

**DPhG Fachgruppe**  
**Arzneimittelkontrolle und pharmazeutische Analytik**  
**5.– 6. Oktober 2005 Mainz**

**Verwendung von Stabilitätsdaten zur Berechnung  
von zuverlässigen Wiederhol- und  
Laborvergleichspräzisionen am Beispiel  
von LC-Gehaltsbestimmungen**

Joachim Ermer  
sanofi-aventis  
Industrial Quality & Compliance  
Joachim.Ermer@sanofi-aventis.com

## Bedeutung der Variabilität

Viele Leistungsparameter analytischer Verfahren sind mit der Präzision verknüpft

Akzeptanzkriterien in Validierung und SST

Bewertung von aktuellen Analysenergebnissen  
(Analytische Qualitätssicherung)

- Identifizierung von atypischen Ergebnissen
- Untersuchung von atypischen und OOS-Ergebnissen

Vergleich von Ergebnissen / Methoden

Voraussetzung zur Kontrolle des Herstellungsprozesses  
(Six Sigma)

## Präzisionsquellen

### Validierung:

- **Wiederholpräzision (individuell)**
- **Laborvergleichspräzision (Intermediate precision)**
  - ┆ Zuverlässigkeit abhängig von der Anzahl der Serien (~2-4)

### Transfer:

- **Wiederholpräzision (individuell)**
- **Vergleichspräzision**
  - ┆ Zuverlässigkeit abhängig von der Anzahl der Serien

## Präzisionsquellen: Routineanalytik

### Über längeren Zeitraum

- **sehr zuverlässige und realistische Abschätzung**
- **Ergibt Zielstandardabweichung für die jeweilige Anwendung (Target-SD, TSD)**

### Chargenfreigabe

- **Systemeignungstest: Systempräzision**
- **Aus Doppelbestimmungen: gepoolte Wiederholpräzision**

### Qualitäts-Kontrollkarten: Kontrollcharge

- **Einfachbestimmung: Vergleichspräzision**
- **Doppelbestimmung: gepoolte Wiederhol- und Vergleichspr.**

### Stabilitätsstudien

## Präzisionsquellen: Stabilität

### Ideale Präzisionsquelle

- Anwendung desselben analytischen Verfahrens auf eine Charge
- langer Zeitraum
- Variation aller praktisch relevanten Faktoren
- große Datenanzahl
- Daten sind (leicht) verfügbar

### Präzisionsebenen

- Systempräzision (wenn Doppelinjektion oder Systemtest)
- Wiederholpräzision (wenn  $n \geq 4-5$  pro Lagerintervall)
- Gesamtwiederholpräzision (wenn  $n \geq 2$  pro Intervall)
- Intermediate Precision / Vergleichspräzision

## Wiederholpräzision aus Stabilitätsstudien

### Individuelle Wiederholpräzision

- Bei ausreichender Anzahl an Bestimmungen pro Intervall (mind. 4-5)
- Evtl. Möglichkeit der Zusammenfassung, wenn
  - gleiche Charge in verschiedenen Präsentationen / Packmitteln
  - gleiche Analysenserie (Bestimmung gegen gleichen Standard)
  - kein Einfluss auf Stabilität

### Gesamt-Wiederholpräzision

- Bei mindestens Doppelbestimmung
- Größere Zuverlässigkeit, da mehr Daten
  - $s_r$  = Gesamt-Wiederholpräzision
  - $n_j$  = Anzahl der Bestimmungen im Intervall j
  - $s_j^2$  = Varianz für Intervall j
  - k = Anzahl der Lagerintervalle

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum ((n_j - 1) * s_j^2)}{\sum n_j - k}}$$

## Vergleichspräzision aus Stabilitätsstudien

### Gehaltsabnahme infolge von Degradation?

- **Lineare Regression Gehalt vs. Lagerzeit**
- **Prüfung, ob Stabilitätseffekt**
  - z.B. Signifikanz der Steigung
  - 95% Vertrauensbereich der Steigung schließt 0 nicht ein

### Keine signifikante Steigung: Varianzanalyse (DIN-ISO 5725-2)

- $s_g^2$  = Inter-Gruppenvarianz
- $\bar{x}_j$  = Mittelwert für Intervall j

$$s_g^2 = \left( \frac{\sum (n_j * \bar{x}_j^2) * \sum n_j - (\sum (n_j * \bar{x}_j))^2}{(k-1) * \sum n_j} - s_r^2 \right) * \frac{(k-1) * \sum n_j}{(\sum n_j)^2 - \sum (n_j^2)}$$

$$s_R = \sqrt{s_r^2 + s_g^2} \quad \text{oder} \quad s_R = \sqrt{s_r^2} \quad \text{falls} \quad s_g^2 < 0$$

Dr. Joachim Ermer, Okt. 2005

**sanofi aventis**  
Because health matters

7

## Vergleichspräzision aus Stabilitätsstudien

### Signifikante Steigung

- $s_R$  aus Reststandardabweichung der Regressionsgeraden

$$s_R = \sqrt{\frac{\sum (y_i - (a + b * x_i))^2}{n-2}} * 100\%$$

### Beispiel (Filmtabletten):

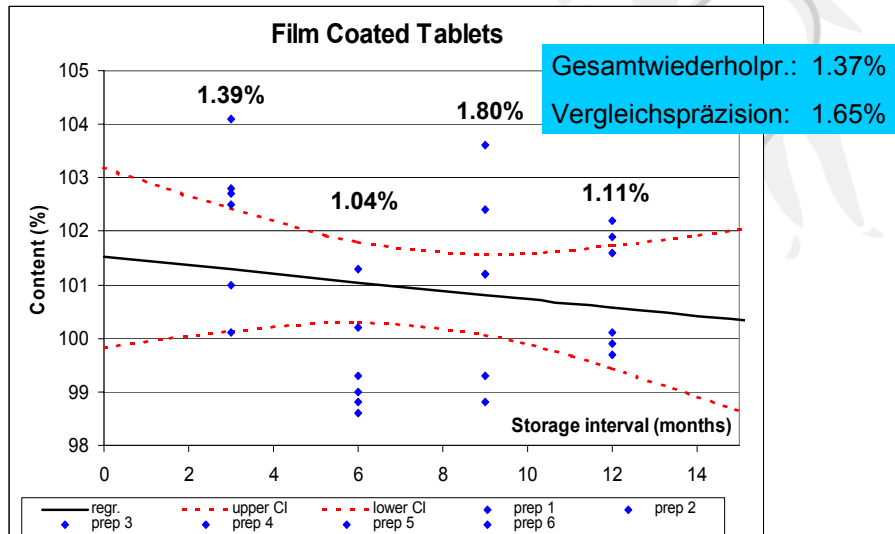
- **Keine signifikante Steigung**
- **Varianzanalyse (ANOVA):** 1.65%
- **Reststandardabweichung:** 1.61%

Dr. Joachim Ermer, Okt. 2005

**sanofi aventis**  
Because health matters

8

## Präzisionen aus Stabilität



Dr. Joachim Ermer, Okt. 2005

sanofi aventis  
Because health matters

9

## Verwendung der Präzisionen

### Spezifische Anwendung

- Zielpräzision für jeweilige Methode/Produkt

### Verallgemeinerung

- Klassifizierung für verschiedene Methoden/Produkte
- Zur Orientierung für zukünftige Anwendungen
- "Präzisions-Datenbank"

Dr. Joachim Ermer, Okt. 2005

sanofi aventis  
Because health matters

10

## Projekt der Fachgruppe

Wiederhol- und Vergleichspräzision LC Assay

Beteiligung von 9 Firmen: Abbott, A&M StabTest, Aventis, Bayer, Boehringer, Quality Assistance, Schwarz, Spitzner, Roche

44 Wirkstoffe und Arzneiformen (anonymisiert)

156 Stabilitätsstudien (12 – 60 Monate)

2915 Gehaltswerte

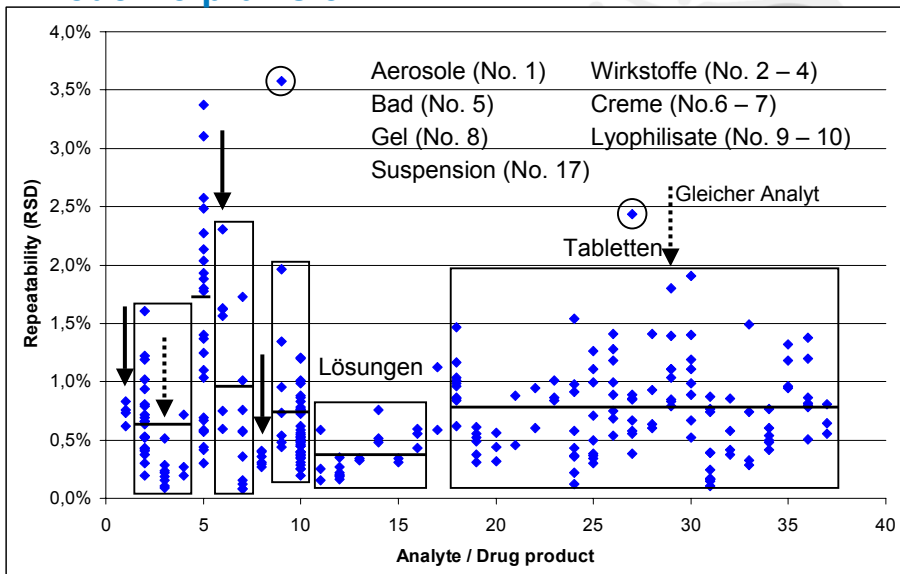
Publikation: J. Pharm. Biomed. Anal. 38 (2005) 653-663

Dr. Joachim Ermer, Okt. 2005

sanofi aventis  
Because health matters

11

## Wiederholpräzision



Dr. Joachim Ermer, Okt. 2005

sanofi aventis  
Because health matters

12

# Wiederholpräzision

Wiederhol- und Vergleichspräzision sind abhängig vom Probentyp (Arzneiform), d.h. Probenaufarbeitung

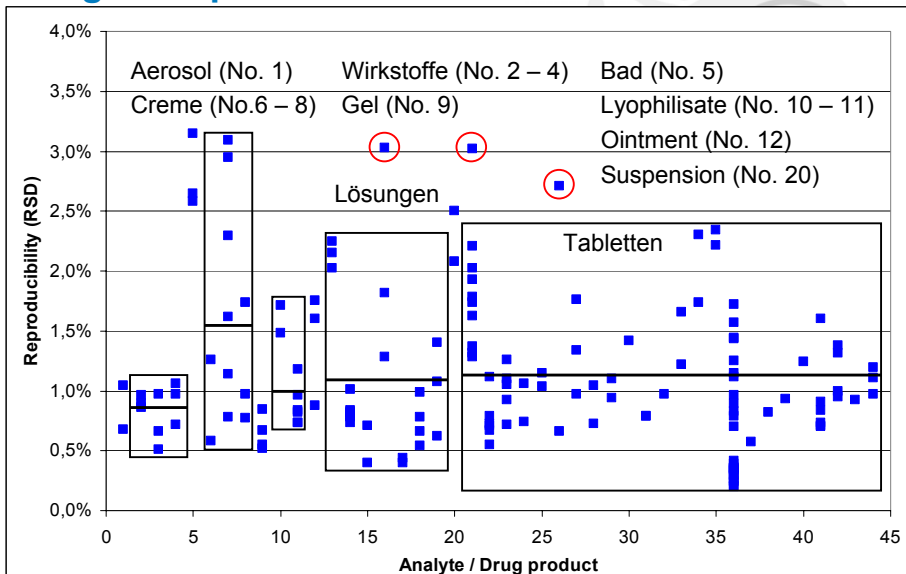
Je komplexer die Probenaufarbeitung / Probe, desto größer die Variabilität

Relevant für Akzeptanzgrenzen

Obere Grenze der Verteilung (∅)

- Lösungen (0.4) < 1 %
- Wirkstoffe (0.6) < 1.5%
- Creme (1.0), Lyophilisate (0.7), Tabletten (0.8) < 2 %
- Bad (1.7) < 3.5 %

# Vergleichspräzision



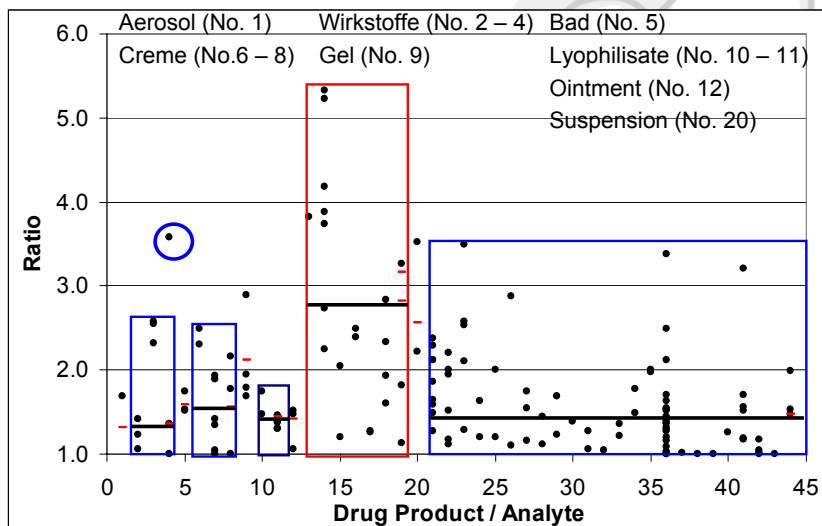
## Vergleichspräzision

Wiederholpräzision + zusätzliche Variabilitätskomponenten (Referenzstandard, Bearbeiter, ...)

Obere Grenze der Verteilung ( $\emptyset$ )

● Wirkstoffe	(0.9)	< 1.1%
● Lyophilisate	(1.1)	< 1.7 %
● Lösungen, Tabletten	(1.1)	< 2.3 %
● Creme	(1.5)	< 3.1 %
● Bad	(2.8)	< 3.2 %

## Quotient aus Vergleichs- und Gesamtwiederholpräzision





## Quotient aus Vergleichs- und Gesamtwiederholpräzision

Maß für Einfluss der Variationsfaktoren  
(Robustheit, ruggedness)

Obere Grenze der 90%-Verteilung ( $\emptyset$ )

● Wirkstoffe	(1.7)	< 2.6
● Lyophilisate	(1.4)	< 1.5
● Lösungen	(2.7)	< 5.3
● Tabletten	(1.4)	< 2.5 (95%)
● Creme	(1.6)	< 2.3
● Bad	(1.6)	< 1.8 (Maximum)

Größerer Beitrag der "Vergleichs-Komponente" bei  
weniger komplexen Proben/Arzneiformen

● Vorsicht bei Signifikanztest der Mittelwerte!

## Konzentrationsabhängigkeit – Horwitz-Funktion

Aus Ringversuchen mit verschiedensten Analyten, Matrix,  
Analysetechniken über weite Konzentrationsbereiche

Exponentieller Anstieg der RSD mit sinkender Konzentration

Empirische Gleichung:

$$RSD_R(H) = 2 \cdot c^{-0.1505}$$

Akzeptable Reproduzierbarkeit:  $0.5 - 2 * RSD_R(H)$

Akzeptable Wiederholbarkeit:  $\frac{1}{2} - \frac{2}{3}$  of  $RSD_R$

Anal. Chem. 69 (1997) 789-790

## Stabilitätsdaten

### Konzentrationsbereich der Stabilitätsstudien:

- Injizierte Menge: 0.125 - 40 µg
- Wirkstoffgehalt (Konzentrationsfraktion): 0.0004 - 100%

### Lineare Regression: Präzision vs. log Menge/Konz.

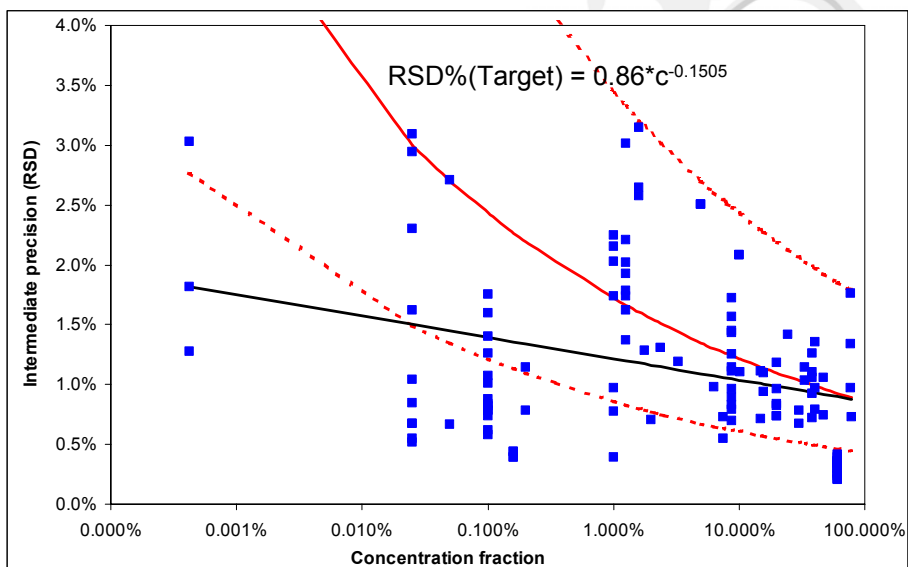
p-Wert Steigung obere Prognosegrenze

Vergleichspräzision	vs. Menge	$5 \cdot 10^{-6}$	~1.5% -- ~3.2%
	vs. Konzentr.	$2 \cdot 10^{-5}$	2.2% - 3.3%
Wiederholpräzision	vs. Menge	0.77	1.85%
	vs. Konzentr.	<u>0.043</u>	2.1% - 1.7%

### Signifikanz nicht erstaunlich aufgrund großer Datenzahl

- Bei n = 223: Korrelationskoeffizient von 0.131 ist signifikant

## Horwitz-Funktion



## Stabilitätsdaten

### Relativ enger Konzentrationsbereich, gleicher Methodentyp

- Keine exponentielle Zunahme mit Abnahme der Konz.
- “Plateau-Effekt” (3% RSD bei  $c < 1\%$ )
- Lineare Korrelation durch Hebeleffekt
  - Arzneistoffe:  $c \sim 100\%$ , Vergleichspräzision 0.5-1.1%

### Eingeschränkte Bedingungen – Zunahme der “Auflösung”

- Weitere Faktoren werden deutlich (Probentyp)

### Horwitz-Funktion wertvoll

- als allgemeine Beschreibung der Präzisionsabhängigkeit
- Qualitätsvergleich in Ringversuchen

## Ergebnisse verallgemeinerungsfähig?

### Im Prinzip Ja, zur Orientierung

- Numerische Werte der Ziel-SD und oberen Grenzen dürften sich mit zunehmender Datenbasis ändern
- Einzelne Analyten/Produkte/Methoden können abweichen

### Einbeziehung weiterer Daten, Analysetechniken usw. wünschenswert, um Repräsentativität zu erhöhen

- Daten, Excel-Dateien zur Berechnung und Datenerfassung s. Webseite der FG (Englische Version)
- <http://www.pharmchem.tu-bs.de/waetzig-dphg1.html>
- Datensätze sind willkommen, zur Sammlung und geeigneten Publikation, an: Prof. H. Wätzig: [h.waetzig@tu-bs.de](mailto:h.waetzig@tu-bs.de)

# Zusammenfassung

## Stabilitätsstudien als ideale Präzisionsquellen

- Oft alle Präzisionsebenen zugänglich

## Für LC-Assay: Präzisionen im wesentlichen abhängig von Komplexität der Probe(nvorbereitung), d.h. Arzneiform

## Bedeutung für Spezifikationssetzung

- Höhere analytische Variabilität bei manchen Arzneiformen
- s. Positionspapier der Fachgruppe (Webseite)

## Informationspyramide

- Daten → Information → Wissen
- Grundlage für Reaktion und Aktion