage and Shipping Practices	536
(1080) Bulk Pharmaceutical Excipients—Certificate of Analysis	541
(1081) Gel Strength of Gelatin	546
(1086) Impurities in Official Articles	546
(1087) Intrinsic Dissolution	549
(1088) In Vitro and In Vivo Evaluation of Dosage Forms	552
(1090) In Vivo Bioequivalence Guidances	557
(1091) Labeling of Inactive Ingredients	599
(1092) The Dissolution Procedure: Development and Validation	599
(1101) Medicine Dropper	604

706	(1196) Pharmacopoeial Harmonization
713	(1207) Sterile Product Packaging—Integrity Evaluation
715	(1208) Sterility Testing—Validation of Isolator Systems
718	(1209) Sterilization—Chemical and Physicochemical Indicators and Integrators
720	(1216) Sterility Assurance of Compensated Articles
725	(1217) Tablet Breaking Force
726	(1221) Teaspoon
728	(1222) Terminally Sterilized Pharmaceutical Products—Parametric Release
731	(1223) Validation of Alternative Microbiological Methods
733	(1225) Validation of Compensated Procedures
736	(1226) Verification of Compensated Procedures
737	(1227) Validation of Microbial Recovery from Pharmacopoeial Articles
740	(1230) Water for Health Applications
741	(1231) Water for Pharmaceutical Purposes
759	(1241) Water-Solid Interactions in Pharmaceutical Systems
761	(1251) Weighing on an Analytical Balance
764	(1265) Written Prescription Drug Information—Guidelines
767	(2021) Microbial Enumeration Tests—Nutritional and Dietary Supplements
771	(2022) Microbiological Procedures for Absence of Specified Microorganisms—Nutritional and Dietary Supplements
774	(2023) Microbiological Attributes of Nonsterile Nutritional and Dietary Supplements
777	(2030) Supplemental Information for Articles of Botanical Origin
782	(2040) Disintegration and Dissolution of Dietary Supplements
785	(2091) Weight Variation of Dietary Supplements
786	(2750) Manufacturing Practices for Dietary Supplements
605	Pharmaceutical Products
606	Pharmaceutical Products
608	Pharmaceutical Products
616	Pharmaceutical Products
619	Pharmaceutical Products
622	Pharmaceutical Products
626	Pharmaceutical Products
632	Pharmaceutical Products
634	Pharmaceutical Products
637	Pharmaceutical Products
644	Pharmaceutical Products
651	Pharmaceutical Products
654	Pharmaceutical Products
656	Pharmaceutical Products
658	Pharmaceutical Products
662	Pharmaceutical Products
663	Pharmaceutical Products
674	Pharmaceutical Products
684	Pharmaceutical Products
687	Pharmaceutical Products
688	Pharmaceutical Products
691	Pharmaceutical Products
692	Pharmaceutical Products
694	Pharmaceutical Products
696	Pharmaceutical Products
699	Pharmaceutical Products
706	Pharmaceutical Products

{ 851 } SPECTROPHOTOMETRY AND LIGHT-SCATTERING

ULTRAVIOLET, VISIBLE, INFRARED, ATOMIC ABSORPTION, FLUORESCENCE, TURBIDIMETRY, NEPHELOMETRY, AND RAMAN MEASUREMENT

Absorption spectrophotometry is the measurement of an interaction between electromagnetic radiation and the molecules, or atoms, of a chemical substance. Techniques frequently employed in pharmaceutical analysis include UV, visible, IR, and atomic absorption spectroscopy. Spectrophotometric measurement in the visible region was formerly referred to as *colorimetry*; however, it is more precise to use the term "colorimetry" only when considering human perception of color.

Fluorescence spectrophotometry is the measurement of the emission of light from a chemical substance while it is being exposed to UV, visible, or other electromagnetic radiation. In general, the light emitted by a fluorescent solution is of maximum intensity at a wavelength longer than that of the exciting radiation, usually by some 20 to 30 nm.

Light-Scattering involves measurement of the light scattered because of submicroscopic optical density inhomogeneities of solutions and is useful in the determination of weight-average molecular weights of polydisperse systems in the molecular weight range from 1000 to several hundred million. Two such techniques utilized in pharmaceutical analysis are *turbidimetry* and *nephelometry*.

Raman spectroscopy (inelastic light-scattering) is a light-scattering process in which the specimen under examination is irradiated with intense monochromatic light (usually laser light) and the light scattered from the specimen is analyzed for frequency shifts.

The wavelength range available for these measurements extends from the short wavelengths of the UV through the IR. For convenience of reference, this spectral range is roughly divided into the UV (190 to 380 nm), the visible (380 to 780 nm), the near-IR (780 to 3000 nm), and the IR (2.5 to 40 μm or 4000 to 250 cm^{-1}).

COMPARATIVE UTILITY OF SPECTRAL RANGES

For many pharmaceutical substances, measurements can be made in the UV and visible regions of the spectrum with greater accuracy and sensitivity than in the near-IR and IR. When solutions are observed in 1-cm cells, concentrations of about 10 μg of the specimen per mL often will produce absorbances of 0.2 to 0.8 in the UV or the visible region. In the IR and near-IR, concentrations of 1 to 10 mg per mL and up to 100 mg per mL, respectively, may be needed to produce sufficient absorption; for these spectral ranges, cell lengths of from 0.01 mm to upwards of 3 mm are commonly used.

The UV and visible spectra of substances generally do not have a high degree of specificity. Nevertheless, they are highly suitable for quantitative assays, and for many substances they are useful as additional means of identification.

There has been increasing interest in the use of near-IR spectroscopy in pharmaceutical analysis, especially for rapid identification of large numbers of samples, and also for water determination.

The near-IR region is especially suitable for the determination of $-\text{OH}$ and $-\text{NH}$ groups, such as water in alcohol, $-\text{OH}$ in the presence of amines, alcohols in hydrocarbons, and primary and secondary amines in the presence of tertiary amines.

The IR spectrum is unique for any given chemical compound with the exception of optical isomers, which have identical spectra. However, polymorphism may occasionally be responsible for a difference in the IR spectrum of a given compound in the solid state. Frequently, small differences in structure result in significant differences in the spectra. Because of the large number of maxima in an IR absorption spectrum, it is sometimes possible to quantitatively measure the individual components of a mixture of known qualitative composition without prior separation.

The Raman spectrum and the IR spectrum provide similar data, although the intensities of the spectra are governed by different molecular properties. Raman and IR spectroscopy exhibit different relative sensitivities for different functional groups, e.g., Raman spectroscopy is particularly sensitive to C–S and C–C multiple bonds, and some aromatic compounds are more easily identified by means of their Raman spectra. Water has a highly intense IR absorption spectrum, but a particularly weak Raman spectrum. Therefore, water has only limited IR “windows” that can be used to examine aqueous solutes, while its Raman spectrum is almost completely transparent and useful for solute identification. The two major limitations of Raman spectroscopy are that the minimum detectable concentration of specimen is typically 10^{-1} M to 10^{-2} M and that the impurities in many substances fluoresce and interfere with the detection of the Raman scattered signal.

Optical reflectance measurements provide spectral information similar to that obtained by transmission measurements. Since reflectance measurements probe only the surface composition of the specimen, difficulties associated with the optical thickness and the light-scattering properties of the substance are eliminated. Thus, reflectance measurements are frequently more simple to perform on intensely absorbing materials. A particularly common technique used for IR reflectance measurements is termed attenuated total reflectance (ATR), also known as multiple internal reflectance (MIR). In the ATR technique, the beam of the IR spectrometer is passed through an appropriate IR window material (e.g., KRS-5, a TlBr-TlI eutectic mixture), which is cut at such an angle that the IR beam enters the first (front) surface of the window, but is totally reflected when it impinges on the second (back) surface (i.e., the angle of incidence of the radiation upon the second surface of the window exceeds the critical angle for that material). By appropriate window construction, it is possible to have many internal reflections of the IR beam before it is transmitted out of the window. If a specimen is placed in close contact with the window along the sides that totally reflect the IR beam, the intensity of reflected radiation is reduced at each wavelength (frequency) that the specimen absorbs. Thus, the ATR technique provides a reflectance spectrum that has been increased in intensity, when compared to a simple reflectance measurement, by the number of times that the IR beam is reflected within the window. The ATR technique provides excellent sensitivity, but it yields poor reproducibility, and is not a reliable quantitative technique unless an internal standard is intimately mixed with each test specimen.

Fluorescence spectrophotometry is often more sensitive than absorption spectrophotometry. In absorption measurements, the specimen transmittance is compared to that of a blank; and at low concentrations, both solutions give high signals. Conversely, in fluorescence spectrophotometry, the solvent blank has low rather than high output, so that the background radiation that may interfere with determinations at low concentrations is much less. Whereas few compounds can be determined conveniently at concentrations below 10^{-5} M by light absorption, it is not unusual to employ concentrations of 10^{-7} M to 10^{-8} M in fluorescence spectrophotometry.

THEORY AND TERMS

The power of a radiant beam decreases in relation to the distance that it travels through an absorbing medium. It also decreases in relation to the concentration of absorbing molecules or ions encountered in that medium. These two factors determine the proportion of the total incident energy that emerge. The decrease in power of monochromatic radiation passing through a homogeneous absorbing medium is stated quantitatively by Beer's law, $\log_{10}(1/T) = A = abc$, in which the terms are as defined below.

Absorbance [Symbol: *A*]—The logarithm, to the base 10, of the reciprocal of the transmittance (*T*). [NOTE—Descriptive terms used formerly include optical density, absorbancy, and extinction.]

Absorptivity [Symbol: *a*]—The quotient of the absorbance (*A*) divided by the product of the concentration of the substance (*c*), expressed in g per L, and the absorption path length (*b*) in cm. [NOTE—It is not to be confused with absorbancy index; specific extinction; or extinction coefficient.]

Molar Absorptivity [Symbol: ϵ]—The quotient of the absorbance (*A*) divided by the product of the concentration, expressed in moles per L, of the substance and the absorption path length in cm. It is also the product of the absorptivity (*a*) and the molecular weight of the substance. [NOTE—Terms formerly used include molar absorbancy

index; molar extinction coefficient; and molar absorption coefficient.]

For most systems used in absorption spectrophotometry, the absorptivity of a substance is a constant independent of the intensity of the incident radiation, the internal cell length, and the concentration, with the result that concentration may be determined photometrically.

Beer's law gives no indication of the effect of temperature, wavelength, or the type of solvent. For most analytical work the effects of normal variation in temperature are negligible.

Deviations from Beer's law may be caused by either chemical or instrumental variables. Apparent failure of Beer's law may result from a concentration change in solute molecules because of association between solute molecules or between solute and solvent molecules, or dissociation or ionization. Other deviations might be caused by instrumental effects such as polychromatic radiation, slit-width effects, or stray light.

Even at a fixed temperature in a given solvent, the absorptivity may not be truly constant. However, in the case of specimens having only one absorbing component, it is not necessary that the absorbing system conform to Beer's law for use in quantitative analysis. The concentration of an unknown may be found by comparison with an experimentally determined standard curve.

Although, in the strictest sense, Beer's law does not hold in atomic absorption spectrophotometry because of the lack of quantitative properties of the cell length and the concentration, the absorption processes taking place in the flame under conditions of reproducible aspiration do follow the Beer relationship in principle. Specifically, the negative log of the transmittance, or the absorbance, is directly proportional to the absorption coefficient, and, consequently, is proportional to the number of absorbing atoms. On this basis, calibration curves may be constructed to permit evaluation of unknown absorption values in terms of concentration of the element in solution.

Absorption Spectrum—A graphic representation of absorbance, or any function of absorbance, plotted against wavelength or function of wavelength.

Transmittance [Symbol: T]—The quotient of the radiant power transmitted by a specimen divided by the radiant power incident upon the specimen. [NOTE—Terms formerly used include transmittancy and transmission.]

Fluorescence Intensity [Symbol: I]—An empirical expression of fluorescence activity, commonly given in terms of arbitrary units proportional to detector response. The *fluorescence emission spectrum* is a graphical presentation of the spectral distribution of radiation emitted by an activated substance, showing intensity of emitted radiation as ordinate, and wavelength as abscissa. The *fluorescence excitation spectrum* is a graphical presentation of the activation spectrum, showing intensity of radiation emitted by an activated substance as ordinate, and wavelength of the incident (activating) radiation as abscissa. As in absorption spectrophotometry, the important regions of the electromagnetic spectrum encompassed by the fluorescence of organic compounds are the UV, visible, and near-IR, i.e., the region from 250 to 800 nm. After a molecule has absorbed radiation, the energy can be lost as heat or released in the form of radiation of the same or longer wavelength as the absorbed radiation. Both absorption and emission of radiation are due to the transitions of electrons between different energy levels, or orbitals, of the molecule. There is a time delay between the absorption and emission of light; this interval, the duration of the excited state, has been measured to be about 10^{-9} second to 10^{-8} second for most organic fluorescent solutions. The short lifetime of fluorescence distinguishes this type of luminescence from phosphorescence, which is a long-lived afterglow having a lifetime of 10^{-3} second up to several minutes.

Turbidity [Symbol: S]—The light-scattering effect of suspended particles. The amount of suspended matter may be measured by observation of either the transmitted light (turbidimetry) or the scattered light (nephelometry).

Turbidity [Symbol: τ]—In light-scattering measurements, the turbidity is the measure of the decrease in incident beam intensity per unit length of a given suspension.

Raman Scattering Activity—The molecular property (in units of cm^4 per g) governing the intensity of an observed Raman band for a randomly oriented specimen. The scattering activity is determined from the derivative of the molecular polarizability with respect to the molecular motion giving rise to the Raman shifted band. In general, the

Raman band intensity is linearly proportional to the concentration of the analyte.

USE OF REFERENCE STANDARDS

With few exceptions, the Pharmacopeial spectrophotometric tests and assays call for comparison against a USP Reference Standard. This is to ensure measurement under conditions identical for the test specimen and the reference substance. These conditions include wavelength setting, slit-width adjustment, cell placement and correction, and transmittance levels. It should be noted that cells exhibiting identical transmittance at a given wavelength may differ considerably in transmittance at other wavelengths. Appropriate cell corrections should be established and used where required.

The expressions, "similar preparation" and "similar solution," as used in tests and assays involving spectrophotometry, indicate that the reference specimen, generally a USP Reference Standard, is to be prepared and observed in a manner identical for all practical purposes to that used for the test specimen. Usually in making up the solution of the specified Reference Standard, a solution of about (i.e., within 10%) the desired concentration is prepared and the absorptivity is calculated on the basis of the exact amount weighed out; if a previously dried specimen of the Reference Standard has not been used, the absorptivity is calculated on the anhydrous basis.

The expressions, "concomitantly determine" and "concomitantly measured," as used in tests and assays involving spectrophotometry, indicate that the absorbances of both the solution containing the test specimen and the solution containing the reference specimen, relative to the specified test blank, are to be measured in immediate succession.

APPARATUS

Many types of spectrophotometers are available. Fundamentally, most types, except those used for IR spectrophotometry, provide for passing essentially monochromatic radiant energy through a specimen in suitable form, and measuring the intensity of the fraction that is transmitted. Fourier transform IR spectrophotometers use an interferometric technique whereby polychromatic radiation passes through the analyte and onto a detector on an intensity and time basis. UV, visible, and dispersive IR spectrophotometers comprise an energy source, a dispersing device (e.g., a prism or grating), slits for selecting the wavelength band, a cell or holder for the test specimen, a detector of radiant energy, and associated amplifiers and measuring devices. In *diode array* spectrophotometers, the energy from the source is passed through the test specimen and then dispersed via a grating onto several hundred light-sensitive diodes, each of which in turn develops a signal proportional to the number of photons at its small wavelength interval; these signals then may be computed at rapid chosen intervals to represent a complete spectrum. Fourier transform IR systems utilize an interferometer instead of a dispersing device and a digital computer to process the spectral data. Some instruments are manually operated, whereas others are equipped for automatic and continuous recording. Instruments that are interfaced to a digital computer have the capabilities also of co-adding and storing spectra, performing spectral comparisons, and performing difference spectroscopy (accomplished with the use of a digital absorbance subtraction method).

Instruments are available for use in the visible; in the visible and UV; in the visible, UV, and near-IR; and in the IR regions of the spectrum. Choice of the type of spectrophotometric analysis and of the instrument to be used depends upon factors such as the composition and amount of available test specimen, the degree of accuracy, sensitivity, and selectivity desired, and the manner in which the specimen is handled.

The apparatus used in atomic absorption spectrophotometry has several unique features. For each element to be determined, a specific source that emits the spectral line to be absorbed should be selected. The source is usually a hollow-cathode lamp, the cathode of which is designed to emit the desired radiation when excited. Since the radiation to be absorbed by the test specimen element is usually of the same wavelength as that of its emission line, the element in the hollow-cathode lamp is the same as the element to be determined. The apparatus is equipped with an aspirator for introducing the test specimen into a flame, which is usually provided by air-acetylene, air-hydrogen, or, for refractory cases, nitrous oxide-acetylene. The flame, in effect, is a heated specimen chamber. A detector is used to read the signal from the chamber. Interfering radiation produced by the

flame during combustion may be negated by the use of a chopped source lamp signal of a definite frequency. The detector should be tuned to this alternating current frequency so that the direct current signal arising from the flame is ignored. The detecting system, therefore, reads only the change in signal from the hollow-cathode source, which is directly proportional to the number of atoms to be determined in the test specimen. For Pharmacopeial purposes, apparatus that provides the readings directly in absorbance units is usually required. However, instruments providing readings in percent transmission, percent absorption, or concentration may be used if the calculation formulas provided in the individual monographs are revised as necessary to yield the required quantitative results. Percent absorption or percent transmittance may be converted to absorbance, A , by the following two equations:

$$A = 2 - \log_{10} (100 - \% \text{ absorption})$$

or:

$$A = 2 - \log_{10} (\% \text{ transmittance})$$

Depending upon the type of apparatus used, the readout device may be a meter, digital counter, recorder, or printer. Both single-beam and double-beam instruments are commercially available, and either type is suitable.

Measurement of fluorescence intensity can be made with a simple *filter fluorometer*. Such an instrument consists of a radiation source, a primary filter, a specimen chamber, a secondary filter, and a fluorescence detection system.

In most such fluorometers, the detector is placed on an axis at 90° from that of the exciting beam. This right-angle geometry permits the exciting radiation to pass through the test specimen and not contaminate the output signal received by the fluorescence detector. However, the detector unavoidably receives some of the exciting radiation as a result of the inherent scattering properties of the solutions themselves, or if dust or other solids are present. Filters are used to eliminate this residual scatter. The primary filter selects short-wavelength radiation capable of exciting the test specimen, while the secondary filter is normally a sharp cut-off filter that allows the longer-wavelength fluorescence to be transmitted but blocks the scattered excitation.

Most fluorometers use photomultiplier tubes as detectors, many types of which are available, each having special characteristics with respect to spectral region of maximum sensitivity, gain, and electrical noise. The photocurrent is amplified and read out on a meter or recorder.

A *spectrofluorometer* differs from a filter fluorometer in that filters are replaced by monochromators, of either the prism or the grating type. For analytical purposes, the spectrofluorometer is superior to the filter fluorometer in wavelength selectivity, flexibility, and convenience, in the same way in which a spectrophotometer is superior to a filter photometer.

Many radiation sources are available. Mercury lamps are relatively stable and emit energy mainly at discrete wavelengths. Tungsten lamps provide an energy continuum in the visible region. The high-pressure xenon arc lamp is often used in spectrofluorometers because it is a high-intensity source that emits an energy continuum extending from the UV into the IR.

In spectrofluorometers, the monochromators are equipped with slits. A narrow slit provides high resolution and spectral purity, while a large slit sacrifices these for high sensitivity. Choice of slit size is determined by the separation between exciting and emitting wavelengths as well as the degree of sensitivity needed.

Specimen cells used in fluorescence measurements may be round tubes or rectangular cells similar to those used in absorption spectrophotometry, except that they are polished on all four vertical sides. A convenient test specimen size is 2 to 3 mL, but some instruments can be fitted with small cells holding 100 to 300 μL , or with a capillary holder requiring an even smaller amount of specimen.

Light-scattering instruments are available and consist in general of a mercury lamp, with filters for the strong green or blue lines, a shutter, a set of neutral filters with known transmittance, and a sensitive photomultiplier to be mounted on an arm that can be rotated around the solution cell and set at any angle from -135° to 0° to $+135^\circ$ by a dial outside the light-tight housing. Solution cells are of various shapes, such as square for measuring 90°

scattering; semioctagonal for 45° , 90° , and 135° scattering; and cylindrical for scattering at all angles. Since the determination of molecular weight requires a precise measure of the difference in refractive index between the solution and solvent, $[(n - n_0)/c]$, a second instrument, a differential refractometer, is needed to measure this small difference.

Raman spectrometers include the following major components: a source of intense monochromatic radiation (invariably a laser); optics to collect the light scattered by the test specimen; a (double) monochromator to disperse the scattered light and reject the intense incident frequency; and a suitable light-detection and amplification system. Raman measurement is simple in that most specimens are examined directly in melting-point capillaries. Because the laser source can be focused sharply, only a few microliters of the specimen is required.

PROCEDURE

Absorption Spectrophotometry

Detailed instructions for operating spectrophotometers are supplied by the manufacturers. To achieve significant and valid results, the operator of a spectrophotometer should be aware of its limitations and of potential sources of error and variation. The instruction manual should be followed closely on such matters as care, cleaning, and calibration of the instrument, and techniques of handling absorption cells, as well as instructions for operation. The following points require special emphasis.

Check the instrument for accuracy of calibration. Where a continuous source of radiant energy is used, attention should be paid to both the wavelength and photometric scales; where a spectral line source is used, only the photometric scale need be checked. A number of sources of radiant energy have spectral lines of suitable intensity, adequately spaced throughout the spectral range selected. The best single source of UV and visible calibration spectra is the quartz-mercury arc, of which the lines at 253.7, 302.25, 313.16, 334.15, 365.48, 404.66, and 435.83 nm may be used. The glass-mercury arc is equally useful above 300 nm. The 486.13-nm and 656.28-nm lines of a hydrogen discharge lamp may be used also. The wavelength scale may be calibrated also by means of suitable glass filters, which have useful absorption bands through the visible and UV regions. Standard glasses containing didymium (a mixture of praseodymium and neodymium) have been used widely, although glasses containing holmium were found to be superior. Standard holmium oxide solution has superseded the use of holmium glass.¹ The wavelength scales of near-IR and IR spectrophotometers are readily checked by the use of absorption bands provided by polystyrene films, carbon dioxide, water vapor, or ammonia gas.

For checking the photometric scale, a number of standard inorganic glass filters as well as standard solutions of known transmittances such as potassium dichromate are available.²

Quantitative absorbance measurements usually are made on solutions of the substance in liquid-holding cells. Since both the solvent and the cell window absorb light, compensation must be made for their contribution to the measured absorbance. Matched cells are available commercially for UV and visible spectrophotometry for which no cell correction is necessary. In IR spectrophotometry, however, corrections for cell differences usually must be made. In such cases, pairs of cells are filled with the selected solvent and the difference in their absorbances at the chosen wavelength is determined. The cell exhibiting the greater absorbance is used for the solution of the test specimen and the measured absorbance is corrected by subtraction of the cell difference.

With the use of a computerized Fourier transform IR system, this correction need not be made, since the same cell can be used for both the solvent blank and the test solution. However, it must be ascertained that the transmission properties of the cell are constant.

Comparisons of a test specimen with a Reference Standard are best made at a peak of spectral absorption for the compound concerned. Assays prescribing spectrophotometry give the commonly accepted wavelength for peak spectral absorption of the substance in question. It is known that different spectrophotometers may show minor variation in the apparent wavelength of this peak. Good practice demands that comparisons be made at the wavelength at which peak absorption occurs. Should this differ by more than ± 1 nm from the wavelength specified

52

in the individual monograph, recalibration of the instrument may be indicated.

test preparation

For determinations utilizing UV or visible spectrophotometry, the specimen generally is dissolved in a solvent. Unless otherwise directed in the monograph, determinations are made at room temperature using a path length of 1 cm. Many solvents are suitable for these ranges, including water, alcohols, chloroform, lower hydrocarbons, ethers, and dilute solutions of strong acids and alkalis. Precautions should be taken to utilize solvents free from contaminants absorbing in the spectral region being used. It is usually advisable to use water-free methanol or alcohol, or alcohol denatured by the addition of methanol but not containing benzene or other interfering impurities, as the solvent. Solvents of special spectrophotometric quality, guaranteed to be free from contaminants, are available commercially from several sources. Some other analytical reagent-grade organic solvents may contain traces of impurities that absorb strongly in the UV region. New lots of these solvents should be checked for their transparency, and care should be taken to use the same lot of solvent for preparation of the test solution and the standard solution and for the blank.

No solvent in appreciable thickness is completely transparent throughout the near-IR and IR spectrum. Carbon tetrachloride (up to 5 mm in thickness) is practically transparent to $6\text{ }\mu\text{m}$ (1666 cm^{-1}). Carbon disulfide (1 mm in thickness) is suitable as a solvent to $40\text{ }\mu\text{m}$ (250 cm^{-1}) with the exception of the $4.2\text{-}\mu\text{m}$ to $5.0\text{-}\mu\text{m}$ (2381-cm^{-1} to 2000-cm^{-1}) and the $5.5\text{-}\mu\text{m}$ to $7.5\text{-}\mu\text{m}$ (1819-cm^{-1} to 1333-cm^{-1}) regions, where it has strong absorption. Other solvents have relatively narrow regions of transparency. For IR spectrophotometry, an additional qualification for a suitable solvent is that it must not affect the material, usually sodium chloride, of which the cell is made. The test specimen may also be prepared by dispersing the finely ground solid specimen in mineral oil or by mixing it intimately with previously dried alkali halide salt (usually potassium bromide). Mixtures with alkali halide salts may be examined directly or as transparent disks or pellets obtained by pressing the mixture in a die. Typical drying conditions for potassium bromide are 105° in vacuum for 12 hours, although grades are commercially available that require no drying. Infrared microscopy or a mineral oil dispersion is preferable where disproportionation between the alkali halide and the test specimen is encountered. For suitable materials the test specimen may be prepared neat as a thin sample for IR microscopy or suspended neat as a thin film for mineral oil dispersion. For Raman spectrometry, most common solvents are suitable, and ordinary (nonfluorescing) glass specimen cells can be used. The IR region of the electromagnetic spectrum extends from 0.8 to $400\text{ }\mu\text{m}$. From 800 to 2500 nm (0.8 to $2.5\text{ }\mu\text{m}$) is generally considered to be the near-IR (NIR) region; from 2.5 to $25\text{ }\mu\text{m}$ (4000 to 400 cm^{-1}) is generally considered to be the mid-range (mid-IR) region; and from 25 to $400\text{ }\mu\text{m}$ is generally considered to be the far-IR (FIR) region. Unless otherwise specified in the individual monograph, the region from 3800 to 650 cm^{-1} (2.6 to $15\text{ }\mu\text{m}$) should be used to ascertain compliance with monograph specifications for IR absorption.

Where values for IR line spectra are given in an individual monograph, the letters *s*, *m*, and *w* signify strong, medium, and weak absorption, respectively; *sh* signifies a shoulder, *bd* signifies a band, and *v* means very. The values may vary as much as $0.1\text{ }\mu\text{m}$ or 10 cm^{-1} , depending upon the particular instrument used. Polymorphism gives rise to variations in the IR spectra of many compounds in the solid state. Therefore, when conducting IR absorption tests, if a difference appears in the IR spectra of the analyte and the standard, dissolve equal portions of the test substance and the standard in equal volumes of a suitable solvent, evaporate the solutions to dryness in similar containers under identical conditions, and repeat the test on the residues.

In NIR spectroscopy much of the current interest centers around the ease of analysis. Samples can be analyzed in powder form or by means of reflectance techniques, with little or no preparation. Compliance with in-house specifications can be determined by computerized comparison of spectra with spectra previously obtained from reference materials. Many pharmaceutical materials exhibit low absorptivity in this spectral region, which allows incident near-IR radiation to penetrate samples more deeply than UV, visible, or IR radiation. NIR spectrophotometry may be used to observe matrix modifications and, with proper calibration, may be used in quantitative analysis.

In atomic absorption spectrophotometry, the nature of the solvent and the concentration of solids must be given

special consideration. An ideal solvent is one that interferes to a minimal extent in the absorption or emission processes and one that produces neutral atoms in the flame. If there is a significant difference between the surface tension or viscosity of the test solution and standard solution, the solutions are aspirated or atomized at a different rate, causing significant differences in the signals generated. The acid concentration of the solutions also affects the absorption processes. Thus, the solvents used in preparing the test specimen and the standard should be the same or as much alike in these respects as possible, and should yield solutions that are easily aspirated via the specimen tube of the burner-aspirator. Since undissolved solids present in the solutions may give rise to matrix or bulk interferences, the total undissolved solids content in all solutions should be kept below 2% wherever possible.

calculations

The application of absorption spectrophotometry in an assay or a test generally requires the use of a Reference Standard. Where such a measurement is specified in an assay, a formula is provided in order to permit calculation of the desired result. A numerical constant is frequently included in the formula. The following derivation is provided to introduce a logical approach to the deduction of the constants appearing in formulas in the assays in many monographs.

The Beer's law relationship is valid for the solutions of both the Reference Standard (S) and the test specimen (U):

$$(1) A_S = abC_S$$

$$(2) A_U = abC_U$$

in which A_S is the absorbance of the Standard solution of concentration C_S ; and A_U is the absorbance of the test specimen solution of concentration C_U . If C_S and C_U are expressed in the same units and the absorbances of both solutions are measured in matching cells having the same dimensions, the absorptivity, a , and the cell thickness, b , are the same; consequently, the two equations may be combined and rewritten to solve for C_U :

$$(3) C_U = C_S (A_U / A_S)$$

Quantities of solid test specimens to be taken for analysis are generally specified in mg. Instructions for dilution are given in the assay and, since dilute solutions are used for absorbance measurements, concentrations are usually expressed for convenience in units of μg per mL. Taking a quantity, in mg, of a test specimen of a drug substance or solid dosage form for analysis, it therefore follows that a volume (V_U), in L, of solution of concentration C_U may be prepared from the amount of test specimen that contains a quantity W_U , in mg, of the drug substance [NOTE— C_U is numerically the same whether expressed as μg per mL or mg per L], such that:

$$(4) W_U = V_U C_U$$

The form in which the formula appears in the assay in a monograph for a solid article may be derived by substituting C_U of equation (3) into equation (4). In summary, the use of equation (4), with due consideration for any unit conversions necessary to achieve equality in equation (5), permits the calculation of the constant factor (V_U) occurring in the final formula:

$$(5) W_U = V_U C_S (A_U / A_S)$$

The same derivation is applicable to formulas that appear in monographs for liquid articles that are assayed by absorption spectrophotometry. For liquid dosage forms, results of calculations are generally expressed in terms of the quantity, in mg, of drug substance in each mL of the article. Thus it is necessary to include in the denominator an additional term, the volume (V), in mL, of the test preparation taken.

Assays in the visible region usually call for comparing concomitantly the absorbance produced by the *Assay preparation* with that produced by a *Standard preparation* containing approximately an equal quantity of a USP Reference Standard. In some situations, it is permissible to omit the use of a Reference Standard. This is true where spectrophotometric assays are made with routine frequency, and where a suitable standard curve is available, prepared with the respective USP Reference Standard, and where the substance assayed conforms to Beer's law within the range of about 75% to 125% of the final concentration used in the assay. Under these

circumstances, the absorbance found in the assay may be interpolated on the standard curve, and the assay result calculated therefrom.

Such standard curves should be confirmed frequently, and always when a new spectrophotometer or new lots of reagents are put into use.

In spectrophotometric assays that direct the preparation and use of a standard curve, it is permissible and preferable, when the assay is employed infrequently, not to use the standard curve but to make the comparison directly against a quantity of the Reference Standard approximately equal to that taken of the specimen, and similarly treated.

Fluorescence Spectrophotometry

The measurement of fluorescence is a useful analytical technique. *Fluorescence* is light emitted from a substance in an excited state that has been reached by the absorption of radiant energy. A substance is said to be *fluorescent* if it can be made to fluoresce. Many compounds can be assayed by procedures utilizing either their inherent fluorescence or the fluorescence of suitable derivatives.

Test specimens prepared for fluorescence spectrophotometry are usually one-tenth to one-hundredth as concentrated as those used in absorption spectrophotometry, for the following reason. In analytical applications, it is preferable that the fluorescence signal be linearly related to the concentration; but if a test specimen is too concentrated, a significant part of the incoming light is absorbed by the specimen near the cell surface, and the light reaching the center is reduced. That is, the specimen itself acts as an "inner filter." However, fluorescence spectrophotometry is inherently a highly sensitive technique, and concentrations of 10^{-5} M to 10^{-7} M frequently are used. It is necessary in any analytical procedure to make a working curve of fluorescence intensity versus concentration in order to establish a linear relationship. All readings should be corrected for a solvent blank.

Fluorescence measurements are sensitive to the presence of dust and other solid particles in the test specimen. Such impurities may reduce the intensity of the exciting beam or give misleading high readings because of multiple reflections in the specimen cell. It is, therefore, wise to eliminate solid particles by centrifugation; filtration also may be used, but some filter papers contain fluorescent impurities.

Temperature regulation is often important in fluorescence spectrophotometry. For some substances, fluorescence efficiency may be reduced by as much as 1% to 2% per degree of temperature rise. In such cases, if maximum precision is desired, temperature-controlled specimen cells are useful. For routine analysis, it may be sufficient to make measurements rapidly enough so that the specimen does not heat up appreciably from exposure to the intense light source. Many fluorescent compounds are light-sensitive. Exposed in a fluorometer, they may be photo-degraded into more or less fluorescent products. Such effects may be detected by observing the detector response in relationship to time, and may be reduced by attenuating the light source with filters or screens.

Change of solvent may markedly affect the intensity and spectral distribution of fluorescence. It is inadvisable, therefore, to alter the solvent specified in established methods without careful preliminary investigation. Many compounds are fluorescent in organic solvents but virtually nonfluorescent in water; thus, a number of solvents should be tried before it is decided whether or not a compound is fluorescent. In many organic solvents, the intensity of fluorescence is increased by elimination of dissolved oxygen, which has a strong quenching effect. Oxygen may be removed by bubbling an inert gas such as nitrogen or helium through the test specimen.

A semiquantitative measure of the strength of fluorescence is given by the ratio of the fluorescence intensity of a test specimen and that of a standard obtained with the same instrumental settings. Frequently, a solution of stated concentration of quinine in 0.1 N sulfuric acid or fluorescein in 0.1 N sodium hydroxide is used as a reference standard.

Light-Scattering

Turbidity can be measured with a standard photoelectric filter photometer or spectrophotometer, preferably with illumination in the blue portion of the spectrum. Nephelometric measurements require an instrument with a photocell placed so as to receive scattered rather than transmitted light; this geometry applies also to fluorometers, so that,

5

in general, fluorometers can be used as nephelometers, by proper selection of filters. A ratio turbidimeter combines the technology of 90° nephelometry and turbidimetry: it contains photocells that receive and measure scattered light at a 90° angle from the sample as well as receiving and measuring the forward scatter in front of the sample; it also measures light transmitted directly through the sample. Linearity is attained by calculating the ratio of the 90° angle scattered light measurement to the sum of the forward scattered light measurement and the transmitted light measurement. The benefit of using a ratio turbidimetry system is that the measurement of stray light becomes negligible.

In practice, it is advisable to ensure that settling of the particles being measured is negligible. This is usually accomplished by including a protective colloid in the liquid suspending medium. It is important that results be interpreted by comparison of readings with those representing known concentrations of suspended matter, produced under precisely the same conditions.

Turbidimetry or nephelometry may be useful for the measurement of precipitates formed by the interaction of highly dilute solutions of reagents, or other particulate matter, such as suspensions of bacterial cells. In order that consistent results may be achieved, all variables must be carefully controlled. Where such control is possible, extremely dilute suspensions may be measured.

The specimen solute is dissolved in the solvent at several different accurately known concentrations, the choice of concentrations being dependent on the molecular weight of the solute and ranging from 1% for $M_w = 10,000$ to 0.01% for $M_w = 1,000,000$. Each solution must be very carefully cleaned before measurement by repeated filtration through fine filters. A dust particle in the solution vitiates the intensity of the scattered light measured. A criterion for a clear solution is that the dissymmetry, 45°/135° scattered intensity ratio, has attained a minimum.

The turbidity and refractive index of the solutions are measured. From the general 90° light-scattering equation, a plot of HC/τ versus C is made and extrapolated to infinite dilution, and the weight-average molecular weight, M , is calculated from the intercept, $1/M$.

Visual Comparison

Where a color or a turbidity comparison is directed, color-comparison tubes that are matched as closely as possible in internal diameter and in all other respects should be used. For color comparison, the tubes should be viewed downward, against a white background, with the aid of a light source directed from beneath the bottoms of the tubes, while for turbidity comparison the tubes should be viewed horizontally, against a dark background, with the aid of a light source directed from the sides of the tubes.

In conducting limit tests that involve a comparison of colors in two like containers (e.g., matched color-comparison tubes), a suitable instrument, rather than the unaided eye, may be used.

¹ National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg, MD 20899: "Spectral Transmittance Characteristics of Holmium Oxide in Perchloric Acid," *J. Res. Natl. Bur. Stds.* 90, No. 2, 115 (1985). The performance of an uncertified filter should be checked against a certified standard.

² For further detail regarding checks on photometric scale of a spectrophotometer, reference may be made to the following NIST publications: *J. Res. Natl. Bur. Stds.* 76A, 469 (1972) [re: SRM 93I, "Liquid Absorbance Standards for Ultraviolet and Visible Spectrophotometry" as well as potassium chromate and potassium dichromate]; *NIST Spec. Publ.* 260-116 (1994) [re: SRM 930 and SRM 1930, "Glass Filters for Spectrophotometry"].

Auxiliary Information— Please check for your question in the FAQs before contacting USP.

Topic/Question	Contact	Expert Committee
General Chapter	Horacio N. Pappa, Ph.D. Senior Scientist and Latin American Liaison 1-301-816-8319	(GC05) General Chapters 05

USP32-NF27 Page 373

Pharmacopeial Forum: Volume No. 35(1) Page 157



ANEXO I

PROCEDIMIENTO

Espectrofotometría de Absorción

Las instrucciones detalladas para operar los espectrofotómetros son suministradas por los fabricantes. Para obtener resultados válidos y significativos, el operador de un espectrofotómetro debe estar consciente de sus limitaciones y de las fuentes potenciales de error y variación. El manual de instrucciones debe ser seguido minuciosamente sobre temas tales como cuidado, limpieza y calibración del instrumento y las técnicas de manejo de las células de absorción, así como las instrucciones para la operación. Los siguientes puntos requieren especial énfasis.

Revise el instrumento para la precisión de la calibración. Donde una fuente continua de energía radiante es utilizada, se debe prestar atención tanto a la longitud de la onda como a las escalas fotométricas; donde una fuente de línea espectral es utilizada, solamente la escala fotométrica necesita ser revisada. Un número de fuentes de energía radiante tiene líneas espectrales de intensidad apropiada, adecuadamente espaciadas a lo largo del rango espectral seleccionado. La mejor fuente sencilla de UV y espectro de calibración visible es el arco de mercurio de cuarzo, del cual las líneas a 253.7, 302.25, 313.16, 334.15, 365.48, 404.66 y 435.83 nm pueden ser utilizadas. El arco de mercurio de vidrio es igualmente utilizado por encima de 300 nm. Las líneas 486.13 y 656.28 nm de una lámpara de descarga de hidrógenos también pueden ser utilizadas. La escala de longitud de onda puede ser calibrada por medio de filtros de vidrio apropiados, los cuales tienen útiles bandas de absorción a través de las regiones visible y UV. Vasos estándar conteniendo didimio (una mezcla de praseodimio y neodimio) han sido utilizados ampliamente, aunque se encontró que los vasos conteniendo holmio eran superiores. La solución de óxido de holmio estándar ha sobrepasado el uso del vaso de holmio.¹ Las escalas de longitud de onda de espectrofotómetros cerca a -IR e IR ya han sido revisadas para el uso de bandas de absorción provistas con películas de poliestireno, dióxido de carbono, vapor de agua o gas de amonio.

Para revisar la escala fotométrica, un número de filtros de vidrio inorgánico, así como de soluciones estándar de transmitancias tales como dicromato de potasio están disponibles.²

Las mediciones cuantitativas de la absorción usualmente son hechas sobre soluciones de la sustancia en células conteniendo líquido. Dado que ambos, el solvente y la ventana de la célula absorben luz, se debe compensar para contribuir a la absorción medida. Las células compatibles están disponibles comercialmente para espectrofotometría UV y visible para las cuales no es necesario la corrección de la célula. En espectrofotometría IR, sin embargo, correcciones a las diferencias de la célula normalmente deben ser hechas. En tales casos, pares de células son llenados con el solvente seleccionado y la diferencia en su absorción en la longitud de onda seleccionada es determinada. La célula mostrando la mayor absorción es utilizada para la solución del espécimen de prueba y la absorción medida es corregida por sustracción de la diferencia de la célula.

Con el uso de un Fourier computarizado se transforma el sistema IR; esta corrección no requiere ser hecha dado que la misma célula puede ser utilizada tanto para el solvente blanco como para la solución de prueba; sin embargo, se debe cerciorar que las propiedades de transmisión de la célula son constantes.

Comparaciones de un espécimen de prueba con un Estándar de Referencia son hechas mejor en un pico de absorción espectral para lo concerniente al compuesto. Los ensayos prescribiendo espectrofotometría comúnmente aceptan la longitud de onda para el pico de absorción espectral de la sustancia en cuestión. Es sabido que los diferentes espectrofotómetros pueden mostrar una variación menor en la longitud de onda aparente de este pico. La buena práctica demanda que las comparaciones sean hechas en la longitud de onda en la cual el pico de absorción ocurre. La diferencia de más de ± 1 nm de la longitud de onda especificada en la monografía individual puede indicar la necesidad de re calibrar el instrumento.

Preparación de la Prueba

Para determinaciones utilizando espectrofotometría UV o visible, el espécimen generalmente es disuelto en un solvente. A menos que algo diferente se indique en la monografía, las determinaciones son hechas a temperatura ambiente utilizando una longitud de 1cm. Muchos solventes son apropiados para estos rangos, incluyendo agua, alcoholes, cloroformo, hidrocarburos livianos, éteres y soluciones de dilución de ácidos y álcalis fuertes. Se deben tomar precauciones para utilizar solventes libres de contaminantes absorbentes en la región espectral siendo utilizada. Es normalmente aconsejable utilizar agua libre de metanol o de alcohol o alcohol desnaturalizado por la adición de metanol pero no conteniendo benceno u otras impurezas que puedan interferir, como el solvente. Los solventes de calidad espectrofotométrica especial, garantizados de estar libres de contaminantes, están disponibles comercialmente de varias fuentes. Algunos otros solventes orgánicos grado re agente analítico pueden contener trazas de impurezas que absorben fuertemente en la región UV. Nuevos lotes de estos solventes deben ser revisados por su transparencia y se debe tener cuidado de utilizar el mismo lote de solvente para la preparación de la solución de prueba y la solución estándar y para el blanco.

Ningún solvente de grosor apreciable es completamente transparente a lo largo del espectro cerca -IR e IR. El tetracloruro de carbono (hasta 5 mm de grosor) es prácticamente transparente hasta $6\text{ }\mu\text{m}$ (1666 cm^{-1}), disulfuro de carbono (1 mm de grosor) es apropiado como solvente a $40\text{ }\mu\text{m}$ (250 cm^{-1}) con la excepción de regiones $4.2\text{ }\mu\text{m}$ a $5.0\text{ }\mu\text{m}$ (2381 cm^{-1} a 2000 cm^{-1}) y $5.5\text{ }\mu\text{m}$ a $7.5\text{ }\mu\text{m}$ (1819 cm^{-1} a 1333 cm^{-1}), donde el mismo tiene una fuerte absorción. Otros solventes tienen regiones relativamente estrechas de transparencia. Para espectrofotometría IR, una calificación adicional para un solvente apropiado es que éste no debe afectar el material, normalmente cloruro de sodio, del cual está hecha la célula. El espécimen de prueba también puede ser preparado por la dispersión de espécimen sólido finamente molido en aceite mineral o mezclándolo íntimamente con sal de haluro alcalino previamente seca (usualmente bromuro de potasio). Las mezclas con sales de haluro alcalino pueden ser examinadas

directamente o como píldoras o discos transparentes obtenidos presionando la mezcla. Las condiciones del secado típico del bromuro de potasio son 105° al vacío durante 12 horas; aunque hay grados comercialmente disponibles que no requieren de secado. Microscopio infrarrojo o una dispersión en aceite mineral es preferible donde hay desproporción entre el haluro alcalino y el espécimen de prueba. Para materiales adecuados, el espécimen de prueba puede ser preparado como una muestra delgada para microscopio IR o suspendido como una película delgada para dispersión en aceite mineral. Para espectrofotometría Raman los solventes más comunes son apropiados y las células de vidrio ordinario (no fluorescente) pueden ser utilizadas. La región IR del espectro electromagnético se extiende de 0.8 a 400 μm . De 800 a 2500 nm (0.8 a 2.5 μm) es generalmente considerada ser la región cerca -IR (NIR); de 2.5 a 25 μm (4000 a 400 cm^{-1}) es generalmente considerada ser la región del rango medio (mid-IR); y de 25 a 400 μm es generalmente considerado ser la región far-IR (FIR).

A menos que se especifique algo distinto en la monografía individual, la región desde 3800 a 650 cm^{-1} (2.6 a 15 μm) debe ser utilizado para verificar el cumplimiento de las especificaciones de la monografía para absorción IR.

Donde los valores para el espectro de línea IR son dados en una monografía individual, las letras s, m y w significan absorción fuerte, media y débil, respectivamente; sh significa hombro, bd significa banda y v significa mucho. Los valores pueden variar tanto como 0.1 μm o 10 cm^{-1} , dependiendo del instrumento utilizado en particular. El polimorfismo da aumento a las variaciones en el espectro IR de muchos compuestos en el estado sólido. Por lo tanto, cuando se realiza una prueba de absorción IR, si aparece una diferencia en el espectro IR del análisis y el estándar, disuelva porciones iguales de la sustancia de prueba y del estándar en volúmenes iguales de un solvente apropiado, evapore las soluciones a sequedad en contenedores similares bajo condiciones idénticas y repita la prueba en los residuos.

En la espectroscopia NIR mucho del interés actual está centrado en la facilidad del análisis. Las muestras pueden ser analizadas en forma de polvo o por medio de técnicas reflectancia con muy poca o ninguna preparación. La conformidad con las

especificaciones puede ser determinada por la comparación del espectro con espectros previamente obtenidos de materiales de referencia. Muchos materiales farmacéuticos muestran baja absorción en esta región espectral, lo cual permite una radiación incidente cerca -IR para penetrar más profundamente las muestras que la radiación UV, visible o IR. La espectrofotometría NIR puede ser utilizada para observar las modificaciones de la matriz y, con una calibración apropiada, puede ser utilizada en análisis cuantitativos.

En la espectrofotometría de absorción atómica, la naturaleza del solvente y la concentración de los sólidos deben ser tomados en consideración especial. Un solvente ideal es uno que interfiera en una mínima extensión en los procesos de absorción o de emisión y uno que produzca átomos neutrales en la llama. Si hay una diferencia significativa entre la tensión de la superficie o la viscosidad de la solución de prueba y la solución estándar, las soluciones son aspiradas o atomizadas a una tasa diferente, causando diferencias significativas en las señales generadas. La concentración del ácido de las soluciones también afecta los procesos de absorción. Los solventes utilizados en la preparación del espécimen de prueba y del estándar deben ser iguales o parecerse todo lo posible en estos aspectos y las soluciones producidas que son fácilmente aspiradas a través del tubo del espécimen o de la aspiradora del quemador. Dado que se presentan sólidos insolubles en las soluciones y ello puede aumentar las interferencias en la matriz, el contenido total de sólidos insolubles debe ser mantenido, en lo posible, por debajo del 2%.

Fourierspektrometer **IFS 28**



Benutzerhandbuch
für
Bedienung und Wartung

(Vorläufige Version)

07/93

© 1993 BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH

Text, Abbildungen und Programme wurden mit größter Sorgfalt erarbeitet. Wir können jedoch für eventuell verbliebene fehlerhafte Angaben und deren Folgen weder eine juristische Verantwortung noch irgendeine Haftung übernehmen. Die vorliegende Publikation ist urheberrechtlich geschützt. Alle Rechte vorbehalten. Kein Teil des Buches darf ohne unsere schriftliche Genehmigung in irgendeiner Form durch Fotokopie, Mikrofilm oder andere Verfahren reproduziert oder in eine für Maschinen, insbesondere Datenverarbeitungsanlagen, verwendbare Sprache übertragen werden. Auch die Rechte der Wiedergabe durch Vortrag, Funk und Fernsehen sind vorbehalten. Die in diesem Buch erwähnten Software- und Hardwarebezeichnungen sind in den meisten Fällen auch eingetragene Warenzeichen und unterliegen als solche den gesetzlichen Bestimmungen.

Dieses Buch ist die Originaldokumentation zum Fourierspektrometer IFS 28.

Inhaltsverzeichnis

1 Infrarotspektroskopie heute: FT-IR 7

2 Das Wichtigste in Kürze

2.1	Installationsanforderungen	13
2.1.1	Standort	13
2.1.2	Umgebung	14
2.1.3	Versorgungseinrichtungen	15
2.1.3.1	Strombedarf	15
2.1.3.2	Trockenluftbedarf	15
2.1.3.3	Kühlwasser	15
2.1.4	Maße und Gewichte	16
2.2	Sicherheitshinweise	21
2.3	Inbetriebnahme	23
2.3.1	Anschlüsse	25
2.3.1.1	Spektrometeroptik	25
2.3.1.2	PC-Datensystem	27
2.3.2	Einschalten des Spektrometers	29
2.3.3	Signalweg und -kontrolle	31
2.4	Bedienungselemente an der Spektrometeroptik	33
2.4.1	Geräte Hauptschalter	33
2.4.2	Service-Kontrollschalter	33
2.4.3	Regulatoren für Trockenluftspülung	33
2.4.4	Blendenschieber (Option)	34
2.4.5	Probenraumklappe	34
2.4.6	Trockenpatronen	34
2.5	Spezifikationen des IFS 28	35
2.6	Durchführen einer Messung	37
2.7	Ausschalten des Spektrometers	39

3	Spektrometer-Optik	41
3.1	Allgemeines	41
3.2	Äußere Bedienungselemente	43
3.2.1	Gerätehauptschalter	43
3.2.2	Service-Kontrollschalter	44
3.2.3	Regulatoren für Trockenluftspülung	45
3.2.4	Blendenschieber (Option)	46
3.2.5	Probenraumklappe	47
3.2.6	Trockenpatronen	48
3.3	Strahlungsquellen	49
3.3.1	MIR - der Glowbar	50
3.4	Blende	51
3.5	Interferometer	53
3.5.1	Laser	54
3.5.2	Scanner	55
3.5.3	Strahlenteiler	56
3.6	Probenraum	57
3.6.1	Abmessungen	58
3.6.2	Kinematische Grundplatte	59
3.6.3	Probenraum-Fenster	60
3.6.4	Luftspülung	61
3.7	IR-Ausgänge / Externe Meßkanäle	63
3.8	Detektoren	65
3.8.1	Die wichtigsten Detektoren	66
3.8.1.1	DLATGS	66
3.8.1.2	MCT	66
3.8.2	Detektorumschaltung	67
4	Spektrometer-Elektronik	69
5	Spezielle Messungen	71
6	Etwas FT-Theorie	73

Inhaltsverzeichnis...

7 Wartungsarbeiten 75

7.1 **Detektoren** 77

7.1.1 Austausch 78

7.1.2 Detektor-Dewar abpumpen 79

7.2 **HeNe-Laser** 81

7.2.1 Ausbau 82

7.2.2 Einbau 83

7.2.3 Justierung 84

7.3 **Justieren der Optik** 85

7.4 **Spiegelreinigung** 87

7.5 **Strahlungsquellen** 89

7.5.1 Austausch 90

7.5.2 Kühlwasser im Wärmetauscher 91

7.6 **Trockenpatronen** 93

8 Fehlersuche 95

9 Referenzteil . . . 97

9.1 **Abnahmespezifikationen** 97

9.2 **Softwarekommandos** 99

9.3 **Abbildungsverzeichnis** 101

9.4 **Stichwortverzeichnis** 103



Das Wichtigste in Kürze / Kapitel 2

2.1.2 Umgebung

Die Betriebstemperatur des Spektrometers liegt zwischen 18°C und 28°C bei einer Luftfeuchtigkeit von weniger als 70 %. Bei Messungen, die sich über längere Zeiträume erstrecken, sollten Temperaturvariationen kleiner $\pm 1^\circ\text{C}$ sein.

Die Spektrometer sind elektrisch gut abgeschirmt. Sofern möglich sollte das Gerät trotzdem nicht in der Nähe von starken elektrischen oder magnetischen Feldern aufgestellt werden.

ESPECTROMETRO DE FOURIER

IFS 28

BRUKER

MANUAL DE USUARIO

PARA MANEJO Y MANTENIMIENTO

(Versión previa)

07/93

2.1.2 ENTORNO

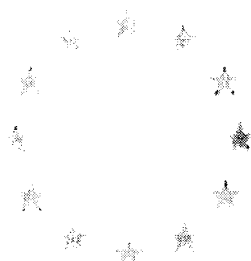
La temperatura de operación del espectrómetro se encuentra entre 18°C y 28°C con una humedad de menos de 70%. En mediciones, que se prolonguen por espacios mas amplios, las variaciones de temperatura debería ser menores a $\pm 1^\circ\text{C}$.

Los espectrómetros están eléctricamente bien protegidos. En tanto sea posible, el aparato sin embargo no debería ser colocado cerca a campos eléctricos o magnéticos.

EUROPÄISCHES ARZNEIBUCH

**5. AUSGABE
GRUNDWERK 2005**

**BAND 1
ALLGEMEINER TEIL
MONOGRAPHIEGRUPPEN**



Amtliche deutsche Ausgabe

Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart
Govi-Verlag - Pharmazeutischer Verlag GmbH Eschborn

Wichtige Adressen

Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte

FG Arzneibuch, Standardzulassung
Kurt-Georg-Kiesinger-Allee 3
D-53175 Bonn

Europäisches Direktorat für die Qualität von Arzneimitteln (EDQM) des Europarats

226, Avenue de Colmar - BP 907
F-67029 Strasbourg Cedex 1, France

Tel.: 00 33-388-41 30 30
Fax: 00 33-388-41 27 71
Internet: <http://www.pheur.org>

CD-ROM
Monographien
Referenzsubstanzen
Veranstaltungen
Veröffentlichungen
Zertifizierung
Sonstige Informationen

E-Mail

cdromtech@pheur.org
monographs@pheur.org
CRS@pheur.org
publicrelations@pheur.org
publications@pheur.org
certification@pheur.org
info@pheur.org

Vertragsstaaten, die das Übereinkommen über die Ausarbeitung eines Europäischen Arzneibuchs unterzeichnet haben und Mitglied der Europäischen Arzneibuch-Kommission sind (Stand: Januar 2005)

Belgien	Niederlande
Bosnien-Herzegowina	Norwegen
Bulgarien	Österreich
Dänemark	Portugal
Deutschland	Rumänien
Estland	Schweden
Finnland	Schweiz
Frankreich	Serbien und Montenegro
Griechenland	Slowakische Republik
Irland	Slowenien
Island	Spanien
Italien	Tschechische Republik
Kroatien	Türkei
Lettland	Ungarn
Litauen	Vereinigtes Königreich
Großherzogtum Luxemburg	Zypern
Malta	Europäische Union
Ex-jugoslawische Republik Mazedonien	

Europäisches Arzneibuch 5. Ausgabe, Grundwerk 2005 (in 2 Bänden)
ISBN 3-7692-3638-6

© Printed in Germany
Satz: Satz-Rechen-Zentrum Hartmann + Heenemann, Berlin
Druck: C. H. Beck, Nördlingen
Buchbinder: Sigloch, Blaufelden
Einbandgestaltung: Atelier Schäfer, Esslingen

Monographiegruppen

Einzelmonographien zu Impfstoffen für Tiere

Infektiöse-Aviäre-Enzephalomyelitis-Lebend-Impfstoff für Geflügel wird zu:
Infektiöse-Aviäre-Encephalomyelitis-Lebend-Impfstoff
Infektiöse-Aviäre-Laryngotracheitis-Lebend-Impfstoff für Hühner wird zu:
Infektiöse-Aviäre-Laryngotracheitis-Lebend-Impfstoff
Infektiöse-Bronchitis-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) für Geflügel wird zu:
Infektiöse-Bronchitis-Lebend-Impfstoff für Geflügel
Infektiöse-Bursitis-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) für Geflügel wird zu:
Infektiöse-Bursitis-Lebend-Impfstoff für Geflügel
Geflügelpocken-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) wird zu: **Geflügelpocken-Lebend-Impfstoff**
Hepatitis-Lebend-Impfstoff für Enten wird zu: **Hepatitis-Typ-I-Lebend-Impfstoff für Enten**
Leptospirose-Impfstoff für Tiere wird zu: **Leptospirose-Impfstoff (inaktiviert) für Hunde**
Newcastle-Krankheit-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) wird zu: **Newcastle-Krankheit-Lebend-Impfstoff**

Monographien A–Z

Glyceroltriacetat wird zu: **Triacetin**

2. Verzeichnis aller Texte der 5. Ausgabe

Allgemeiner Teil

1 Allgemeine Vorschriften	Stand
1.1 Allgemeines	5.0
1.2 Begriffe in allgemeinen Kapiteln und Monographien sowie Erläuterungen	5.0
1.3 Allgemeine Kapitel	5.0
1.4 Monographien	5.0
1.5 Allgemeine Abkürzungen und Symbole	5.0
1.6 Internationales Einheitensystem und andere Einheiten	5.0
2 Allgemeine Methoden	
2.1 Geräte	
2.1.1 Normaltropfenzähler	5.0
2.1.2 Vergleichstabelle der Porosität von Glassintertiegeln	5.0
2.1.3 UV-Analysenlampen	5.0
2.1.4 Siebe	5.0
2.1.5 Neßler-Zylinder	5.0
2.1.6 Gasprüfröhrchen	5.0
2.2 Methoden der Physik und der physikalischen Chemie	
2.2.1 Klarheit und Opaleszenz von Flüssigkeiten	5.0
2.2.2 Färbung von Flüssigkeiten	5.0
2.2.3 pH-Wert – Potentiometrische Methode	5.0
2.2.4 pH-Wert – Indikatormethode	5.0
2.2.5 Relative Dichte	5.0
2.2.6 Brechungsindex	5.0
2.2.7 Optische Drehung	5.0
2.2.8 Viskosität	5.0
2.2.9 Kapillarviskosimeter	5.0
2.2.10 Rotationsviskosimeter	5.0
2.2.11 Destillationsbereich	5.0
2.2.12 Siedetemperatur	5.0
2.2.13 Bestimmung von Wasser durch Destillation	5.0
2.2.14 Schmelztemperatur – Kapillarmethode	5.0
2.2.15 Steigschmelzpunkt – Methode mit offener Kapillare	5.0
2.2.16 Sofortschmelzpunkt	5.0

Beachten Sie den Hinweis auf „Allgemeine Monographien“ zu Anfang des Bands auf Seite B

	Stand
2.2.17 Tropfpunkt	5.0
2.2.18 Erstarrungstemperatur	5.0
2.2.19 Amperometrie	5.0
2.2.20 Potentiometrie	5.0
2.2.21 Fluorimetrie	5.0
2.2.22 Atomemissionsspektroskopie (einschließlich Flammenphotometrie)	5.0
2.2.23 Atomabsorptionsspektroskopie	5.0
2.2.24 IR-Spektroskopie	5.0
2.2.25 UV-Vis-Spektroskopie	5.0
2.2.26 Papierchromatographie	5.0
2.2.27 Dünnschichtchromatographie	5.0
2.2.28 Gaschromatographie	5.0
2.2.29 Flüssigchromatographie	5.0
2.2.30 Ausschlusschromatographie	5.0
2.2.31 Elektrophorese	5.0
2.2.32 Trocknungsverlust	5.0
2.2.33 Kernresonanzspektroskopie	5.0
2.2.34 Thermoanalyse	5.0
2.2.35 Osmolalität	5.0
2.2.36 Bestimmung der Ionenkonzentration unter Verwendung ionenselektiver Elektroden	5.0
2.2.37 Röntgenfluoreszenzspektroskopie	5.0
2.2.38 Leitfähigkeit	5.0
2.2.39 Molekülmassenverteilung in Dextranen	5.0
2.2.40 NIR-Spektroskopie	5.0
2.2.41 Zirkulardichroismus	5.0
2.2.42 Dichte von Feststoffen	5.0
2.2.43 Massenspektrometrie	5.0
2.2.44 Gesamter organischer Kohlenstoff in Wasser zum pharmazeutischen Gebrauch	5.0
2.2.45 Flüssigchromatographie mit superkritischen Phasen	5.0
2.2.46 Chromatographische Trennmethoden	5.0
2.2.47 Kapillarelektrophorese	5.0
2.2.48 Raman-Spektroskopie	5.0
2.2.49 Kugelfall-Viskosimeter-Methode	5.0
2.2.54 Isoelektrische Fokussierung	5.0
2.2.55 Peptidmustercharakterisierung	5.0
2.2.56 Aminosäurenanalyse	5.0
2.3 Identitätsreaktionen	
2.3.1 Identitätsreaktionen auf Ionen und funktionelle Gruppen	5.0
2.3.2 Identifizierung fester Öle durch Dünnschichtchromatographie	5.0
2.3.3 Identifizierung von Phenothiazinen durch Dünnschichtchromatographie	5.0
2.3.4 Geruch	5.0
2.4 Grenzprüfungen	
2.4.1 Ammonium	5.0
2.4.2 Arsen	5.0
2.4.3 Calcium	5.0
2.4.4 Chlorid	5.0
2.4.5 Fluorid	5.0
2.4.6 Magnesium	5.0
2.4.7 Magnesium, Erdalkalimetalle	5.0
2.4.8 Schwermetalle	5.0
2.4.9 Eisen	5.0
2.4.10 Blei in Zuckern	5.0
2.4.11 Phosphat	5.0
2.4.12 Kalium	5.0
2.4.13 Sulfat	5.0
2.4.14 Sulfatasche	5.0
2.4.15 Nickel in Polyolen	5.0
2.4.16 Asche	5.0
2.4.17 Aluminium	5.0
2.4.18 Freier Formaldehyd	5.0
2.4.19 Alkalisch reagierende Substanzen in fetten Ölen	5.0

Die „Allgemeinen Vorschriften“ gelten für alle Monographien und sonstigen Texte

Ph. Eur. 5. Ausgabe, Grundwerk 2005

	Stand
2.4.21 Prüfung fester Öle auf fremde Öle durch Dünnschichtchromatographie	5.0
2.4.22 Prüfung der Fettsäurezusammensetzung durch Gaschromatographie	5.0
2.4.23 Sterole in fetten Ölen	5.0
2.4.24 Identifizierung und Bestimmung von Lösungsmittel-Rückständen	5.0
2.4.25 Ethylenoxid und Dioxan	5.0
2.4.26 <i>N,N</i> -Dimethylanilin	5.0
2.4.27 Schwermetalle in pflanzlichen Drogen und fetten Ölen	5.0
2.4.28 2-Ethylhexansäure	5.0
2.4.29 Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung von Omega-3-Säuren-reichen Ölen	5.0
2.4.30 Ethylenglycol und Diethylenglycol in ethoxylierten Substanzen	5.0
2.5 Gehaltsbestimmungsmethoden	
2.5.1 Säurezahl	5.0
2.5.2 Esterzahl	5.0
2.5.3 Hydroxylzahl	5.0
2.5.4 Iodzahl	5.0
2.5.5 Peroxidzahl	5.0
2.5.6 Verseifungszahl	5.0
2.5.7 Unverseifbare Anteile	5.0
2.5.8 Stickstoff in primären aromatischen Aminen	5.0
2.5.9 Kjeldahl-Bestimmung, Halbmikro-Methode	5.0
2.5.10 Schöniger-Methode	5.0
2.5.11 Komplexometrische Titrationen	5.0
2.5.12 Halbmikrobestimmung von Wasser – Karl-Fischer-Methode	5.0
2.5.13 Aluminium in Adsorbat-Impfstoffen	5.0
2.5.14 Calcium in Adsorbat-Impfstoffen	5.0
2.5.15 Phenol in Sera und Impfstoffen	5.0
2.5.16 Protein in Polysaccharid-Impfstoffen	5.0
2.5.17 Nukleinsäuren in Polysaccharid-Impfstoffen	5.0
2.5.18 Phosphor in Polysaccharid-Impfstoffen	5.0
2.5.19 <i>O</i> -Acetyl-Gruppen in Polysaccharid-Impfstoffen	5.0
2.5.20 Hexosamine in Polysaccharid-Impfstoffen	5.0
2.5.21 Methylpentosen in Polysaccharid-Impfstoffen	5.0
2.5.22 Uronsäuren in Polysaccharid-Impfstoffen	5.0
2.5.23 Sialinsäure in Polysaccharid-Impfstoffen	5.0
2.5.24 Kohlendioxid in Gasen	5.0
2.5.25 Kohlenmonoxid in Gasen	5.0
2.5.26 Stickstoffmonoxid und Stickstoffdioxid in Gasen	5.0
2.5.27 Sauerstoff in Gasen	5.0
2.5.28 Wasser in Gasen	5.0
2.5.29 Schwefeldioxid	5.0
2.5.30 Oxidierende Substanzen	5.0
2.5.31 Ribose in Polysaccharid-Impfstoffen	5.0
2.5.32 Mikrobestimmung von Wasser – Coulometrische Titration	5.0
2.5.33 Gesamtprotein	5.0
2.5.34 Essigsäure in synthetischen Peptiden	5.0
2.5.35 Distickstoffmonoxid in Gasen	5.0
2.5.36 Anisidinzahl	5.0
2.6 Methoden der Biologie	
2.6.1 Prüfung auf Sterilität	5.0
2.6.2 Prüfung auf Mykobakterien	5.0
2.6.7 Prüfung auf Mykoplasmen	5.0
2.6.8 Prüfung auf Pyrogene	5.0
2.6.9 Prüfung auf anomale Toxizität	5.0
2.6.10 Prüfung auf Histamin	5.0
2.6.11 Prüfung auf blutdrucksenkende Substanzen	5.0
2.6.12 Mikrobiologische Prüfung nicht steriler Produkte: Zählung der gesamten vermehrungsfähigen Keime	5.0
2.6.13 Mikrobiologische Prüfung nicht steriler Produkte: Nachweis spezifizierter Mikroorganismen	5.0
2.6.14 Prüfung auf Bakterien-Endotoxine	5.0
2.6.15 Präkallikrein-Aktivator	5.0
2.6.16 Prüfung auf fremde Agenzien in Virus-Lebend-Impfstoffen für Menschen	5.0

Beachten Sie den Hinweis auf „Allgemeine Monographien“ zu Anfang des Bands auf Seite B

	Stand
2.6.17 Bestimmung der antikomplementären Aktivität von Immunglobulin	5.0
2.6.18 Prüfung auf Neurovirulenz von Virus-Lebend-Impfstoffen	5.0
2.6.19 Prüfung auf Neurovirulenz von Poliomyelitis-Impfstoff (oral)	5.0
2.6.20 Anti-A- und Anti-B-Hämagglutinine (indirekte Methode)	5.0
2.6.21 Verfahren zur Amplifikation von Nukleinsäuren	5.0
2.6.22 Aktivierte Blutgerinnungsfaktoren	5.0
2.6.24 Aviäre Virusimpfstoffe: Prüfungen auf fremde Agenzien in Saatgut	5.0
2.6.25 Aviäre-Virus-Lebend-Impfstoffe: Prüfungen auf fremde Agenzien in Chargen von Fertigprodukten ..	5.0
2.7 Biologische Wertbestimmungsmethoden	
2.7.1 Immunchemische Methoden	5.0
2.7.2 Mikrobiologische Wertbestimmung von Antibiotika	5.0
2.7.4 Wertbestimmung von Blutgerinnungsfaktor VIII vom Menschen	5.0
2.7.5 Wertbestimmung von Heparin	5.0
2.7.6 Bestimmung der Wirksamkeit von Diphtherie-Adsorbat-Impfstoff	5.0
2.7.7 Bestimmung der Wirksamkeit von Pertussis-Impfstoff	5.0
2.7.8 Bestimmung der Wirksamkeit von Tetanus-Adsorbat-Impfstoff	5.0
2.7.9 Fc-Funktion von Immunglobulin	5.0
2.7.10 Wertbestimmung von Blutgerinnungsfaktor VII vom Menschen	5.0
2.7.11 Wertbestimmung von Blutgerinnungsfaktor IX vom Menschen	5.0
2.7.12 Wertbestimmung von Heparin in Blutgerinnungsfaktoren	5.0
2.7.13 Bestimmung der Wirksamkeit von Anti-D-Immunglobulin vom Menschen	5.0
2.7.14 Bestimmung der Wirksamkeit von Hepatitis-A-Impfstoff	5.0
2.7.15 Bestimmung der Wirksamkeit von Hepatitis-B-Impfstoff (rDNA)	5.0
2.7.16 Bestimmung der Wirksamkeit von Pertussis-Impfstoff (azellulär)	5.0
2.7.17 Wertbestimmung von Antithrombin III vom Menschen	5.0
2.7.18 Wertbestimmung von Blutgerinnungsfaktor II vom Menschen	5.0
2.7.19 Wertbestimmung von Blutgerinnungsfaktor X vom Menschen	5.0
2.7.20 In-vivo-Bestimmung der Wirksamkeit von Poliomyelitis-Impfstoff (inaktiviert)	5.0
2.7.21 Wertbestimmung von Von-Willebrand-Faktor vom Menschen	5.0
2.7.22 Wertbestimmung von Blutgerinnungsfaktor XI vom Menschen	5.0
2.8 Methoden der Pharmakognosie	
2.8.1 Salzsäureunlösliche Asche	5.0
2.8.2 Fremde Bestandteile	5.0
2.8.3 Spaltöffnungen und Spaltöffnungsindex	5.0
2.8.4 Quellungszahl	5.0
2.8.5 Wasser in ätherischen Ölen	5.0
2.8.6 Fremde Ester in ätherischen Ölen	5.0
2.8.7 Fette Öle, verharzte ätherische Öle in ätherischen Ölen	5.0
2.8.8 Geruch und Geschmack von ätherischen Ölen	5.0
2.8.9 Verdampfungsrückstand von ätherischen Ölen	5.0
2.8.10 Löslichkeit von ätherischen Ölen in Ethanol	5.0
2.8.11 Gehaltsbestimmung von 1,8-Cineol in ätherischen Ölen	5.0
2.8.12 Gehaltsbestimmung des ätherischen Öls in Drogen	5.0
2.8.13 Pestizid-Rückstände	5.0
2.8.14 Bestimmung des Gerbstoffgehalts pflanzlicher Drogen	5.0
2.8.15 Bitterwert	5.0
2.8.16 Trockenrückstand von Extrakten	5.0
2.8.17 Trocknungsverlust von Extrakten	5.0
2.9 Methoden der pharmazeutischen Technologie	
2.9.1 Zerfallszeit von Tabletten und Kapseln	5.0
2.9.2 Zerfallszeit von Suppositorien und Vaginalzäpfchen	5.0
2.9.3 Wirkstofffreisetzung aus festen Arzneiformen	5.0
2.9.4 Wirkstofffreisetzung aus Transdermalen Pflastern	5.0
2.9.5 Gleichförmigkeit der Masse einzeldosierter Arzneiformen	5.0
2.9.6 Gleichförmigkeit des Gehalts einzeldosierter Arzneiformen	5.0
2.9.7 Friabilität von nicht überzogenen Tabletten	5.0
2.9.8 Bruchfestigkeit von Tabletten	5.0
2.9.9 Prüfung der Konsistenz durch Penetrometrie	5.0
2.9.10 Ethanolgehalt und Ethanolgehaltstabelle	5.0
2.9.11 Prüfung auf Methanol und 2-Propanol	5.0
2.9.12 Siebanalyse	5.0

Die „Allgemeinen Vorschriften“ gelten für alle Monographien und sonstigen Texte

Ph. Eur. 5. Ausgabe, Grundwerk 2005

	Stand
2.9.13 Bestimmung der Teilchengröße durch Mikroskopie	5.0
2.9.14 Bestimmung der spezifischen Oberfläche durch Luftpermeabilität	5.0
2.9.15 Schütt- und Stampfvolumen	5.0
2.9.16 Fließverhalten	5.0
2.9.17 Bestimmung des entnehmbaren Volumens von Parenteralia	5.0
2.9.18 Zubereitungen zur Inhalation: Aerodynamische Beurteilung feiner Teilchen	5.0
2.9.19 Partikelkontamination – Nicht sichtbare Partikel	5.0
2.9.20 Partikelkontamination – Sichtbare Partikel	5.0
2.9.22 Erweichungszeit von lipophilen Suppositorien	5.0
2.9.23 Bestimmung der Dichte von Feststoffen mit Hilfe von Pyknometern	5.0
2.9.24 Bruchfestigkeit von Suppositorien und Vaginalzäpfchen	5.0
2.9.25 Wirkstofffreisetzung aus wirkstoffhaltigen Kaugummi	5.0
2.9.26 Bestimmung der spezifischen Oberfläche durch Gasadsorption	5.0
2.9.27 Gleichförmigkeit der Masse der abgegebenen Dosen aus Mehrdosenbehältnissen	5.0
2.9.28 Prüfung der entnehmbaren Masse oder des entnehmbaren Volumens bei halbfesten und flüssigen Zubereitungen	5.0

3 Material zur Herstellung von Behältnissen; Behältnisse

3.1 Material zur Herstellung von Behältnissen	5.0
3.1.1 Material für Behältnisse zur Aufnahme von Blut und Blutprodukten vom Menschen	5.0
3.1.1.1 Kunststoffe auf Polyvinylchlorid-Basis (weichmacherhaltig) für Behältnisse zur Aufnahme von Blut und Blutprodukten vom Menschen	5.0
3.1.1.2 Kunststoffe auf Polyvinylchlorid-Basis (weichmacherhaltig) für Schläuche in Transfusionsbestecken für Blut und Blutprodukte	5.0
3.1.3 Polyolefine	5.0
3.1.4 Polyethylen ohne Zusatzstoffe für Behältnisse zur Aufnahme parenteraler und ophthalmologischer Zubereitungen	5.0
3.1.5 Polyethylen mit Zusatzstoffen für Behältnisse zur Aufnahme parenteraler und ophthalmologischer Zubereitungen	5.0
3.1.6 Polypropylen für Behältnisse und Verschlüsse zur Aufnahme parenteraler und ophthalmologischer Zubereitungen	5.0
3.1.7 Poly(ethylen-vinylacetat) für Behältnisse und Schläuche für Infusionslösungen zur totalen parenteralen Ernährung	5.0
3.1.8 Siliconöl zur Verwendung als Gleitmittel	5.0
3.1.9 Silicon-Elastomer für Verschlüsse und Schläuche	5.0
3.1.10 Kunststoffe auf Polyvinylchlorid-Basis (weichmacherfrei) für Behältnisse zur Aufnahme nicht injizierbarer, wässriger Lösungen	5.0
3.1.11 Kunststoffe auf Polyvinylchlorid-Basis (weichmacherfrei) für Behältnisse zur Aufnahme trockener Darreichungsformen zur oralen Anwendung	5.0
3.1.13 Kunststoffadditive	5.0
3.1.14 Kunststoffe auf Polyvinylchlorid-Basis (weichmacherhaltig) für Behältnisse zur Aufnahme wässriger Lösungen zur intravenösen Infusion	5.0
3.1.15 Polyethylenterephthalat für Behältnisse zur Aufnahme von Zubereitungen, die nicht zur parenteralen Anwendung bestimmt sind	5.0
3.2 Behältnisse	5.0
3.2.1 Glasbehältnisse zur pharmazeutischen Verwendung	5.0
3.2.2 Kunststoffbehältnisse und -verschlüsse für pharmazeutische Zwecke	5.0
3.2.2.1 Kunststoffbehältnisse zur Aufnahme wässriger Infusionszubereitungen	5.0
3.2.3 Sterile Kunststoffbehältnisse für Blut und Blutprodukte vom Menschen	5.0
3.2.4 Sterile PVC-Behältnisse für Blut und Blutprodukte vom Menschen	5.0
3.2.5 Sterile PVC-Behältnisse mit Stabilisatorlösung für Blut vom Menschen	5.0
3.2.6 Transfusionsbestecke für Blut und Blutprodukte	5.0
3.2.8 Sterile Einmalspritzen aus Kunststoff	5.0
3.2.9 Gummistopfen für Behältnisse zur Aufnahme wässriger Zubereitungen zur parenteralen Anwendung, von Pulvern und von gefriergetrockneten Pulvern	5.0

4 Reagenzien

Reagenzien-Verzeichnis

4.1 Reagenzien, Referenzlösungen und Pufferlösungen

4.1.1 Reagenzien	5.0
------------------------	-----

Beachten Sie den Hinweis auf „Allgemeine Monographien“ zu Anfang des Bands auf Seite B

	Stand
4.1.2 Referenzlösungen für Grenzprüfungen	5.0
4.1.3 Pufferlösungen	5.0
4.2 Volumetrie	
4.2.1 Urtitersubstanzen für Maßlösungen	5.0
4.2.2 Maßlösungen	5.0
4.3 Chemische Referenzsubstanzen (CRS), Biologische Referenzsubstanzen (BRS), Referenzspektren	5.0
5 Allgemeine Texte	
5.1 Allgemeine Texte zur Sterilität und mikrobiologischen Qualität	
5.1.1 Methoden zur Herstellung steriler Zubereitungen	5.0
5.1.2 Bioindikatoren zur Überprüfung der Sterilisationsmethoden	5.0
5.1.3 Prüfung auf ausreichende Konservierung	5.0
5.1.4 Mikrobiologische Qualität pharmazeutischer Zubereitungen	5.0
5.1.5 Anwendung des F_0 -Konzepts auf die Dampfsterilisation von wässrigen Zubereitungen	5.0
5.2 Allgemeine Texte zu Impfstoffen	
5.2.1 Terminologie in Impfstoff-Monographien	5.0
5.2.2 SPF-Hühnerherden für die Herstellung und Qualitätskontrolle von Impfstoffen	5.0
5.2.3 Zellkulturen für die Herstellung von Impfstoffen für Menschen	5.0
5.2.4 Zellkulturen für die Herstellung von Impfstoffen für Tiere	5.0
5.2.5 Substanzen tierischen Ursprungs für die Herstellung von Impfstoffen für Tiere	5.0
5.2.6 Bewertung der Unschädlichkeit von Impfstoffen für Tiere	5.0
5.2.7 Bewertung der Wirksamkeit von Impfstoffen für Tiere	5.0
5.2.8 Minimierung des Risikos der Übertragung von Erregern der spongiformen Enzephalopathie tierischen Ursprungs durch Human- und Tierarzneimittel	5.0
5.3 Statistische Auswertung der Ergebnisse biologischer Wertbestimmungen und Reinheitsprüfungen	
1. Einleitung	5.0
2. Zufälligkeit und Unabhängigkeit einzelner Behandlungen	5.0
3. Von quantitativen Werten abhängige Wertbestimmungen	5.0
4. Wertbestimmungen auf der Basis von Alternativwirkungen	5.0
5. Beispiele	5.0
6. Zusammenfassung von Versuchsergebnissen	5.0
7. Über dieses Kapitel hinaus	5.0
8. Tabellen und Verfahren zur Werteeerzeugung	5.0
9. Verzeichnis der Symbole	5.0
10. Literatur	5.0
5.4 Lösungsmittel-Rückstände	5.0
5.5 Ethanoltablette	5.0
5.6 Bestimmung der Aktivität von Interferonen	5.0
5.7 Tabelle mit physikalischen Eigenschaften der im Arzneibuch erwähnten Radionuklide	5.0
5.8 Harmonisierung der Arzneibücher	5.0
5.9 Polymorphie	5.0
5.10 Kontrolle von Verunreinigungen in Substanzen zur pharmazeutischen Verwendung	5.0
5.11 Zum Abschnitt „Eigenschaften“ in Monographien	5.0
Monographiegruppen	
Allgemeine Monographien	
Allergenzubereitungen	5.0
DNA-rekombinationstechnisch hergestellte Produkte	5.0
Extrakte	5.0
Fermentationsprodukte	5.0
Immunsera von Tieren zur Anwendung am Menschen	5.0
Immunsera für Tiere	5.0
Impfstoffe für Menschen	5.0
Impfstoffe für Tiere	5.0

Die „Allgemeinen Vorschriften“ gelten für alle Monographien und sonstigen Texte

Ph. Eur. 5. Ausgabe, Grundwerk 2005

	Stand
Pflanzliche Drogen	5.0
Pflanzliche Drogen, Zubereitungen aus	5.0
Pflanzliche Drogen zur Teebereitung	5.0
Pflanzliche fette Öle	5.0
Produkte mit dem Risiko der Übertragung von Erregern der spongiformen Enzephalopathie tierischen Ursprungs	5.0
Radioaktive Arzneimittel	5.0
Substanzen zur pharmazeutischen Verwendung	5.0
Monographien zu Darreichungsformen	
Glossar	5.0
Arzneimittel-Vormischungen zur veterinärmedizinischen Anwendung	5.0
Flüssige Zubereitungen zum Einnehmen	5.0
Flüssige Zubereitungen zur kutanen Anwendung	5.0
Flüssige Zubereitungen zur kutanen Anwendung am Tier	5.0
Granulate	5.0
Halbfeste Zubereitungen zur kutanen Anwendung	5.0
Kapseln	5.0
Kaugummis, Wirkstoffhaltige	5.0
Parenteralia	5.0
Pulver zum Einnehmen	5.0
Pulver zur kutanen Anwendung	5.0
Schäume, Wirkstoffhaltige	5.0
Stifte und Stäbchen	5.0
Tabletten	5.0
Tampons, Wirkstoffhaltige	5.0
Transdermale Pflaster	5.0
Zubereitungen für Wiederkäuer	5.0
Zubereitungen in Druckbehältnissen	5.0
Zubereitungen zum Spülen	5.0
Zubereitungen zur Anwendung am Auge	5.0
Zubereitungen zur Anwendung am Ohr	5.0
Zubereitungen zur Anwendung in der Mundhöhle	5.0
Zubereitungen zur Inhalation	5.0
Zubereitungen zur intramammären Anwendung für Tiere	5.0
Zubereitungen zur nasalen Anwendung	5.0
Zubereitungen zur rektalen Anwendung	5.0
Zubereitungen zur vaginalen Anwendung	5.0
Einzelmonographien zu Impfstoffen für Menschen	
BCG-Impfstoff (gefriergetrocknet)	5.0
BCG zur Immuntherapie	5.0
Cholera-Impfstoff	5.0
Cholera-Impfstoff (gefriergetrocknet)	5.0
Diphtherie-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Adsorbat-Impfstoff für Erwachsene und Heranwachsende	5.0
Diphtherie-Tetanus-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Tetanus-Adsorbat-Impfstoff für Erwachsene und Heranwachsende	5.0
Diphtherie-Tetanus-Hepatitis-B(rDNA)-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Tetanus-Pertussis-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Tetanus-Pertussis(azellulär, aus Komponenten)-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Tetanus-Pertussis(azellulär, aus Komponenten)-Haemophilus-Typ-B-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Tetanus-Pertussis(azellulär, aus Komponenten)-Hepatitis-B(rDNA)-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Tetanus-Pertussis(azellulär, aus Komponenten)-Hepatitis-B(rDNA)-Poliomyelitis(inaktiviert)-Haemophilus-Typ-B(konjugiert)-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Tetanus-Pertussis(azellulär, aus Komponenten)-Poliomyelitis(inaktiviert)-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Tetanus-Pertussis(azellulär, aus Komponenten)-Poliomyelitis(inaktiviert)-Haemophilus-Typ-B(konjugiert)-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Tetanus-Pertussis-Poliomyelitis(inaktiviert)-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Diphtherie-Tetanus-Pertussis-Poliomyelitis(inaktiviert)-Haemophilus-Typ-B(konjugiert)-Adsorbat-Impfstoff	5.0
FSME-Impfstoff (inaktiviert)	5.0
Gelbfieber-Lebend-Impfstoff	5.0
Haemophilus-Typ-B-Impfstoff (konjugiert)	5.0

Beachten Sie den Hinweis auf „Allgemeine Monographien“ zu Anfang des Bands auf Seite B

	Stand
Hepatitis-A-Adsorbat-Impfstoff (inaktiviert)	5.0
Hepatitis-A-Impfstoff (inaktiviert, Virosom)	5.0
Hepatitis-A(inaktiviert)-Hepatitis-B(rDNA)-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Hepatitis-B-Impfstoff (rDNA)	5.0
Influenza-Impfstoff (inaktiviert)	5.0
Influenza-Spaltimpfstoff (inaktiviert)	5.0
Influenza-Spaltimpfstoff aus Oberflächenantigen (inaktiviert)	5.0
Influenza-Spaltimpfstoff aus Oberflächenantigen (inaktiviert, Virosom)	5.0
Masern-Lebend-Impfstoff	5.0
Masern-Mumps-Röteln-Lebend-Impfstoff	5.0
Meningokokken-Gruppe-C-Impfstoff (konjugiert)	5.0
Meningokokken-Polysaccharid-Impfstoff	5.0
Mumps-Lebend-Impfstoff	5.0
Pertussis-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Pertussis-Adsorbat-Impfstoff (azellulär, aus Komponenten)	5.0
Pertussis-Adsorbat-Impfstoff (azellulär, co-gereinigt)	5.0
Pertussis-Impfstoff	5.0
Pneumokokken-Polysaccharid-Impfstoff	5.0
Poliomyelitis-Impfstoff (inaktiviert)	5.0
Poliomyelitis-Impfstoff (oral)	5.0
Röteln-Lebend-Impfstoff	5.0
Tetanus-Adsorbat-Impfstoff	5.0
Tollwut-Impfstoff aus Zellkulturen für Menschen	5.0
Typhus-Impfstoff	5.0
Typhus-Impfstoff (gefriergetrocknet)	5.0
Typhus-Lebend-Impfstoff, oral (Stamm Ty 21a)	5.0
Typhus-Polysaccharid-Impfstoff	5.0
Varizellen-Lebend-Impfstoff	5.0
Einzelmonographien zu Impfstoffen für Tiere	
Adenovirose-Impfstoff (inaktiviert) für Hunde	5.0
Adenovirose-Lebend-Impfstoff für Hunde	5.0
Aktinobazilliose-Impfstoff (inaktiviert) für Schweine	5.0
Anämie-Lebend-Impfstoff für Hühner, Infektiöse-	5.0
Aujesky'sche-Krankheit-Impfstoff (inaktiviert) für Schweine	5.0
Aujesky'sche-Krankheit-Lebend-Impfstoff zur parenteralen Anwendung (gefriergetrocknet) für Schweine	5.0
Aviäre-Encephalomyelitis-Lebend-Impfstoff, Infektiöse-	5.0
Aviäre-Laryngotracheitis-Lebend-Impfstoff, Infektiöse-	5.0
Aviäres-Paramyxovirus-3-Impfstoff (inaktiviert)	5.0
Botulismus-Impfstoff für Tiere	5.0
Bovine-Rhinotracheitis-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) für Rinder, Infektiöse-	5.0
Bronchitis-Impfstoff (inaktiviert) für Geflügel, Infektiöse-	5.0
Bronchitis-Lebend-Impfstoff für Geflügel, Infektiöse-	5.0
Brucellose-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) für Tiere	5.0
Bursitis-Impfstoff (inaktiviert) für Geflügel, Infektiöse-	5.0
Bursitis-Lebend-Impfstoff für Geflügel, Infektiöse-	5.0
Calicivirose-Impfstoff (inaktiviert) für Katzen	5.0
Calicivirose-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) für Katzen	5.0
<i>Clostridium-chauvoei</i> -Impfstoff für Tiere	5.0
<i>Clostridium-novyi</i> -(Typ B)-Impfstoff für Tiere	5.0
<i>Clostridium-perfringens</i> -Impfstoff für Tiere	5.0
<i>Clostridium-septicum</i> -Impfstoff für Tiere	5.0
Colibacillosis-Impfstoff (inaktiviert) für neugeborene Ferkel	5.0
Colibacillosis-Impfstoff (inaktiviert) für neugeborene Wiederkäuer	5.0
Coronavirusdiarrhö-Impfstoff (inaktiviert) für Kälber	5.0
Egg-Drop-Syndrom-Impfstoff (inaktiviert)	5.0
Furunkulose-Impfstoff (inaktiviert, injizierbar, mit öligem Adjuvans) für Salmoniden	5.0
Geflügelpocken-Lebend-Impfstoff	5.0
Hepatitis-Typ-I-Lebend-Impfstoff für Enten	5.0
Herpes-Impfstoff (inaktiviert) für Pferde	5.0
Influenza-Impfstoff (inaktiviert) für Pferde	5.0
Influenza-Impfstoff (inaktiviert) für Schweine	5.0
Leptospirose-Impfstoff (inaktiviert) für Hunde	5.0

Die „Allgemeinen Vorschriften“ gelten für alle Monographien und sonstigen Texte

Ph. Eur. 5. Ausgabe, Grundwerk 2005

	Stand
Leptospirose-Impfstoff (inaktiviert) für Rinder	5.0
Leukose-Impfstoff (inaktiviert) für Katzen	5.0
Mannheimia-Impfstoff (inaktiviert) für Rinder	5.0
Mannheimia-Impfstoff (inaktiviert) für Schafe	5.0
Marek'sche-Krankheit-Lebend-Impfstoff	5.0
Maul-und-Klauenseuche-Impfstoff (inaktiviert) für Wiederkäuer	5.0
Milzbrandsporen-Lebend-Impfstoff für Tiere	5.0
Myxomatose-Lebend-Impfstoff für Kaninchen	5.0
Newcastle-Krankheit-Impfstoff (inaktiviert)	5.0
Newcastle-Krankheit-Lebend-Impfstoff	5.0
Panleukopenie-Impfstoff (inaktiviert) für Katzen	5.0
Panleukopenie-Lebend-Impfstoff für Katzen	5.0
Parainfluenza-Virus-Lebend-Impfstoff für Hunde	5.0
Parainfluenza-Virus-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) für Rinder	5.0
Parvovirose-Impfstoff (inaktiviert) für Hunde	5.0
Parvovirose-Impfstoff (inaktiviert) für Schweine	5.0
Parvovirose-Lebend-Impfstoff für Hunde	5.0
Pasteurella-Impfstoff (inaktiviert) für Schafe	5.0
Respiratorisches-Syncytial-Virus-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) für Rinder	5.0
Rhinitis-atrophicans-Impfstoff (inaktiviert) für Schweine, Progressive-	5.0
Rhinotracheitis-Virus-Impfstoff (inaktiviert) für Katzen	5.0
Rhinotracheitis-Virus-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) für Katzen	5.0
Rotavirusdiarrhö-Impfstoff (inaktiviert) für Kälber	5.0
Schweinepest-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet), Klassische-	5.0
Schweinerotlauf-Impfstoff (inaktiviert)	5.0
Staupe-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) für Frettchen und Nerze	5.0
Staupe-Lebend-Impfstoff (gefriergetrocknet) für Hunde	5.0
Tenosynovitis-Virus-Lebend-Impfstoff für Geflügel	5.0
Tetanus-Impfstoff für Tiere	5.0
Tollwut-Impfstoff (inaktiviert) für Tiere	5.0
Tollwut-Lebend-Impfstoff (oral) für Füchse	5.0
Vibriose-Impfstoff (inaktiviert) für Salmoniden	5.0
Vibriose-Impfstoff (inaktiviert) für Salmoniden, Kaltwasser-	5.0
Virusdiarrhö-Impfstoff (inaktiviert) für Rinder	5.0
Einzelmonographien zu Immunsera für Menschen	
Botulismus-Antitoxin	5.0
Diphtherie-Antitoxin	5.0
Gasbrand-Antitoxin (<i>Clostridium novyi</i>)	5.0
Gasbrand-Antitoxin (<i>Clostridium perfringens</i>)	5.0
Gasbrand-Antitoxin (<i>Clostridium septicum</i>)	5.0
Gasbrand-Antitoxin (polyvalent)	5.0
Schlangengift-Immunserum (Europa)	5.0
Tetanus-Antitoxin	5.0
Einzelmonographien zu Immunsera für Tiere	
<i>Clostridium-novyi</i> -Alpha-Antitoxin für Tiere	5.0
<i>Clostridium-perfringens</i> -Beta-Antitoxin für Tiere	5.0
<i>Clostridium-perfringens</i> -Epsilon-Antitoxin für Tiere	5.0
Tetanus-Antitoxin für Tiere	5.0
Einzelmonographien zu Radioaktiven Arzneimitteln	
[¹²⁵ I]Albumin-Injektionslösung vom Menschen	5.0
[¹³ N]Ammoniak-Injektionslösung	5.0
[⁵¹ Cr]Chromedetat-Injektionslösung	5.0
[⁵⁷ Co]Cyanocobalamin-Kapseln	5.0
[⁵⁷ Co]Cyanocobalamin-Lösung	5.0
[⁵⁸ Co]Cyanocobalamin-Kapseln	5.0
[⁵⁸ Co]Cyanocobalamin-Lösung	5.0
[¹⁸ F]Fludesoxyglucose-Injektionslösung	5.0
[⁶⁷ Ga]Galliumcitrat-Injektionslösung	5.0
[¹¹¹ In]Indium(III)-chlorid-Lösung	5.0
[¹¹¹ In]Indiumoxinat-Lösung	5.0
[¹¹¹ In]Indium-Pentetat-Injektionslösung	5.0

Beachten Sie den Hinweis auf „Allgemeine Monographien“ zu Anfang des Bands auf Seite B

	Stand
[¹²³ I]Iobenguan-Injektionslösung	5.0
[¹³¹ I]Iobenguan-Injektionslösung für diagnostische Zwecke	5.0
[¹³¹ I]Iobenguan-Injektionslösung für therapeutische Zwecke	5.0
[¹³¹ I]Iodmethylnorcholesterol-Injektionslösung	5.0
[¹⁵ O]Kohlenmonoxid	5.0
[^{81m} Kr]Krypton zur Inhalation	5.0
(5-Methyl[¹¹ C])Flumazenil-Injektionslösung	5.0
L-([¹¹ C]Methyl)Methionin-Injektionslösung	5.0
Natrium[1- ¹¹ C]acetat-Injektionslösung	5.0
Natrium[⁵¹ Cr]chromat-Lösung, Sterile	5.0
Natrium[¹⁸ F]fluorid-Injektionslösung	5.0
Natrium[¹²³ I]iodhippurat-Injektionslösung	5.0
Natrium[¹³¹ I]iodhippurat-Injektionslösung	5.0
Natrium[¹²³ I]iodid-Injektionslösung	5.0
Natrium[¹³¹ I]iodid-Kapseln für diagnostische Zwecke	5.0
Natrium[¹³¹ I]iodid-Lösung	5.0
Natrium[¹³¹ I]iodid-Lösung zur Radiomarkierung	5.0
Natrium[^{99m} Tc]pertechnetat-Injektionslösung aus Kernspaltprodukten	5.0
Natrium[^{99m} Tc]pertechnetat-Injektionslösung nicht aus Kernspaltprodukten	5.0
Natrium[³² P]phosphat-Injektionslösung	5.0
Racloprid([¹¹ C]methoxy)-Injektionslösung	5.0
[¹⁵ O]Sauerstoff	5.0
[⁸⁹ Sr]Strontiumchlorid-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Albumin-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Etifenin-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Exametazim-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Gluconat-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Macrosalb-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Medronat-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Mertiatid-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Mikrosphären-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Pentetat-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Rheniumsulfid-Kolloid-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Schwefel-Kolloid-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Sestamibi-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Succimer-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Zinnndiphosphat-Injektionslösung	5.0
[^{99m} Tc]Technetium-Zinn-Kolloid-Injektionslösung	5.0
[²⁰¹ Tl]Thalliumchlorid-Injektionslösung	5.0
[¹⁵ O]Wasser-Injektionslösung	5.0
[³ H]Wasser-Injektionslösung, Tritiiertes	5.0
[¹³³ Xe]Xenon-Injektionslösung	5.0
Einzelmonographien zu Nahtmaterial für Menschen	
Einleitung	5.0
Catgut, Steriles	5.0
Fäden, Sterile, nicht resorbierbare	5.0
Fäden, Sterile, resorbierbare, synthetische	5.0
Fäden, Sterile, resorbierbare, synthetische, geflochtene	5.0
Einzelmonographien zu Nahtmaterial für Tiere	
Catgut im Fadenspender für Tiere, Steriles, resorbierbares	5.0
Fäden im Fadenspender für Tiere, Sterile, nicht resorbierbare	5.0
Leinenfaden im Fadenspender für Tiere, Steriler	5.0
Polyamid-6-Faden im Fadenspender für Tiere, Steriler	5.0
Polyamid-6/6-Faden im Fadenspender für Tiere, Steriler	5.0
Polyesterfaden im Fadenspender für Tiere, Steriler	5.0
Seidenfaden im Fadenspender für Tiere, Steriler, geflochtener	5.0
Homöopathische Zubereitungen und Einzelmonographien zu Stoffen für homöopathische Zubereitungen	
Einleitung	5.0
Homöopathische Zubereitungen	5.0
Pflanzliche Drogen für homöopathische Zubereitungen	5.0

Die „Allgemeinen Vorschriften“ gelten für alle Monographien und sonstigen Texte

Ph. Eur. 5. Ausgabe, Grundwerk 2005

	Stand
Urtinkturen für homöopathische Zubereitungen	5.0
Arsen(III)-oxid für homöopathische Zubereitungen	5.0
Brennnessel für homöopathische Zubereitungen	5.0
Crocus für homöopathische Zubereitungen	5.0
Eisen für homöopathische Zubereitungen	5.0
Honigbiene für homöopathische Zubereitungen	5.0
Johanniskraut für homöopathische Zubereitungen	5.0
Knoblauch für homöopathische Zubereitungen	5.0
Kupfer für homöopathische Zubereitungen	5.0

Monographien A–Z

A	Stand		Stand
Acamprosate-Calcium	5.0	Aluminiumsulfat	5.0
Acebutololhydrochlorid	5.0	Amantadinhydrochlorid	5.0
Aceclofenac	5.0	Ambroxolhydrochlorid	5.0
Acesulfam-Kalium	5.0	Amfetaminsulfat	5.0
Acetazolamid	5.0	Amidotrizoesäure-Dihydrat	5.0
Aceton	5.0	Amikacin	5.0
Acetylcholinchlorid	5.0	Amikacinsulfat	5.0
Acetylcystein	5.0	Amiloridhydrochlorid	5.0
Acetylsalicylsäure	5.0	4-Aminobenzoessäure	5.0
N-Acetyltryptophan	5.0	Aminocapronsäure	5.0
N-Acetyltyrosin	5.0	Aminoglutethimid	5.0
Aciclovir	5.0	Amiodaronhydrochlorid	5.0
Acitretin	5.0	Amisulprid	5.0
Acriflaviniummonochlorid	5.0	Amitriptylinhydrochlorid	5.0
Adenin	5.0	Amlodipinbesilat	5.0
Adenosin	5.0	Ammoniak-Lösung, Konzentrierte	5.0
Adipinsäure	5.0	Ammoniumbituminosulfonat	5.0
Äpfelsäure	5.0	Ammoniumbromid	5.0
Agar	5.0	Ammoniumchlorid	5.0
Alanin	5.0	Ammoniumglycyrrhizat	5.0
Albendazol	5.0	Ammoniumhydrogencarbonat	5.0
Albuminlösung vom Menschen	5.0	Ammoniummethacrylat-Copolymer (Typ A)	5.0
Alcuroniumchlorid	5.0	Ammoniummethacrylat-Copolymer (Typ B)	5.0
Alfacalcidol	5.0	Amobarbital	5.0
Alfadex	5.0	Amobarbital-Natrium	5.0
Alfentanilhydrochlorid	5.0	Amoxicillin-Natrium	5.0
Alfuzosinhydrochlorid	5.0	Amoxicillin-Trihydrat	5.0
Alginsäure	5.0	Amphotericin B	5.0
Allantoin	5.0	Ampicillin-Natrium	5.0
Allopurinol	5.0	Ampicillin, Wasserfreies	5.0
Almagat	5.0	Ampicillin-Trihydrat	5.0
Aloe, Curaçao-	5.0	Angelikawurzel	5.0
Aloe, Kap-	5.0	Anis	5.0
Aloetrockenextrakt, Eingestellter	5.0	Anisöl	5.0
Alprazolam	5.0	Antazolinhydrochlorid	5.0
Alprenololhydrochlorid	5.0	Anti-D-Immunglobulin vom Menschen	5.0
Alprostadil	5.0	Anti-D-Immunglobulin vom Menschen	
Alteplase zur Injektion	5.0	zur intravenösen Anwendung	5.0
Altuberkulin zur Anwendung am Menschen	5.0	Antithrombin-III-Konzentrat vom Menschen	5.0
Aluminiumchlorid-Hexahydrat	5.0	Anti-T-Lymphozyten-Immunglobulin vom Tier	
Aluminiumhydroxid zur Adsorption,		zur Anwendung am Menschen	5.0
Wasserhaltiges	5.0	Apomorphinhydrochlorid	5.0
Aluminiumkaliumsulfat	5.0	Aprotinin	5.0
Aluminium-Magnesium-Silicat	5.0	Aprotinin-Lösung, Konzentrierte	5.0
Aluminiumoxid, Wasserhaltiges /Algeldrat	5.0	Arginin	5.0
Aluminiumphosphat, Wasserhaltiges	5.0	Argininaspartat	5.0

Beachten Sie den Hinweis auf „Allgemeine Monographien“ zu Anfang des Bands auf Seite B

Ph. Eur. 5. Ausgabe, Grundwerk 2005

84

5.0/2.02.40.00

2.2.40 NIR-Spektroskopie

Allg. Methoden

- Anzahl der Sektionen, in die das Chromatogramm unterteilt wurde
- Höhe der Chromatogrammlinie oberhalb der Basislinie in Sektion *i*
- Molekülmasse, die der Sektion *i* entspricht

Prüfung darf nur ausgewertet werden, wenn *M_w* der hochmolekularen Fraktion des Dextrans 100 000 bis 130 000 (Dextran 40 zur Eignungsprüfung CRS) 100 000 bis 230 000 (Dextran 60/70 zur Eignungsprüfung CRS) beträgt.

Mittlere Molekülmasse der 10-Prozent-niedermolekularen Fraktion: Die mittlere Molekülmasse *M_w* der 10-Prozent-niedermolekularen Fraktion, die in den Sektionen *m* bis *p* eluiert wird, wird nach folgender Gleichung errechnet:

$$M_w = \frac{\sum_{i=m}^p (y_i M_i)}{\sum_{i=m}^p y_i}$$
 (7)

Sei *m* durch die folgenden Nebenbedingungen definiert wird

$$\sum_{i=m}^p y_i \leq 0,1 \left(\sum_{i=1}^p y_i \right)$$
 (8)

$$\sum_{i=m-1}^p y_i > 0,1 \left(\sum_{i=1}^p y_i \right)$$
 (9)

- Anzahl der Sektionen, in die das Chromatogramm unterteilt wurde
- Höhe der Chromatogrammlinie oberhalb der Basislinie in Sektion *i*
- Molekülmasse, die der Sektion *i* entspricht

Prüfung darf nur ausgewertet werden, wenn *M_w* der niedermolekularen Fraktion des Dextrans 4000 bis 8500 (Dextran 40 zur Eignungsprüfung CRS) 7000 bis 11 000 (Dextran 60/70 zur Eignungsprüfung CRS) beträgt.

Molekülmassenverteilung des Dextrans

Das vorher festgelegte Volumen der Untersuchungslösung wird eingespritzt. *M_w* der gesamten Molekülmassenverteilung, *M_w* der 10-Prozent-hochmolekularen Fraktion des Dextrans und *M_w* der 10-Prozent-niedermolekularen Fraktion des Dextrans werden, wie unter „Eignungsprüfung“ angegeben, errechnet.

Die Spektroskopie im nahen Infrarotbereich (NIR-Spektroskopie) ist eine Technik mit weiter und vielfältiger Anwendung in der pharmazeutischen Analytik. Ihr Spektralbereich erstreckt sich von etwa 780 nm bis etwa 2500 nm (etwa 12 800 bis etwa 4000 cm⁻¹). In einigen Fällen finden sich die nützlichsten Informationen im Spektralbereich von etwa 1700 bis etwa 2500 nm (etwa 6000 bis 4000 cm⁻¹). NIR-Spektren werden von C-H-, N-H-, O-H- und S-H-Oberschwingungen und Kombinationen von Grundschrwingungen beherrscht; sie haben hohen Informationswert, wenn die Informationen mit Hilfe geeigneter chemometrischer Algorithmen ausgewertet werden. NIR-Banden sind viel schwächer als die MIR-Grundschrwingungen (mid-IR), von denen sie abgeleitet sind. Da die molaren Absorptionen im NIR-Bereich niedrig sind, dringt die Strahlung typischerweise einige Millimeter in Materialien, einschließlich Festsubstanzen, ein. Außerdem sind viele Materialien, wie Glas, in diesem Bereich verhältnismäßig durchlässig.

In Ergänzung zu den üblichen Probenahme- und Prüfverfahren können Messungen direkt an In-situ-Proben vorgenommen werden. NIR-Spektren liefern qualitative und quantitative Informationen zu physikalischen und chemischen Eigenschaften. Der direkte Vergleich des von einer Substanz aufgenommenen Spektrums mit dem einer chemischen Referenzsubstanz wie in der IR-Spektroskopie ist jedoch nicht möglich. Geeignete validierte mathematische Transformationen der Daten sind erforderlich.

Die NIR-Spektroskopie hat einen weiten und vielfältigen Anwendungsbereich, sowohl in der chemischen als auch physikalischen Analytik, zum Beispiel:

Chemische Analytik

- Identifizierung von Wirkstoffen, Hilfsstoffen, Darreichungsformen, Zwischenprodukten der Herstellung, chemischen Ausgangsstoffen und Verpackungsmaterialien
- Quantifizierung von Wirkstoffen und Hilfsstoffen, Bestimmung chemischer Kennzahlen wie Hydroxylzahl, Iodzahl, Säurezahl, Bestimmung des Wassergehalts, Bestimmung des Hydroxylierungsgrads, Überprüfung des Lösungsmittelgehalts
- Prozesskontrolle

Physikalische Analytik

- Kristallform und Kristallinität, Polymorphie, Pseudopolymorphie, Teilchengröße
- Wirkstofffreisetzung, Zerfallsmuster, Härte
- Untersuchung von Film-Eigenschaften
- Prozesskontrolle, zum Beispiel Überwachung von Misch- und Granuliertvorgängen

Messungen im NIR-Bereich werden durch viele chemische und physikalische Faktoren beeinflusst, wie nachfolgend beschrieben; Reproduzierbarkeit und Relevanz der Ergebnisse hängen von der Kontrolle dieser Faktoren

Die „Allgemeinen Vorschriften“ gelten für alle Monographien und sonstigen Texte

Ph. Eur. 5. Ausgabe, Grundwerk 2005

ab und Messungen sind üblicherweise nur für ein definiertes Kalibrierungsmodell gültig.

Apparatur

NIR-Spektrometer werden für die Aufnahme von Spektren im Bereich von etwa 780 nm bis etwa 2500 nm (etwa 12 800 cm⁻¹ bis etwa 4000 cm⁻¹) verwendet. Alle NIR-Messungen basieren darauf, dass Licht durch oder in eine Probe tritt und die Abschwächung des austretenden Strahls (transmittiert, gestreut oder reflektiert) gemessen wird. Spektrometer für Messungen im NIR-Bereich bestehen aus einer geeigneten Lichtquelle, einem Monochromator oder Interferometer. Übliche Monochromatoren sind akusto-optische Filter (acousto-optical tuneable filter, AOTF), Gitter oder Prismen. Als Lichtquellen mit hoher Intensität werden Quarz- oder Wolframlampen oder ähnliche verwendet. Die Wolframlampe als Lichtquelle kann gut stabilisiert werden. Viele NIR-Geräte haben eine Einstrahlausführung. Silicium, Bleisulfid, Indiumarsenid, Indium-Gallium-Arsenid, Quecksilber-Cadmium-Tellurid (MCT) und deuteriertes Triglycinsulfat sind als Detektormaterialien üblich. Konventionelle Küvettenhalter, faseroptische Sonden, Transmissionstauchsonden und rotierende oder traversierende Küvettenhalter sind einige der üblichen Vorrichtungen zum Einbringen der Proben. Die Auswahl richtet sich nach der beabsichtigten Anwendung, wobei der Eignung der Proben-Untersuchungsvorrichtung für die Art der zu untersuchenden Probe besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden muss. Üblicherweise sind geeignete Datenverarbeitung- und Auswertungseinheiten Teil des Geräts.

Messmethoden

Messung der Transmission: Die Transmission (T) ist ein Maß für die Abnahme der Strahlungsintensität eines Strahls der, bei einer gegebenen Wellenlänge, durch eine Probe tritt. Die Probe wird in den optischen Strahl zwischen Strahlungsquelle und Detektor gebracht. Die Anordnung entspricht der vieler konventioneller Spektrometer und das Ergebnis kann direkt als Transmission (T) und/oder als Absorption (A) ausgedrückt werden.

$$T = \frac{I}{I_0}$$

I_0 = Intensität der eintretenden Strahlung

I = Intensität der austretenden Strahlung

$$A = -\log T = \log\left(\frac{1}{T}\right) = \log\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

Messung der diffusen Reflexion: Die Messung der diffusen Reflexion liefert ein Maß für die Reflexion (R), die das Verhältnis der Intensität des von der Probe reflektierten Lichts (I) zu der des vom reflektierenden Hintergrund oder der Referenzoberfläche reflektierten Lichts (I_r) darstellt. NIR-Strahlung kann in eine beträchtliche Tiefe der Probe eindringen, wo sie durch Kombinations- und Oberschwingungen von zu analysierenden Substanzen in der

Probe absorbiert werden kann. Nicht absorbierte Strahlung wird von der Probe zum Detektor reflektiert. NIR-Reflexionsspektren werden üblicherweise durch Berechnen und graphische Darstellung des $\log(1/R)$ als Funktion der Wellenlänge oder der Wellenzahlen erhalten.

$$R = \frac{I}{I_r}$$

I = Intensität des von der Probe diffus reflektierten Lichts

I_r = Intensität des vom reflektierenden Hintergrund oder von der Referenzoberfläche reflektierten Lichts

$$A_R = \log\left(\frac{1}{R}\right) = \log\left(\frac{I_r}{I}\right)$$

Messung der Transflexion: Die Messung der Transflexion stellt eine Kombination aus Transmission und Reflexion dar. Bei der Messung der Transflexion (T^*) wird ein Spiegel oder eine diffus reflektierende Oberfläche verwendet, um die durch die Probe gehende Strahlung ein zweites Mal zu reflektieren und dadurch die Schichtdicke zu verdoppeln. Nicht absorbierte Strahlen werden von der Probe zum Detektor reflektiert.

$$T^* = \frac{I}{I_T}$$

I_T = Intensität der transflektierten Strahlung (ohne Probe gemessen)

I = Intensität der transmittierten und reflektierten Strahlung (mit der Probe gemessen)

$$A^* = \log\left(\frac{1}{T^*}\right)$$

Probenvorbereitung und Probenpräsentation

Messung der Transmission: Für die Berechnung der Transmission (T) ist die Kenntnis des Transmissionspektrums des Hintergrunds erforderlich. Als Hintergrundreferenz kann Luft, eine leere Zelle, eine Lösungsmittel-Blindprobe oder in speziellen Fällen eine Referenzprobe dienen. Die Methode wird im Allgemeinen für verdünnte oder unverdünnte Flüssigkeiten, Dispersionen, Lösungen und Festsubstanzen verwendet. Für Transmissionsmessungen fester Substanzen ist eine geeignete Probenhalterung erforderlich. Die Proben werden in einer für NIR-Strahlung durchlässigen Zelle geeigneter Schichtdicke (im Allgemeinen 0,5 bis 4 mm) oder durch Eintauchen einer geeignet konfigurierten faseroptischen Sonde untersucht, wodurch ein Spektrum erhalten wird, das in einem Transmissionsbereich liegt, der mit den Spezifikationen des Geräts kompatibel und für den beabsichtigten Zweck geeignet ist.

Messung der diffusen Reflexion: Diese Methode wird im Allgemeinen für feste Substanzen angewendet. Die Probe wird in einer geeigneten Probenhalterung untersucht, wobei darauf geachtet werden muss, dass die Messbedingungen von einer Probe zur anderen so repro-

Beachten Sie den Hinweis auf „Allgemeine Monographien“ zu Anfang des Bands auf Seite B

reproduzierbar wie möglich sind. Falls eine faseroptische Sonde in die Probe eingeführt wird, muss darauf geachtet werden, dass sie während der Aufnahme der Spektren ihre Lage nicht verändert und die Messbedingungen von einer Probe zur anderen so reproduzierbar wie möglich sind. Die reflektierte Strahlung einer Hintergrundreferenz wird bestimmt, um die Basislinie zu erhalten. Anschließend wird die Reflexion einer oder mehrerer Untersuchungsproben gemessen. Gebräuchliche Reflexionsreferenzmaterialien sind keramische Fliesen, perfluorierte Polymere und Gold; andere geeignete Materialien können verwendet werden. Nur Spektren, die gegen einen Hintergrund mit denselben optischen Eigenschaften gemessen wurden, können direkt miteinander verglichen werden. Die Teilchengröße, Hydratationswasser und Solationsgrad müssen berücksichtigt werden.

Messung der Transflexion: Ein Reflektor wird so hinter die Probe gebracht, dass die optische Schichtdicke verdoppelt wird. Diese Anordnung kann bei Messungen mit Reflexionssystemen und mit faseroptischen SONDENSYSTEMEN, bei denen sich Lichtquelle und Detektor auf derselben Seite der Probe befinden, eingesetzt werden, wobei dieselbe Gerätegeometrie erhalten bleibt. Die Probe wird in einer Zelle mit Spiegel oder geeignetem Diffusionsreflektor, der entweder aus Metall oder einer inerten Substanz (zum Beispiel Titandioxid) besteht, das oder die im NIR-Bereich nicht absorbieren, untersucht.

Faktoren mit Einfluss auf das spektrale Verhalten

Probentemperatur: Dieser Parameter ist für wässrige Lösungen und viele Flüssigkeiten wichtig. Ein Unterschied von wenigen Graden kann zu erheblichen Änderungen des Spektrums führen. Die Temperatur ist auch bei Festsubstanzen und Pulver, die Wasser enthalten, ein wichtiger Parameter.

Feuchtigkeit und Lösungsmittel-Rückstände: In Proben enthaltene Feuchtigkeit und Lösungsmittel-Rückstände führen im NIR-Bereich zu deutlichen Absorptionsbanden.

Schichtdicke der Probe: Die Schichtdicke der Probe ist eine bekannte Quelle für Spektren-Variabilität. Dieser Zusammenhang muss verstanden und/oder kontrolliert werden. Beispielsweise kann die Probe bei Reflexionsmessungen „unendlich“ dick sein, während dünnere Proben konstanter Dicke ein stabiles, diffus reflektierendes Hintergrundmaterial mit konstantem und vorzugsweise hohem Reflexionsvermögen benötigen.

Optische Eigenschaften der Probe: In Festsubstanzen müssen die Streueigenschaften sowohl der Probenoberfläche als auch des Probeninneren beachtet werden. Bei Spektren von physikalisch, chemisch oder optisch heterogenen Proben kann es erforderlich sein, einen Durchlässigkeitswert für die Probe zu erhalten, indem mehrere Proben untersucht werden oder der Messstrahl vergrößert wird. Eine rotierende Probe verwendet wird. Bestimmte Faktoren, wie Unterschiede im Verdichtungsgrad oder

der Teilchengröße pulverförmiger Materialien oder der Oberflächenbearbeitung, können signifikante Unterschiede bei Spektren verursachen.

Polymorphie: Variationen der Kristallstruktur (Polymorphie) haben Einfluss auf die Spektren. Daher können unterschiedliche Kristallformen sowie die amorphe Form eines Feststoffs auf Grund ihrer NIR-Spektren voneinander unterschieden werden. Beim Vorliegen multipler Kristallformen muss beachtet werden, dass die Kalibrierstandards eine Verteilung von Formen aufweisen, die für die vorgesehene Anwendung relevant ist.

Alter der Proben: Mit der Zeit können sich die chemischen, physikalischen oder optischen Eigenschaften von Proben verändern. Daher muss beachtet werden, dass die NIR-spektroskopisch untersuchten Proben und die Proben, mit denen die Kalibrierung durchgeführt worden ist, einander entsprechen. Wenn Proben unterschiedlichen Alters untersucht werden, müssen eventuelle Unterschiede in ihren Eigenschaften in Betracht gezogen werden.

Überprüfung der Funktionsfähigkeit des Geräts

Das Gerät wird entsprechend den Vorschriften des Herstellers angewendet und die vorgeschriebenen Überprüfungen werden in regelmäßigen Abständen, die von der Häufigkeit der Anwendung des Geräts und den zu prüfenden Substanzen abhängen, durchgeführt.

Überprüfung der Wellenlängenskala (ausgenommen für Geräte mit Filtern): Die verwendete Wellenlängenskala wird im Allgemeinen im Bereich zwischen etwa 780 und etwa 2500 nm (etwa 12 800 bis etwa 4000 cm^{-1}) oder im vorgesehenen Spektralbereich mit Hilfe einer oder mehrerer geeigneter Wellenlängen-Referenzsubstanz(en), die charakteristische Maxima oder Minima innerhalb des gewählten Wellenlängenbereichs aufweisen, überprüft. Beispiele geeigneter Referenzmaterialien sind Dichlormethan oder eine Mischung von Oxiden von Seltenerdmetallen. Ein Spektrum mit der gleichen Auflösung, die zum Erhalt der zertifizierten Werte erhalten wurde, wird verwendet und die Positionen von mindestens 3 über den verwendeten Bereich verteilten Peaks werden gemessen. Annehmbare Toleranzen sind ± 1 nm bei 1200 nm, ± 1 nm bei 1600 nm und $\pm 1,5$ nm bei 2000 nm ($\pm 8 \text{ cm}^{-1}$ bei 8300 cm^{-1} , $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$ bei 6250 cm^{-1} und $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$ bei 5000 cm^{-1}). Für das eingesetzte Referenzmaterial wird für jeden verwendeten Peak die Toleranz der zuvor genannten am nächsten gelegenen Wellenlänge (Wellenzahl) angewandt. Für FT-Geräte kann die Kalibrierung der Wellenzahlskala mit Hilfe einer schmalen, bei 7299,86 cm^{-1} gelegenen Wasserdampf-Bande oder einer schmalen Bande eines zertifizierten Materials vorgenommen werden. Für Oxide von Seltenerdmetallen ist NIST 1920 (a) das geeignetste Referenzmaterial.

Messung der Transmission: Dichlormethan R kann bei einer optischen Schichtdicke von 1,0 mm verwendet werden. Dichlormethan hat charakteristische scharfe Banden bei 1155, 1366, 1417, 1690, 1838, 1894, 2068

und 2245 nm. Die Banden bei 1155, 1417, 1690 und 2245 nm werden für die Kalibrierung verwendet. Andere geeignete Standards können verwendet werden.

Messung der diffusen Reflexion: Eine Mischung von Dysprosium-, Holmium- und Erbiumoxiden (1+1+1 Masseanteile) oder andere zertifizierte Materialien können verwendet werden. Diese Referenzmaterialien weisen charakteristische Peaks bei 1261, 1681 und 1935 nm auf. Wenn es nicht möglich ist, externe, feste Kalibriersubstanzen zu verwenden, und wenn die Messungen der diffusen Reflexion in Zellen vorgenommen oder wenn faseroptische Sonden verwendet werden, wird eine kräftig geschüttelte Suspension von 1,2 g Titandioxid *R* in etwa 4 ml Dichlormethan *R* direkt in der Zelle oder Sonde verwendet. Das Spektrum wird nach 2 min aufgezeichnet. Titandioxid absorbiert nicht im NIR-Bereich. Die Spektren werden mit einer maximalen nominalen spektralen Auflösung von 10 nm bei 2500 nm (16 cm^{-1} bei 4000 cm^{-1}) aufgezeichnet. Die Positionen von mindestens 3 über den ausgewählten Bereich verteilten Peaks werden ermittelt. Die annehmbaren Toleranzen sind unter „Überprüfung der Wellenlängenskala“ aufgeführt. Für die eingesetzten Referenzmaterialien wird für jeden verwendeten Peak die Toleranz der am nächsten gelegenen Wellenlänge (Wellenzahl) angewandt.

Überprüfung der Wiederholpräzision der Wellenlänge (ausgenommen für Geräte mit Filtern): Die Wiederholpräzision der Wellenlänge wird mit Hilfe geeigneter Kalibriersubstanzen überprüft. Die Standardabweichung der Wellenlänge muss mit den Spezifikationen des Geräteherstellers übereinstimmen.

Überprüfung der photometrischen Linearität und Systemstabilität: Die photometrische Linearität wird mit einem Satz Substanzen zur Kalibrierung von Transmission oder Reflexion, deren prozentuale Werte der Transmission oder Reflexion bekannt sind, nachgewiesen. Für Reflexionsmessungen sind mit Kohlenstoff dotierte Polymer-Kalibriersubstanzen erhältlich. Mindestens 4 Kalibriersubstanzen werden im Bereich von 10 bis 90 Prozent, wie etwa bei 10, 20, 40 und 80 Prozent, mit den jeweiligen Absorptionswerten von 1,0, 0,7, 0,4 und 0,1 verwendet. Wenn das System zum Untersuchen von Substanzen mit Absorptionswerten über 1,0 verwendet wird, wird der Satz um eine 2-prozentige und/oder 5-prozentige Kalibriersubstanz ergänzt. Die gemessenen Absorptionswerte werden graphisch gegen die Absorptionswerte der Kalibriersubstanz aufgetragen und eine lineare Regression berechnet. Annehmbare Toleranzen sind $1,00 \pm 0,05$ für die Steigung und $0,00 \pm 0,05$ für den Ordinatenabschnitt am Schnittpunkt.

Spektren von Material zur Kalibrierung von Reflexion können Variabilität zeigen. Diese beruht auf Unterschieden der experimentellen Bedingungen zwischen der Kalibrierung beim Hersteller und der Anwendung in der Praxis. Daher können die in Prozent angegebenen Reflexionswerte, die für einen Satz von Kalibriersubstanzen mitgeliefert werden, nicht verwendet werden, um eine „absolute“ Kalibrierung für ein gegebenes Gerät zu erstellen. Solange sich die Kalibriersubstanzen jedoch nicht chemisch oder physikalisch verändern und dieselbe Hintergrundreferenz wie bei der Erstellung der zertifizierten Werte verwendet wird, liefern Folgemessungen derselben Standards unter identischen Bedingungen, einschließlich präziser Probenpositionierung, Informationen über die Langzeitstabilität der photometrischen Antwort. Für die Langzeitstabilität ist eine Toleranz von ± 2 Prozent akzeptabel; diese Verifizierung ist nur erforderlich, wenn Spektren ohne Vorbehandlung verwendet werden.

Überprüfung des Spektrometerrauschens: Das Spektrometerrauschen wird mit Hilfe eines geeigneten Materials zur Kalibrierung von Reflexion bestimmt, zum Beispiel mit weißen, reflektierenden Keramikfliesen oder reflektierenden, thermoplastischen Harzen (zum Beispiel Polytetrafluorethylen). Das Kalibriermaterial wird über einen geeigneten Wellenlängen- beziehungsweise Wellenzahl-Bereich entsprechend der Empfehlung des Spektrometerherstellers gemessen und das Spektrometerrauschen als Peak-zu-Peak-Rauschen berechnet. Der Wert muss etwa dem Zweifachen der Standardabweichung entsprechen. Das Spektrometerrauschen muss mit den in der Spezifikation des Spektrometers angegebenen Werten übereinstimmen.

Identifizierung und Charakterisierung (qualitative Analyse)

Aufbau einer Referenzspektren-Bibliothek: Die Spektren einer ausreichend großen Anzahl an Chargen einer Substanz, die vollständig entsprechend festgelegter Spezifikationen geprüft wurden und die für die Substanz typische Variationen aufweisen (zum Beispiel Hersteller, physikalische Form, Teilchengröße), werden aufgezeichnet. Der Spektrensatz repräsentiert die Information zur Identifizierung und Charakterisierung, die die Grenzen der Vergleichbarkeit für diese Substanz definiert, und dient als Eintrag in die Spektrenbibliothek zur Identifizierung der Substanz. Die Anzahl der Substanzspektren in der Bibliothek hängt von der spezifischen Anwendung ab, zu umfangreiche Bibliotheken können jedoch Schwierigkeiten beim Unterscheiden verschiedener Materialien und bei der Validierung verursachen. Alle Spektren der Bibliothek sind identisch in Bezug auf:

- Spektralbereich und Anzahl an Datenpunkten
- Messtechnik
- Datenvorbehandlung.

Wenn innerhalb der Bibliotheken Untergruppen erstellt werden, werden die obigen Kriterien für jede Untergruppe unabhängig angewandt. Die Spektrensammlung der Bibliothek kann in Abhängigkeit von dem zur Identifizierung benutzten mathematischen Verfahren auf unterschiedliche Weise aufgebaut werden. Dies können zum Beispiel sein:

- alle einzelnen Spektren, die die Substanz charakterisieren
- ein gemitteltes Spektrum von jeder Substanzcharge oder
- falls erforderlich, eine Beschreibung der Variabilität innerhalb der Substanzspektren.

Die elektronischen Rohdaten für die Erstellung der Spektrenbibliothek müssen archiviert werden.

Beachten Sie den Hinweis auf „Allgemeine Monographien“ zu Anfang des Bands auf Seite B

Ph. Eur. 5. Ausgabe, Grundwerk 2005

1
1
C
7
s
f
o
o
n
S
ei
m
A
A

sic
es
ru
dei
die
dol

Da
der
ren
alle
ihre
ter
gen
sen
Al
unte
tena
binit
mod
(CO)
gleic
UNE
Softv
Softv
igke
gorith
Korre
quadr
in der
grenze

Valid
Spezifi
tivität
stuv id
kosten
Akzi
Akzept
te, könn
für der
zen löst
Ergebn



FARMACOPEA EUROPEA

5. Edición OBRA BASICA 2005

TOMO 1

PARTE GENERAL

GRUPOS DE MONOGRAFIAS

Edición oficial alemán

5.0/2.02.40.00

2.2.40 NIR-Espectroscopia

La espectroscopia en el área infrarrojo cercano (NIR-Espectroscopia) es una técnica con aplicación amplia y múltiple en la analítica farmacéutica. La zona espectral se extiende de mas o menos 780 nm hasta mas o menos 2500 nm (aprox. 12 800 hasta 4000 cm^{-1}). En algunos casos se encuentran las informaciones mas útiles en la zona espectral de mas o menos 1700 nm hasta mas o menos 2500 nm (aprox. 6000 hasta 4000 cm^{-1}). Espectros NIR son dominados de vibraciones superiores y combinaciones de vibraciones básicas C-H, N-H, O-H y S-H; tienen alto valor informativo, cuando las informaciones son valoradas con ayuda de algoritmos quimio métricos. Bandas MIR son mucho mas débiles que las vibraciones básicas MIR (mid-IR), de los cuales son derivados. Como las absorciones molares en la zona NIR son bajas, los rayos típicamente invadidos algunos milímetros a los materiales, incluyendo a sustancias duras. Además muchos materiales, como el vidrio, en esta zona son relativamente permeables.

Adicional a los comunes procedimientos de toma de muestras y de prueba pueden realizarse mediciones directamente en pruebas in situ. Espectros NIR ofrecen informaciones cualitativas y cuantitativas sobre características físicas y químicas. La comparación directa del espectro tomado de una sustancia con el de una sustancia de referencia química como en la espectroscopia IR no es posible. Son necesarias transformaciones matemáticas validadas apropiadas de los datos.

La espectroscopia NIR tiene un amplio y múltiple campo de aplicación, tanto en la analítica química como también en la física, por ejemplo.

Analítica química

- Identificación de sustancias activas, auxiliares, formas de dosificación, productos intermedios de la producción, sustancias iniciales químicas y materiales de empaque.
- Cuantificación de sustancias activas y auxiliares, determinación de índices químicas como numero de hidroxilo, numero de jodo, numero de acido, determinación del contenido de agua, determinación del grado de hidrolixacion, Supervisión del contenido de disolventes.
- Control de proceso

Analítica física

- Forma cristalina y cristalinidad, polimorfa, seudomorfa, tamaño de partículas
- liberación de sustancias activas, muestras de desintegración, dureza
- Examen de características de película

-Control de proceso, por ejemplo supervisión de procesos de mezcla y granulado.

Mediciones en la zona NIR son influenciadas por muchos factores químicos y físicos, como descrito a continuación; reproducibilidad y relevancia de los resultados dependen del control de estos factores y las mediciones son comúnmente validas para un modelo de calibración definido.

APARATOS

Espectrómetros NIR son utilizados para la toma de espectros en la zona de aprox. 780 nm hasta aprox. 2500 nm (aprox. $12\,800\text{cm}^{-1}$ hasta aprox. 4000cm^{-1}). Todas las mediciones NIR se basan en el hecho, de que luz ingrese por una u otra muestra y que la debilitación del rayo presente (transmitido, disperso o reflejado) sea medido. Espectrómetros para mediciones en la zona NIR constan de una fuente de luz apropiada, de un monocromator o interferómetro. Monocromadores comunes son filtros acústico ópticos (acousto-optical tuneable filter, AOFT) rejillas o prismas. Como fuentes de luz con alta intensidad se utilizan lámparas de cuarzo o de wólfram o similares. La lámpara wólfram puede ser estabilizada de buena forma como fuente de luz. Muchos aparatos NIR tienen un modelo de insolación. Silicio, sulfato de sodio, arsénico indio, indio-galio-arsénico, mercurio-cadmio-telurio (MCT) y sulfato de tricloruro de deuterio son comunes como materiales detectores. Soportes cubeta convencionales son algunos de los dispositivos comunes para presentación de las muestras. La selección se rige por el uso proyectado, a lo cual se debe poner especial atención en la aptitud de los dispositivos de examinación de pruebas. Comúnmente unidades de procesamiento de datos y de evaluación son parte del aparato.

METODOS DE MEDICION

Medición de la transmisión: La transmisión (T) es una medida para la toma de la intensidad de rayos de un rayo, en la cual una longitud de onda dada pasa por una prueba. La muestra se coloca en el rayo óptico entre la fuente de rayos y el detector. La ordenación corresponde a aquella de muchos espectrómetros convencionales y el resultado puede ser expresado directamente como transmisión (T) y/o como absorción (A).

$$T = \frac{I}{I_0}$$

I_0 = Intensidad de la radiación que ingresa

I = Intensidad de la radiación que sale

$$A = -\log T = \log () = \log ()$$

Medición de la reflexión difusa: La medición de la reflexión difusa ofrece una medida para la reflexión (R), la cual representa la relación de la intensidad de la luz reflejada de la muestra (I) hacia la luz que refleja del fondo que refleja o de la superficie de referencia (I_r). La radiación NIR puede ingresar en una gran profundidad de la muestra, en donde puede ser absorbido por vibraciones de combinación o superiores de las sustancias a ser analizadas en la muestra. Radiaciones no absorbidas son reflejadas de la prueba al detector. Espectros de reflexión NIR son obtenidas comúnmente por el cálculo y la reproducción gráfica del $\log (1/R)$ como función del largo de onda o del número de ondas.

$$R = \frac{I}{I_r}$$

I = Intensidad de la luz difusamente reflejado de la prueba

I_r = Intensidad del fondo o de la superficie de referencia de la luz reflejada

$$A_R = \log () = \log ()$$

Medición de la transflexion: La medición de la transflexion representa una combinación de la transmisión y la reflexión. En la medición de la transflexion (T^*) se utiliza un espejo o una superficie que refleja difusamente, para reflejar la radiación que atraviesa la muestra una segunda vez y con esto duplicar el grosor de la capa. Rayos no absorbidos son reflejados de la muestra al detector.

$$T^* = \frac{I}{I_T}$$

I_T = Intensidad de la radiación transflejada (medido sin muestra)

I = Intensidad de la radiación transmitida y reflejada (medida con la muestra)

$$A^* = \log ()$$

PREPARACION DE MUESTRAS Y PRESENTACION DE MUESTRAS

Medición de la transmisión: Para la calculación de la transmisión (7) es necesario el conocimiento del espectro de transmisión. Como referencia de fondo puede servir el aire, una célula vacía, una prueba ciega de disolvente o en casos especiales una prueba de referencia. El método se utiliza en general para sustancias diluidas o no diluidas, dispersiones, soluciones y sustancias solidas. Para mediciones de transmisión de sustancias solidas se requiere un soporte de pruebas apropiada. Las muestras son examinadas en un grosor de capa apta para dejar pasar radiaciones NIR a la célula (en general 0,5 hasta 4 mm) o por sumersión de una sonda de fibra óptica

configurada, por lo que se obtiene un espectro, que es compatible con las especificaciones del aparato y es apto para el fin proyectado.

MEDICION DE LA REFLEXION DIFUSA: Este método es utilizado en lo general para sustancias solidas. La muestra es examinada en un soporte de prueba apropiada, en donde se debe tener en cuenta, que las condiciones de medición de un muestra a otra sean lo más reproducible. En caso de que se deba introducir una muestra, se debe tener en cuenta, que durante la toma del espectro no sea cambiado su posición y que las condiciones de medición de una muestra a otra sean reproducibles de esta manera. La radiación reflejadas de una referencia de fondo es determinado, para obtener la línea base. Luego se mide la reflexión de una o más materiales de reflexión. Materiales de reflexión comunes son baldosas cerámicas, polímeros perfluorados y oro; pueden ser utilizados otros materiales apropiados. Solo espectros, que fueron medidos contra un fondo con las mismas características ópticas pueden ser comparados unas a otras. El tamaño de partícula, agua de hidratación y el grado de solvatación debe ser tenido en cuenta.

MEDICION DE LA TRANSFLEXION: Un reflector es colocado detrás de la muestra de tal forma, que sea doblado el grosor de la capa. Esta ordenación puede ser aplicada en mediciones con sistemas de reflexión y con sistemas de sondas de fibra óptica, en las cuales la fuente de luz y el detector están al mismo lado de la muestra, en donde es mantenida la misma geometría de aparatos. La muestra es examinada en una célula con espejo o un reflector de difusión apropiada, que sea de un metal o de una sustancia inerte (por ejemplo oxido de titano), que no absorban en la zona NIR.

FACTORES CON INFLUENCIA EN EL COMPORTAMIENTO ESPECTRAL

Temperatura de prueba Este parámetro es importante para soluciones acuosas y muchos fluidos. Una diferencia de pocos grados puede conducir a grandes cambios del espectro. La temperatura también es un importante parámetro para sustancias solidas y polvo, que contiene agua.

Humedad y residuos de disolvente: La humedad y los residuos de disolvente contenidos en muestras conducen en la zona NIR a claras bandas de absorción.

Grosor de capa de la muestra: El grosor de la capa de la muestra es una conocida fuente para variabilidad de espectro. Esta conexión debe ser entendida y/o controlada. Por ejemplo la muestra en mediciones de reflexión puede ser “infinitamente” gruesa, mientras la muestra mas delgadas de constante grosor necesitan un material de fondo de reflexión difusa, estable con capacidad de reflexión estable y preferiblemente alta.

Características ópticas de la muestra: En sustancias solidas deben ser tenidos en cuenta las cualidades de dispersión, así como la superficie de muestras como también del interior de las muestras. En espectros de muestras físicas, químicas u ópticas heterogéneas puede ser necesario obtener un valor promedio para la muestra, mientras son examinadas varias muestras o es ampliado el rayo de medición o es utilizada una muestra rotativa. Ciertos factores, como las diferencias en el grado de concentración o el tamaño de partículas de materiales en forma de polvo o adaptación de superficie pueden causar diferencias significantes en espectros.

Polimorfa: Variaciones en la estructura del cristal (polimorfa) tienen influencia sobre los espectros. Por esto pueden ser diferenciadas diferentes formas de cristal, así como la forma amorfa de una sustancia sólida a raíz de sus espectros NIR. En la presencia de múltiples formas de cristales se debe tener en cuenta, que los estándares de calibración presentan una distribución de formas, que es relevante para la aplicación prevista.

Edad de las muestras: Con el tiempo pueden cambiar las características químicas, físicas y ópticas de las muestras. Por esto se debe tener en cuenta, que las muestras examinadas de forma espectral NIR y las muestras, con las cuales se realizó la calibración, correspondan entre ellas. Cuando son examinadas muestra de diferente edad. Se deben tener en cuenta posibles diferencias en sus características.

ÜBERPRÜFUNG DE LA FUNKTIONSFÄHIGKEIT DEL APARATO

El aparato es utilizado de acuerdo a las normas del productor y las revisiones prescritas son realizadas en espacios regulares, que dependen de la cantidad de la utilización del aparato y de las sustancias a ser probadas.

Revisión de la escala de largo de onda (a excepción de aparatos con filtro): La escala de largo de onda utilizada en general es revisada en la zona entre aprox. 780 y aprox. 2500 nm (mas o menos 12 800 hasta mas o menos 4000 cm^{-1}) o en la zona espectral prevista con ayuda de una o varias sustancias de referencia de largos de onda, que presenten máximas o mínimas características dentro de la zona de largo de ondas elegida. Ejemplos para materiales de referencia son metano di cloro o una mezcla de óxidos de metales de tierra raros. Un espectro con la misma resolución, que fue obtenida para la obtención de los valores certificados, es utilizada y las posiciones

de mínimo 3 picos repartidos por la zona utilizada son medidas. Tolerancias supuestas son ± 1 nm en 1200 nm, ± 1 nm en 1600 nm y $\pm 1,5$ nm en 2000 nm (± 8 cm^{-1} en 8300 cm^{-1} , ± 4 cm^{-1} en 6250 cm^{-1} y ± 4 cm^{-1} en 5000 cm^{-1}). Para el material de referencia utilizado se utiliza para cada pico utilizado la tolerancia de la anteriormente largo de onda (numero de onda) nombrada y mas cercana. Para los aparatos FT la calibración de la escala de número de onda puede ser realizada con ayuda de una banda de vapor en 7299,86 cm^{-1} o una banda angosta de un material certificado. Para óxidos de metales de tierra raros, NIST 1920 (a) en el material de referencia mas apropiado.

Medición de la transmisión: metano di cloro R puede ser utilizado en un grosor de capa óptico de 1,0 mm. Metano di cloro tiene bandas agudas en 1155, 1366, 1417, 1690, 1838, 1894, 2068 y 2245 nm. Las bandas en 1155, 1417, 1690 y 2245 nm con utilizadas para la calibración. Otros estándares pueden ser utilizados.

Medición de la reflexión difusa: Una mezcla de óxidos de disprosio, holmio y erbio (1+1+1 Partes de masa) o demás materiales certificados pueden ser utilizados. Los materiales de referencia presentan picos característicos en 1261, 1681 y 1935 nm. Si no es posible aplicar sustancias de calibración solidas y externas y si las mediciones de la reflexión difusa es realizada en células o cuando son utilizadas sondas de fibra óptica, se aplica una suspensión fuertemente sacudida de 1,2 g de oxido de titanio R en mas o menos 4 ml de metano di cloro R directamente en la célula o sonda. El espectro es grabado después de 2 minutos. El dióxido de titanio no absorbe en la zona NIR. Los espectros son marcados con una resolución máxima nominal espectral de 10 nm en 2500 nm (16 cm^{-1} en 4000 cm^{-1}). Se determinan las posiciones de mínimo 3 picos repartidos por la zona elegida. Las tolerancias asumibles están expuestas bajo "Revisión de la escala de largo de onda". Para los materiales de

referencia aplicados se utiliza para cada pico utilizado la tolerancia de la largo de onda (numero de ondas) mas cercana.

Revisión de la precisión de repetición de la largo de onda (a excepción de aparatos con filtros): La precisión de repetición del largo de onda es revisado con ayuda de sustancias de calibración apropiadas. Las desviaciones estándar de la largo de onda debe coincidir con las especificaciones del productor del aparato.

Revisión de linealidad fotométrica y de estabilidad de sistema: La linealidad fotométrica es comprobada con un juego de sustancias para la calibración de transmisión o reflexión, cuyos valores porcentuales de la transmisión o de reflexión son conocidos. Para mediciones de reflexión se obtiene sustancias de calibración de polímeros con carbono. Se utilizan mínimo 4 sustancias de calibración en la zona de 10 hasta 90 porciento, como por ejemplo en 10, 20, 40 y 80 por ciento, con los respectivos valores de absorción de 1,0, 0,7, 0,4 y 0,1. Cuando se utiliza el sistema para examinar las sustancias con valores de absorción por encima de 1,0, se adicionan el juego por una sustancia de calibración de 2 y/ o 5 por ciento. Los valores de absorción medidos son presentados de forma grafica frente los valores de absorción de la sustancia de calibración y se calcula una regresión lineal. Tolerancia asumibles son $1,00 \pm 0,05$ para la elevación y $0,00 \pm 0,05$ para la sección ordinaria en el interfaz.

Espectros del material para la calibración de reflexión pueden presentar variabilidad. Esta se basa en diferencias de condiciones experimentales entre la calibración en donde el productor y la utilización en la practica. Por esto no pueden ser utilizados los valores de reflexión indicados en por cientos, que son suministrados para un juego de sustancias de calibración, para elaborar un aparato dado para una

calibración “absoluta”. En tanto las sustancias de calibración no cambien química o físicamente y se utilice la misma referencia de fondo como en la elaboración de los valores certificados, las mediciones subsiguientes otorgan los mismos estándares bajo condiciones idénticas, incluyendo posicionamiento de muestras preciso, informaciones sobre la estabilidad a largo plazo de la respuesta fotométrica. Para la estabilidad de largo plazo es aceptable una tolerancia de ± 2 por ciento; esta verificación solo es requerida, cuando se utilizan espectros sin tratamiento previo.

Revisión del ruido del espectrómetro: El ruido del espectrómetro es definido con ayuda de una material apropiado para la calibración, por ejemplo con baldosines de cerámica o resinas reflejantes, termoplásticos (por ejemplo politetrafluoretilicos). El material de calibración es medido por medio de una zona apropiada de largo de onda o bien números de onda, correspondiente a la recomendación del productor de espectrómetros y el ruido del espectrómetro es calculado como ruido de pico-a-pico. El valor debe corresponder más o menos al doble de la desviación estándar. El ruido del espectrómetro debe coincidir con los valores indicados en las especificaciones del espectrómetro.

IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION (Análisis cualitativo)

Creación de una biblioteca de espectros de referencia: Los espectros de un gran número suficiente de cargas de una sustancia, que fueron probadas completamente de acuerdo a las especificaciones fijadas y que presentan variaciones típicas de la sustancia (por ejemplo productor, forma física, tamaño de partículas), son marcados. El juego de espectros representa la información para la identificación y caracterización, que define los límites de la comparabilidad para esta sustancia, y

sirve como inscripción en la biblioteca de espectros para la identificación de la sustancia. El número de espectros de sustancias en la biblioteca depende del uso específico, bibliotecas demasiado amplias pueden causar dificultades en la diferenciación de diferentes materiales y en la validación. Todos los espectros de la biblioteca son idénticos referente a:

- Zona espectral y número de puntos de datos
- Técnica de medición
- Tratamiento previo de datos

Si dentro de las bibliotecas son creados subgrupos, se aplican los criterios arriba mencionados para cada subgrupo independientemente. La colección de espectros de la biblioteca se puede crear independientemente del procedimiento matemático de identificación de diferente manera. Estos pueden ser por ejemplo:

- Todos los espectros individuales, que caracterizan la sustancia
- Un espectro mediado de cada carga de sustancia
- Si necesario, una descripción de la variabilidad dentro de los espectros de sustancias.

Los datos crudos electrónicos para la creación de la biblioteca de espectros deben ser archivados.