

Präzision in der HPLC

- Akzeptanzkriterien
- Abhängigkeit von der Konzentration
- Varianzkomponenten



**Udo Schepers¹, Joachim Ermer²,
Lutz Preu¹, Hermann Wätzig¹**

¹Institut für Pharmazeutische Chemie
Universität Braunschweig

²Aventis, Global Analytical Development

h.waetzig@tu-bs.de

„ ... enthält mindestens 98.5 und höchstens 101.0 Prozent ..., berechnet auf die getrocknete Substanz.“

Akzeptanzkriterien des Gehaltes für Wirkstoffe

oberes Akzeptanzkriterium:

$$UAL = 100\% + 1\% = 101.0\%$$

unteres Akzeptanzkriterium:

$$LAL = 100\% - 0.5\% - 1\% = 98.5\%$$

TSD: target standard deviation

%TSI: percental total sum of impurities

Miller, J. H. McB., European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM),
Straßburg; Positionspapier der Fachgruppe Arzneimittelkontrolle/Pharmazeutische
Analytik der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft

Methoden	Substanzbeispiele	TSD
Titrationen		
- im wässrigen Milieu mit Alkali, Farbindikator	Salicylsäure	0.2 %
- im wässrigen Milieu mit Alkali, potentiometrische Indikation	Salicylsäure	0.3 %
- im nicht-wässrigen Milieu mit Alkali, Farbindikator	Ephedrinhydrochlorid, racemisch	0.4 %
- im nicht-wässrigen Milieu mit Alkali, potentiometrische Indikation	Ephedrinhydrochlorid, racemisch	0.4 %
UV-Spektrometrie	Prednisolonacetat, u.a. ¹⁾	0.6 % - 1.3 %
Flüssigchromatographie (HPLC)	Cloxacillin-Natrium	0.6%

1) Cinnarizin, Dienestrol, Albendazol und Methylprednisolon-hemisuccinate

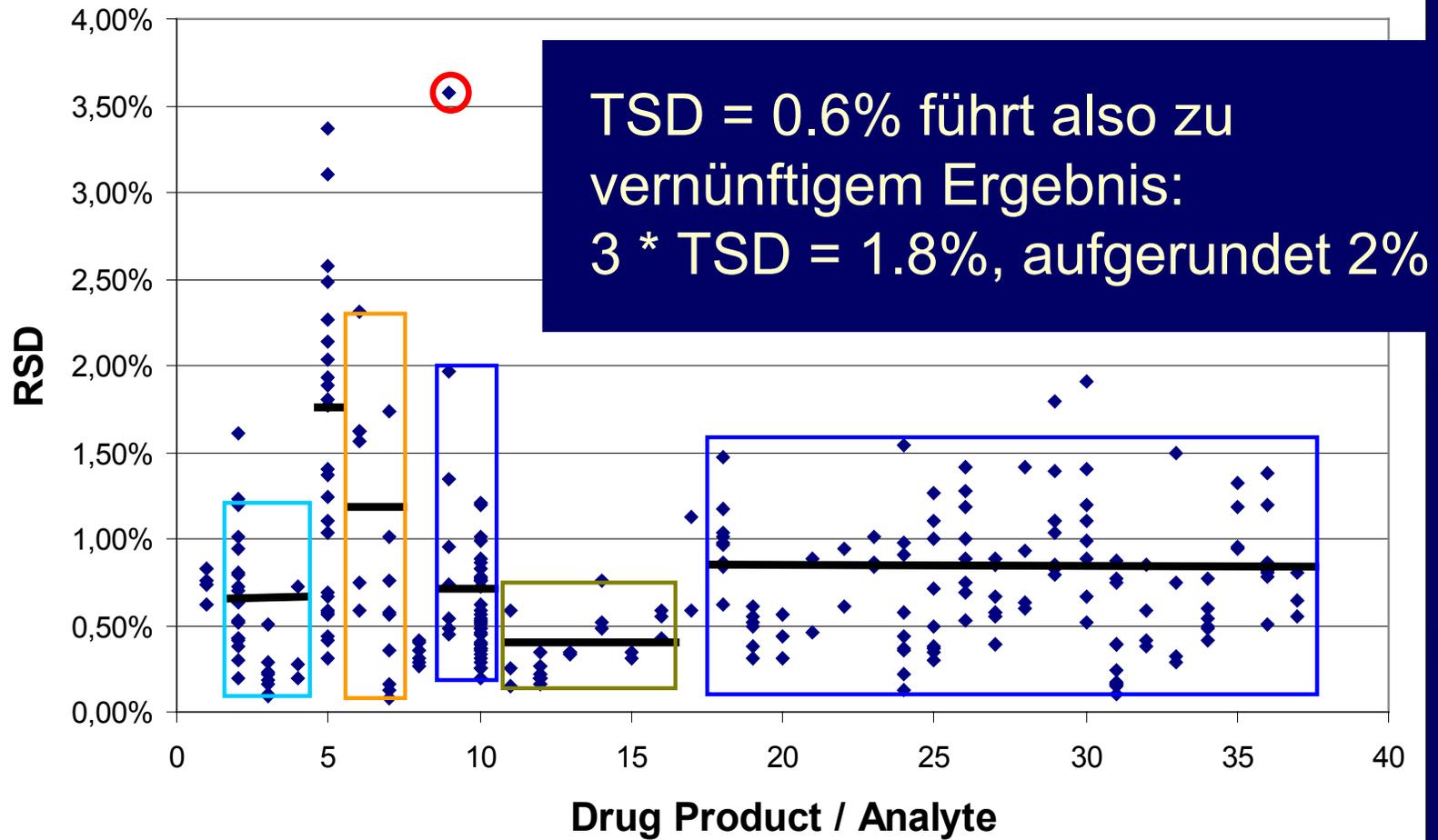
2) ev. teilweise höher, vgl. UV-Spektrometrie

Daas, A. G. J., Miller, J. H. McB., Pharmeuropa 10(1), 137-146 (1998)

Berechnungen von Präzisionen aus Stabilitätsstudien

Analyt	[REDACTED]			
Drug product	[REDACTED]			
Comments				
Conditions	25°C/60%RH			
Date of analysis	Storage	LC Assay 0,2mg/ml 10µl 228nm		
	interval	prep 1	prep 2	prep 3
23.01.98	0	3,907	3,914	3,908
23.01.98	3	3,954	4,121	4,051
21.04.98	6	3,902	3,945	3,965
31.07.98	9	3,967	3,987	4,083
07.10.98	12	4,02	3,998	3,973
26.04.99	18	3,895	3,93	3,89

Individual Repeatability



1 Aerosol 5 med. Bad 8 Gel 11-16 Lösungen 18-37 Tabletten
2-4 Wirkstoffe (APIs) 6-7 Cremes 9-10 Lyophilisate 17 Suspensionen

Akzeptanzkriterien für die Zulassung

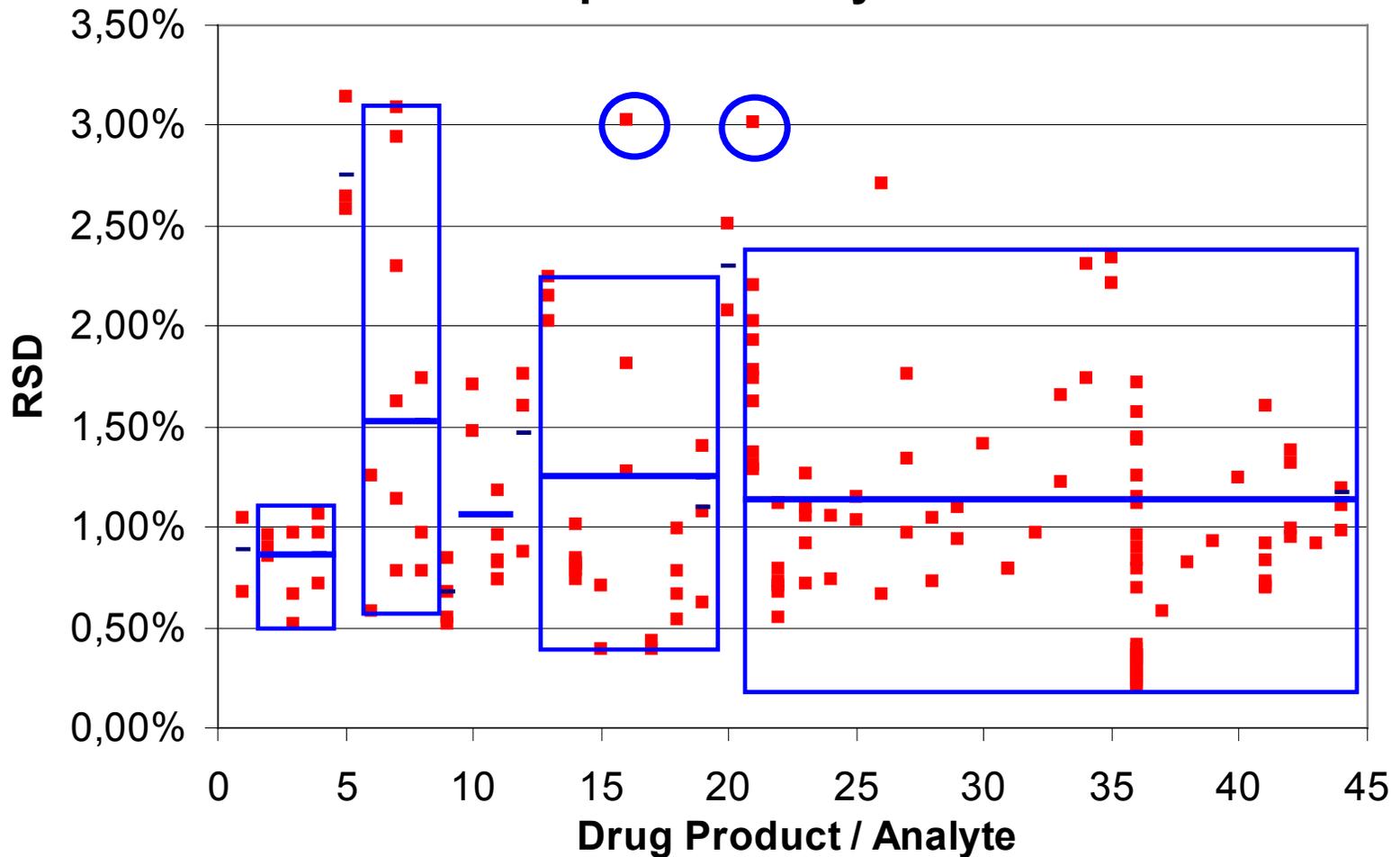
EU: 95 und 105% des deklarierten Gehalts

$$AK = 100 \% \pm PL \pm \frac{2.23 * \hat{\sigma}_R}{\sqrt{n_{assay}}} \pm 2.5\%$$

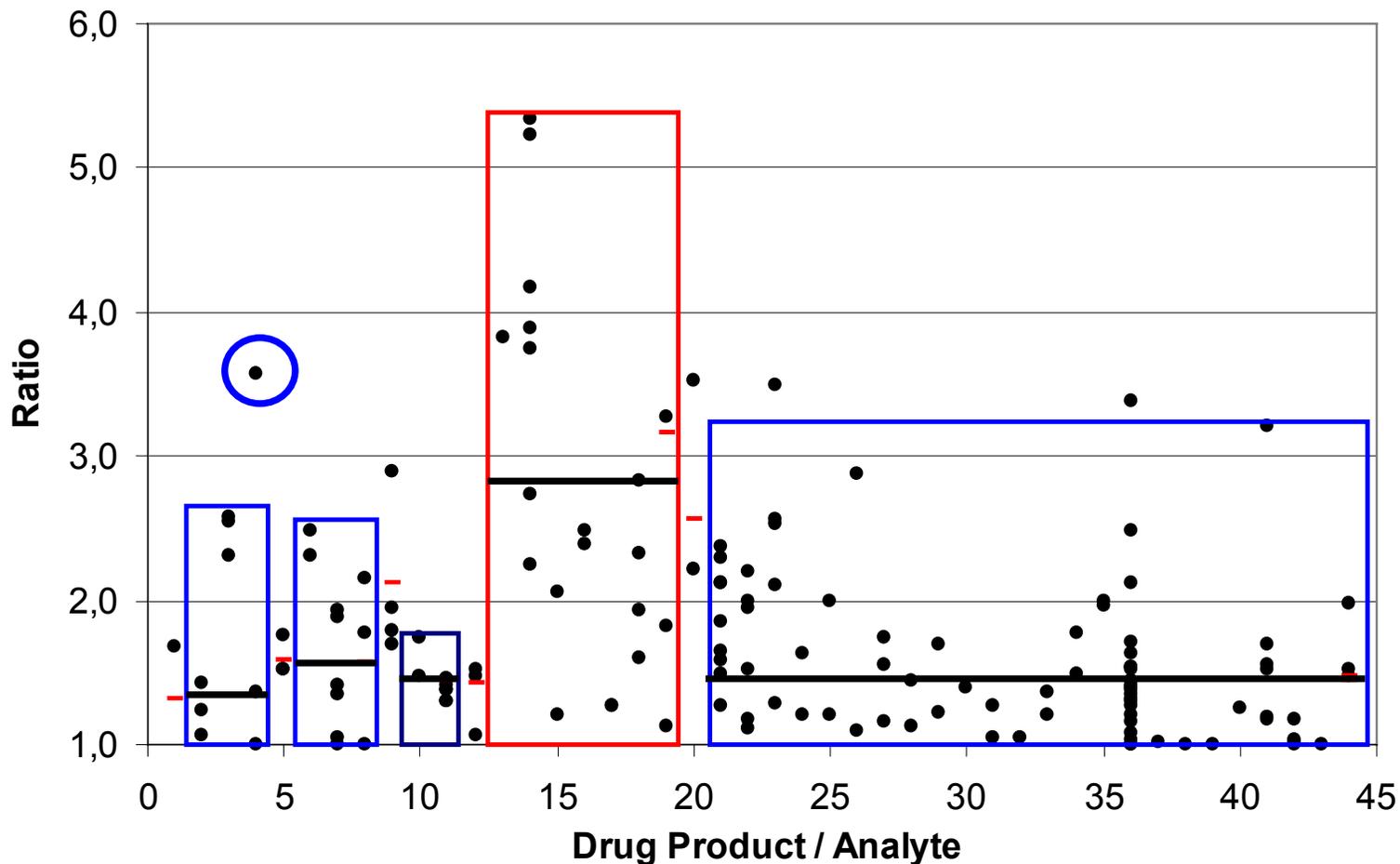
$\pm 2.5\%$

J. Ermer, M. Fischer, B. Renger, H. van Lishaut, H. Wätzig,
http://www.tu-bs.de/institute/pharmchem/dphg_pospapier.pdf

Reproducibility



Ratio Reproducibility / overall Repeatability



1 Aerosol 5 Bad 9 Gel 12 Salbe 13-19 Lösungen 21-44 Tabletten
 2-4 APIs 6-8 Cremes 10-11 Lyophilisate 20 Suspensionen

Vergleichspräzision und Akzeptanzkriterien

Obere Grenze der Vergleichspräzision in der HPLC: 2.4%

$$AK = 100 \% \frac{2.23 * 2.4\%}{1.73} = 100\% \pm 5.0\%$$

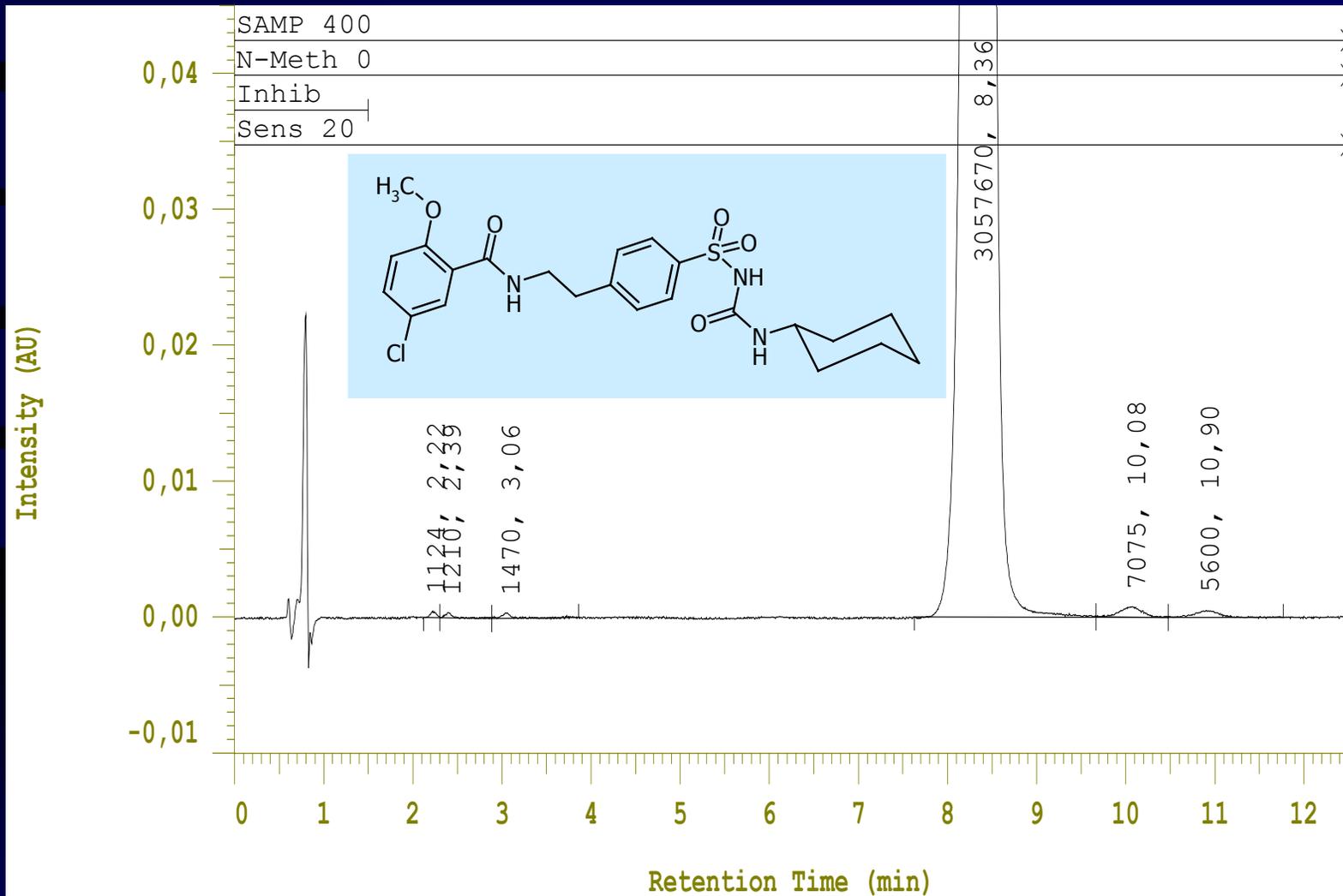
Die FG Arzneimittelkontrolle der DPhG schlägt vor, im Normalfall höchstens eine Dreifachbestimmung durchzuführen.

Varianzkomponenten in der HPLC

Wiederhol-Standardabweichung

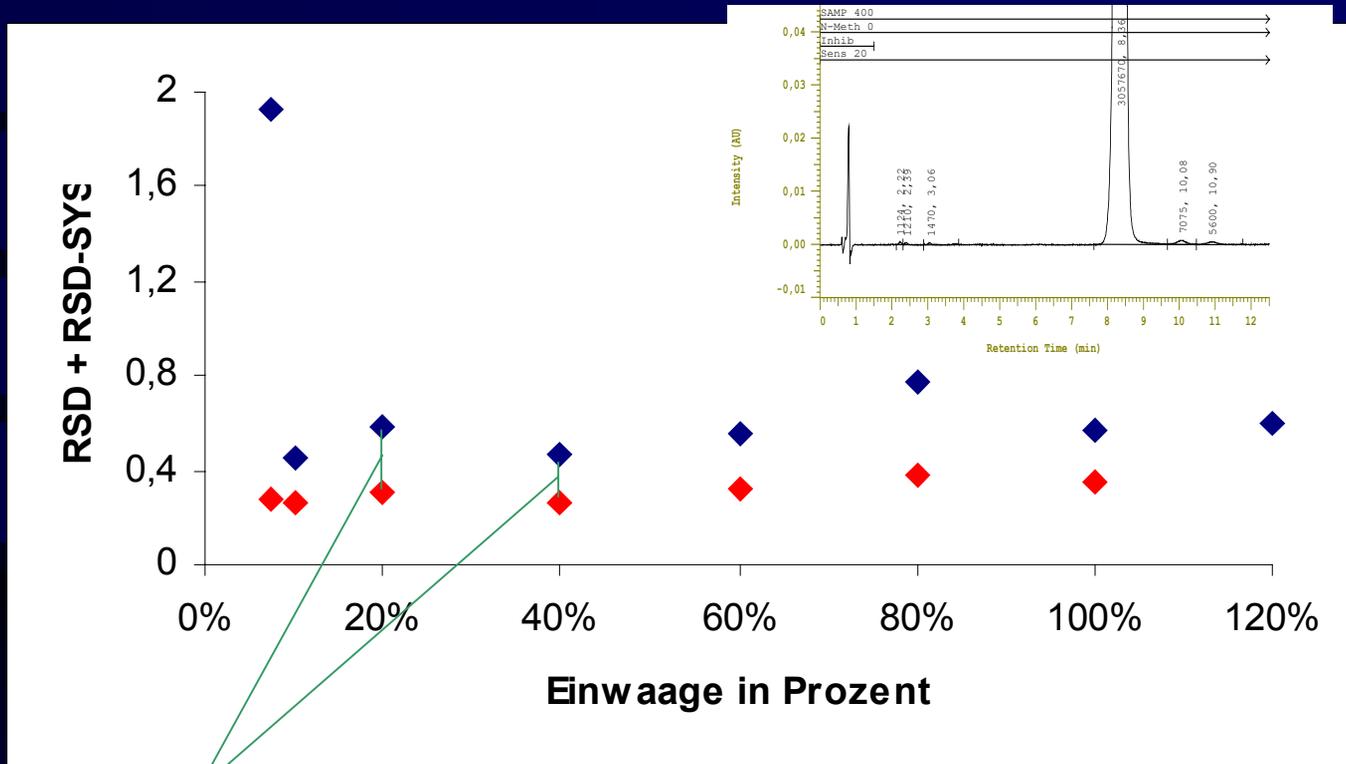


Beispiel: HPLC, Glibenclamid + Nebenkomponenten



Präzision bei 10 - 120% des Nominalgehaltes

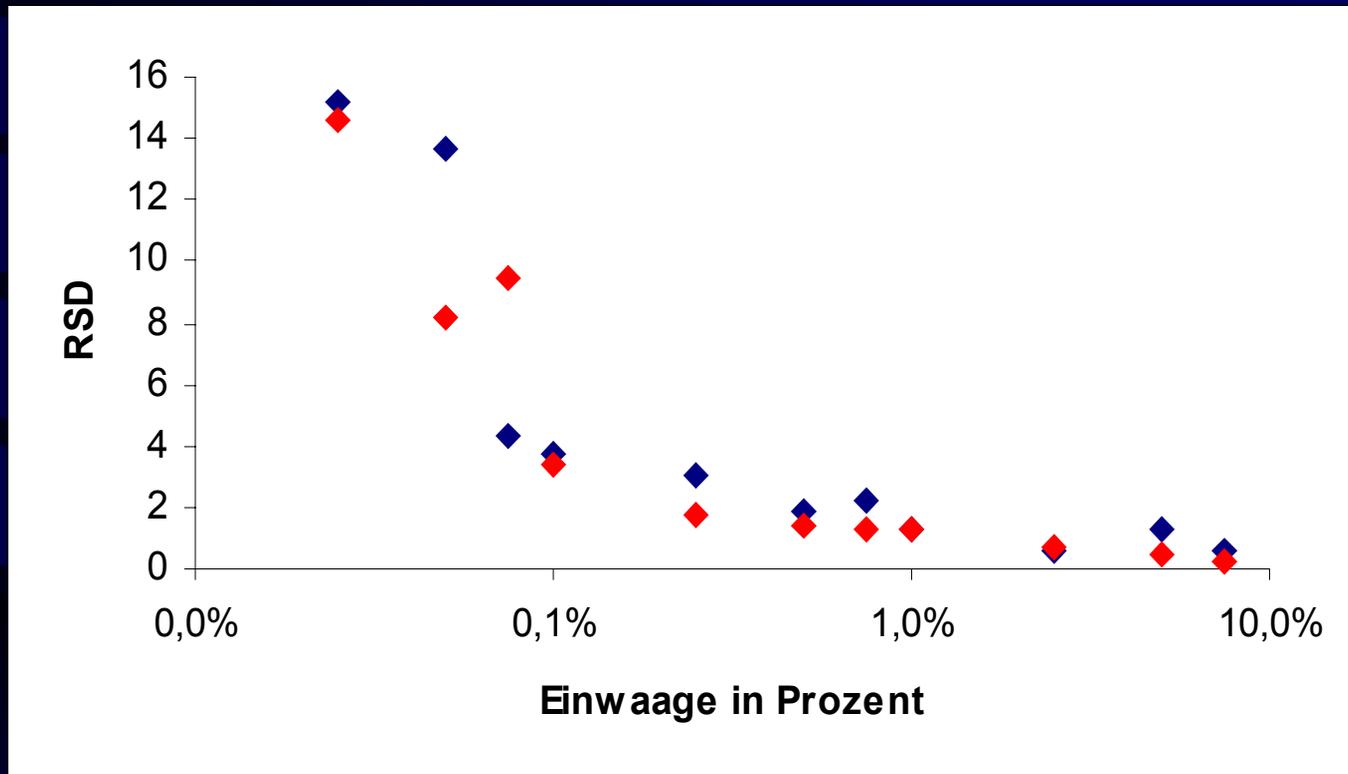
Verlauf der Wiederholbarkeit und der Systempräzision:



Die **restliche** Variation ist durch die Probenaufbereitung bedingt. Ca. **0,63%**, da $0,70^2 = 0,31^2 + 0,63^2$.

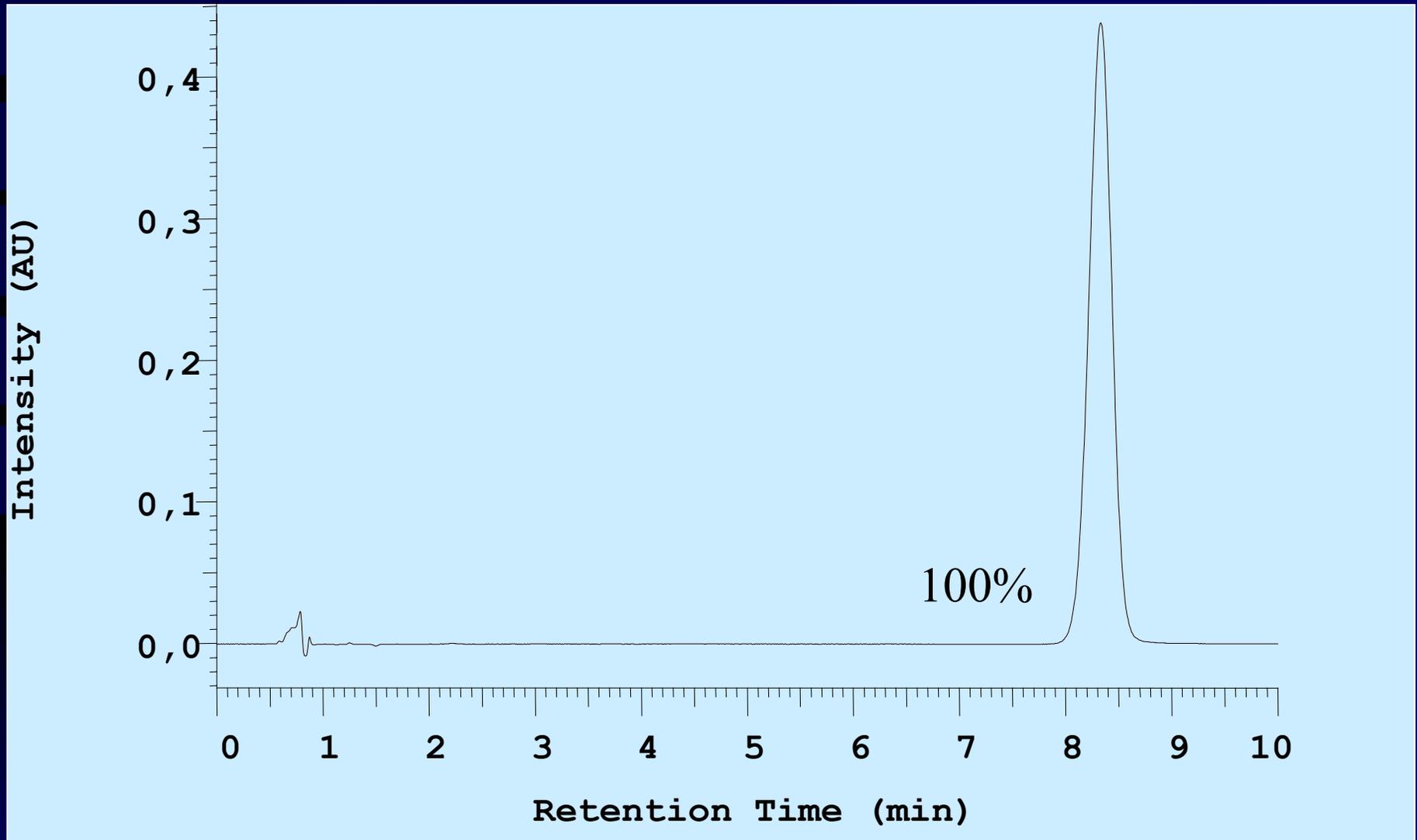
Präzision unterhalb 10% des Nominalgehaltes

Verlauf der Wiederholbarkeit und der Systempräzision:

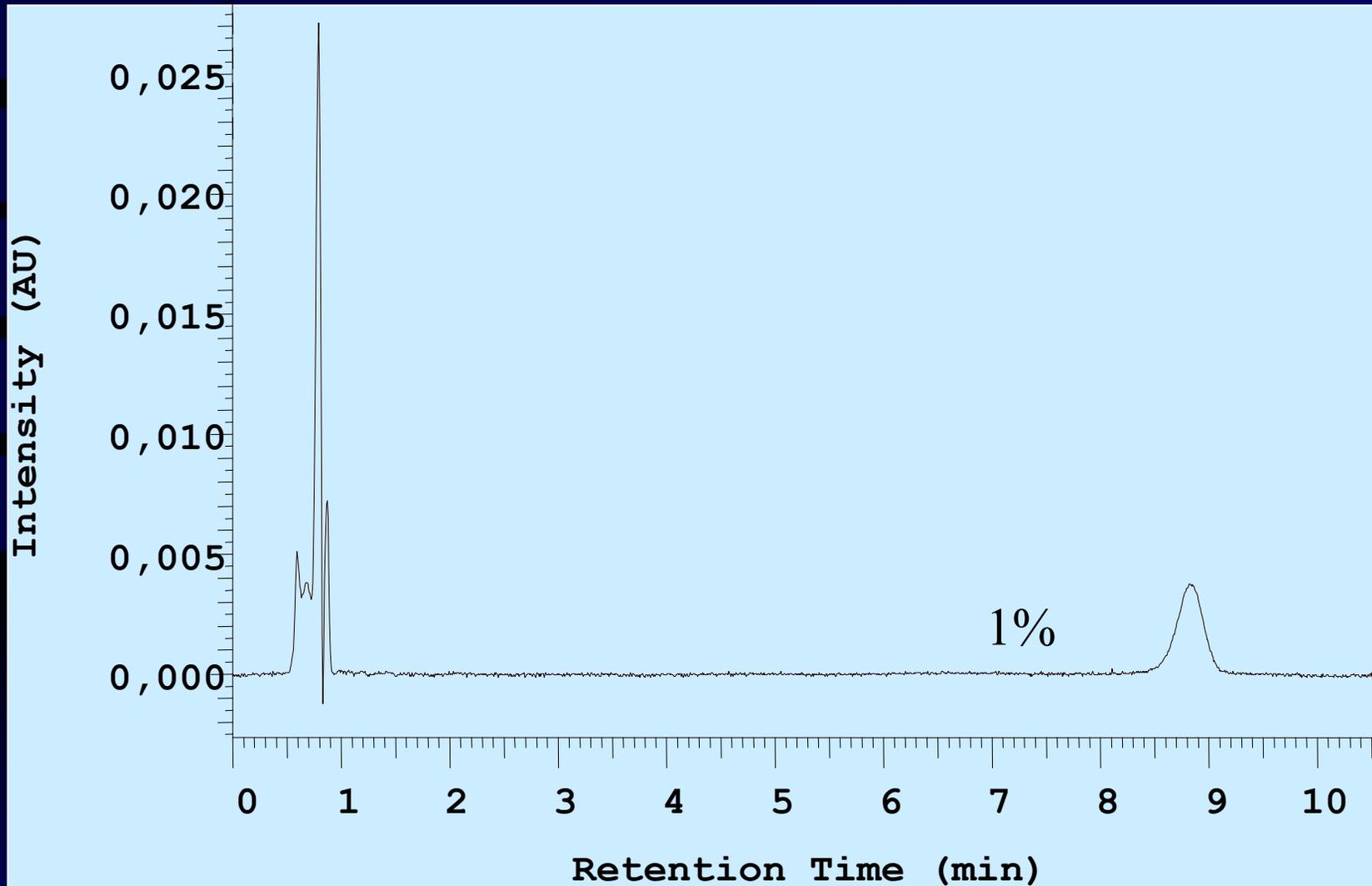


Der Anteil der Systempräzision an der Gesamtvariabilität wird stetig größer.

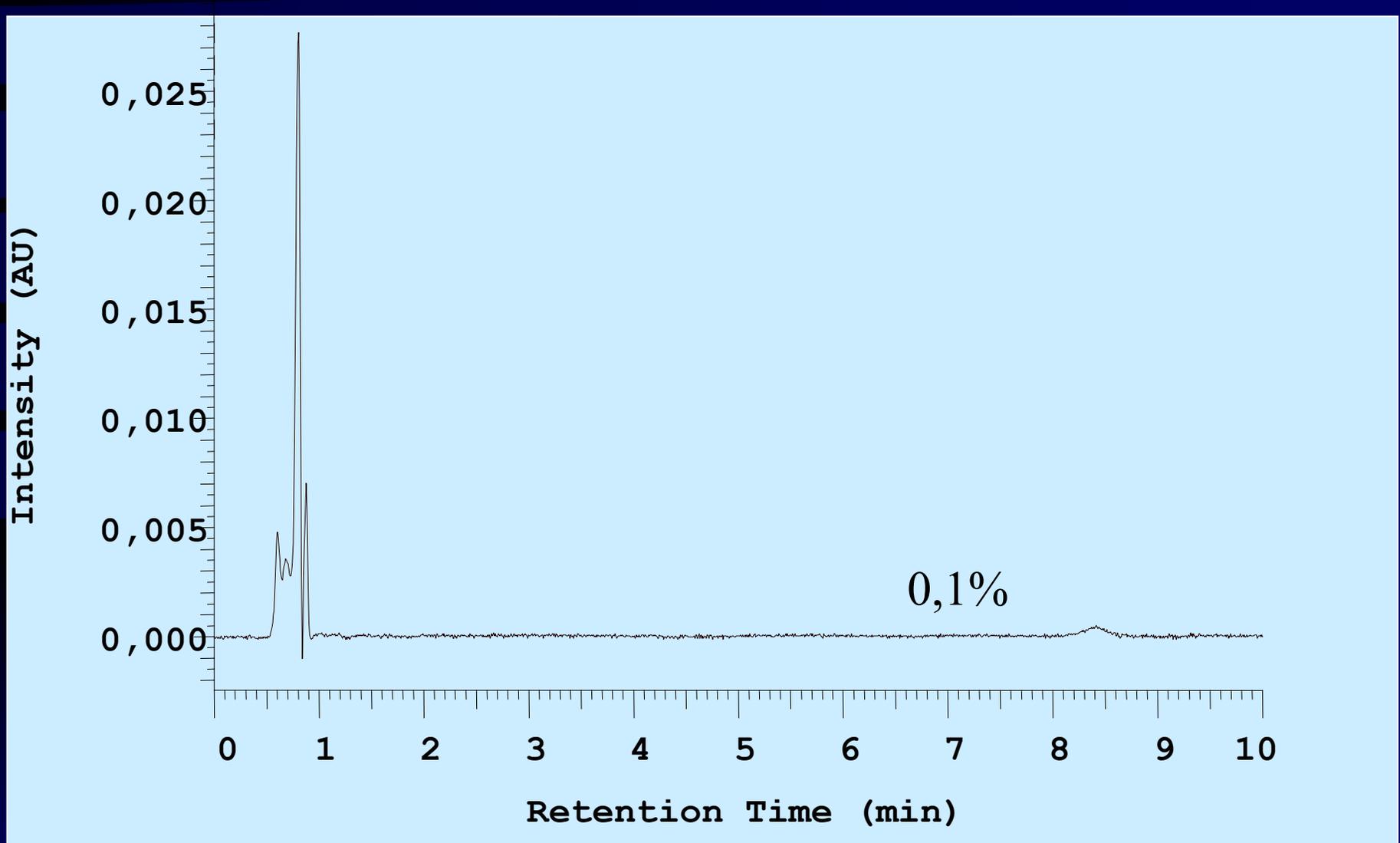
Integrationsfehler



Integrationsfehler

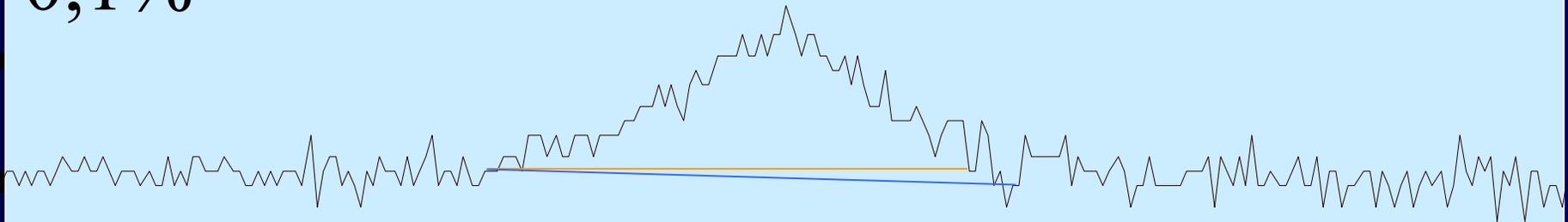


Integrationsfehler

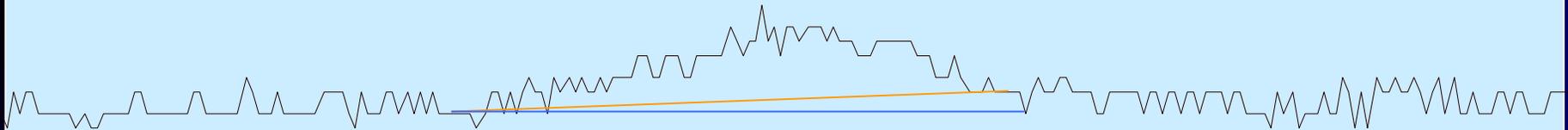


Integrationsfehler

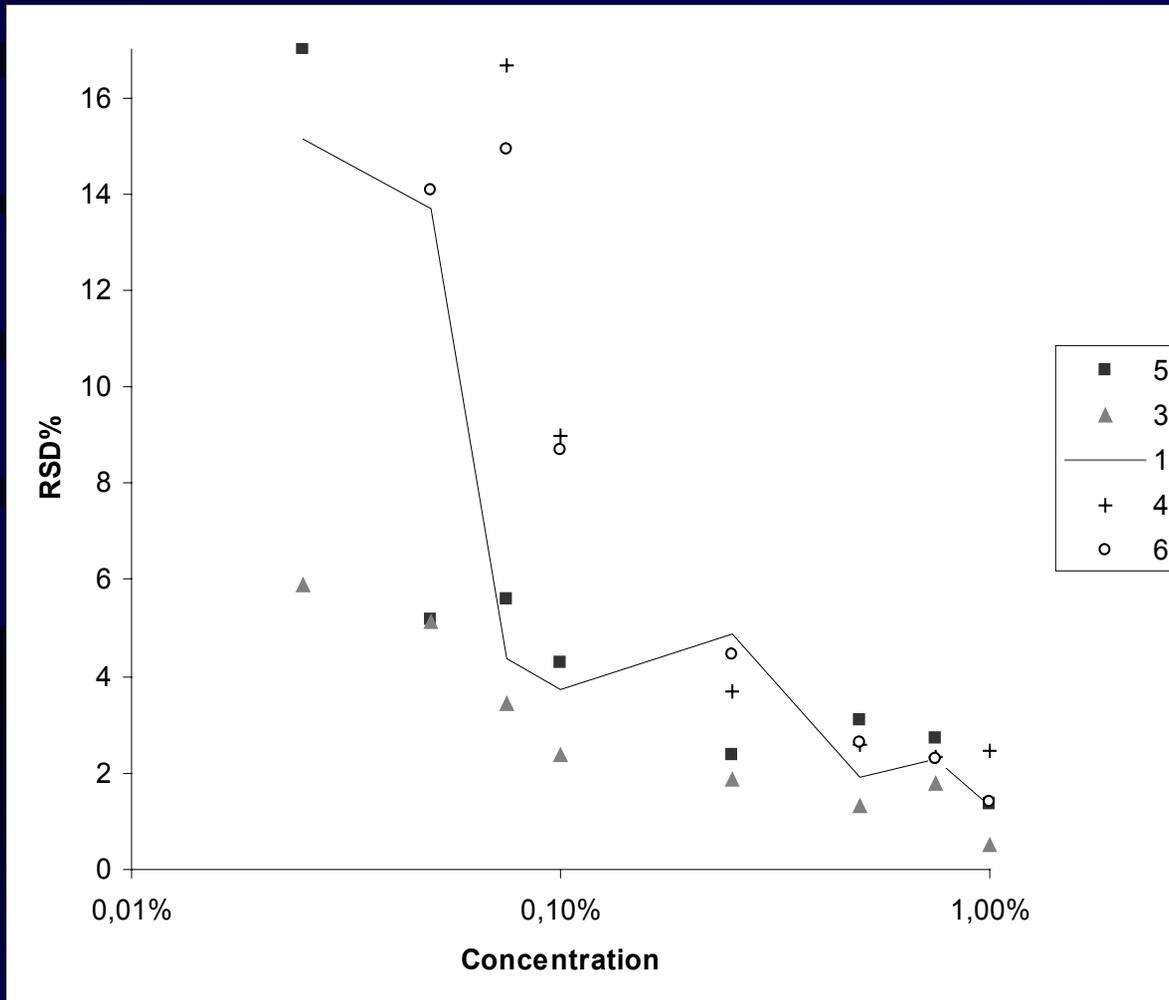
0,1%



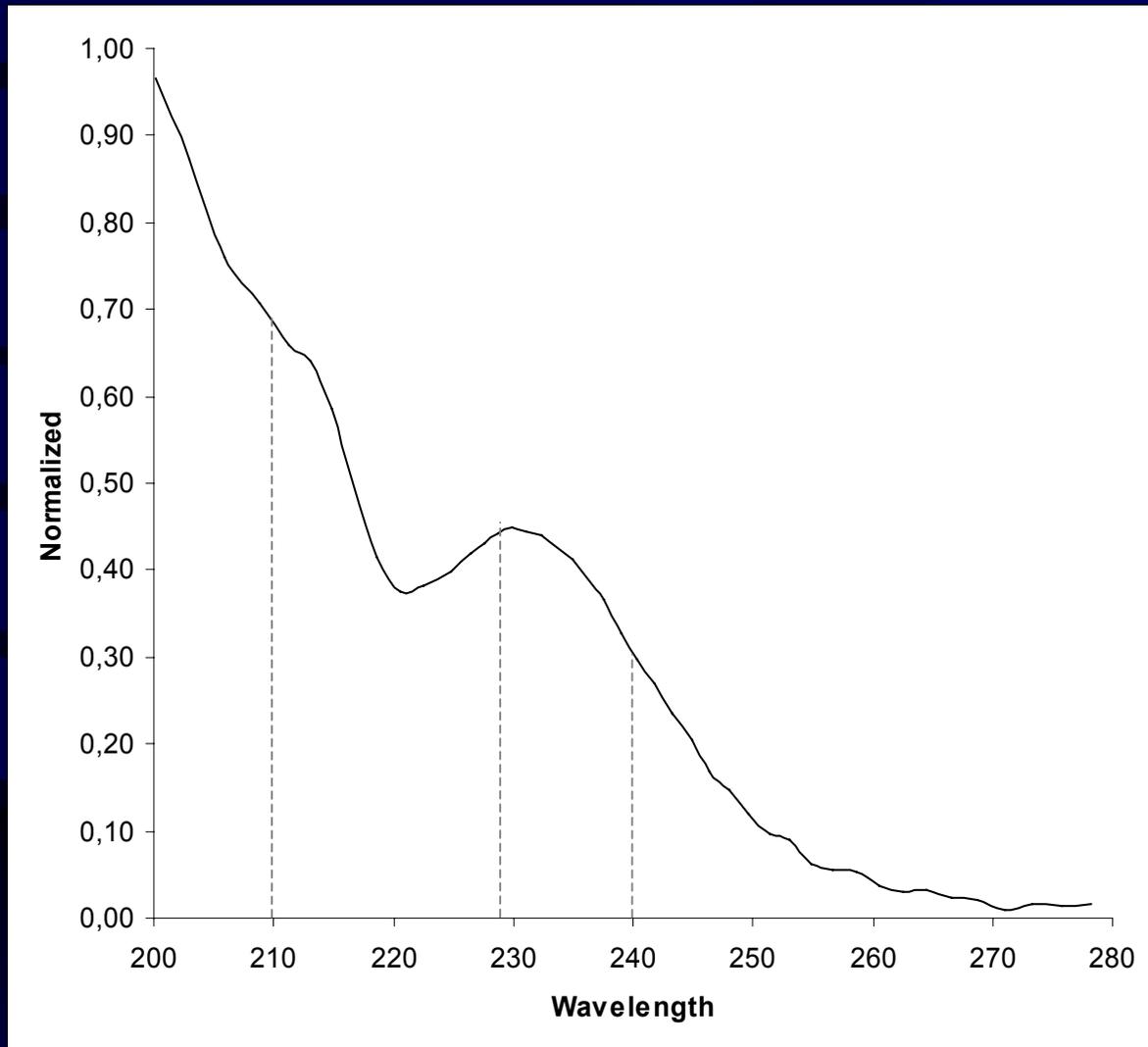
0,05%



Konzentrationsabhängigkeit für weitere Substanzen

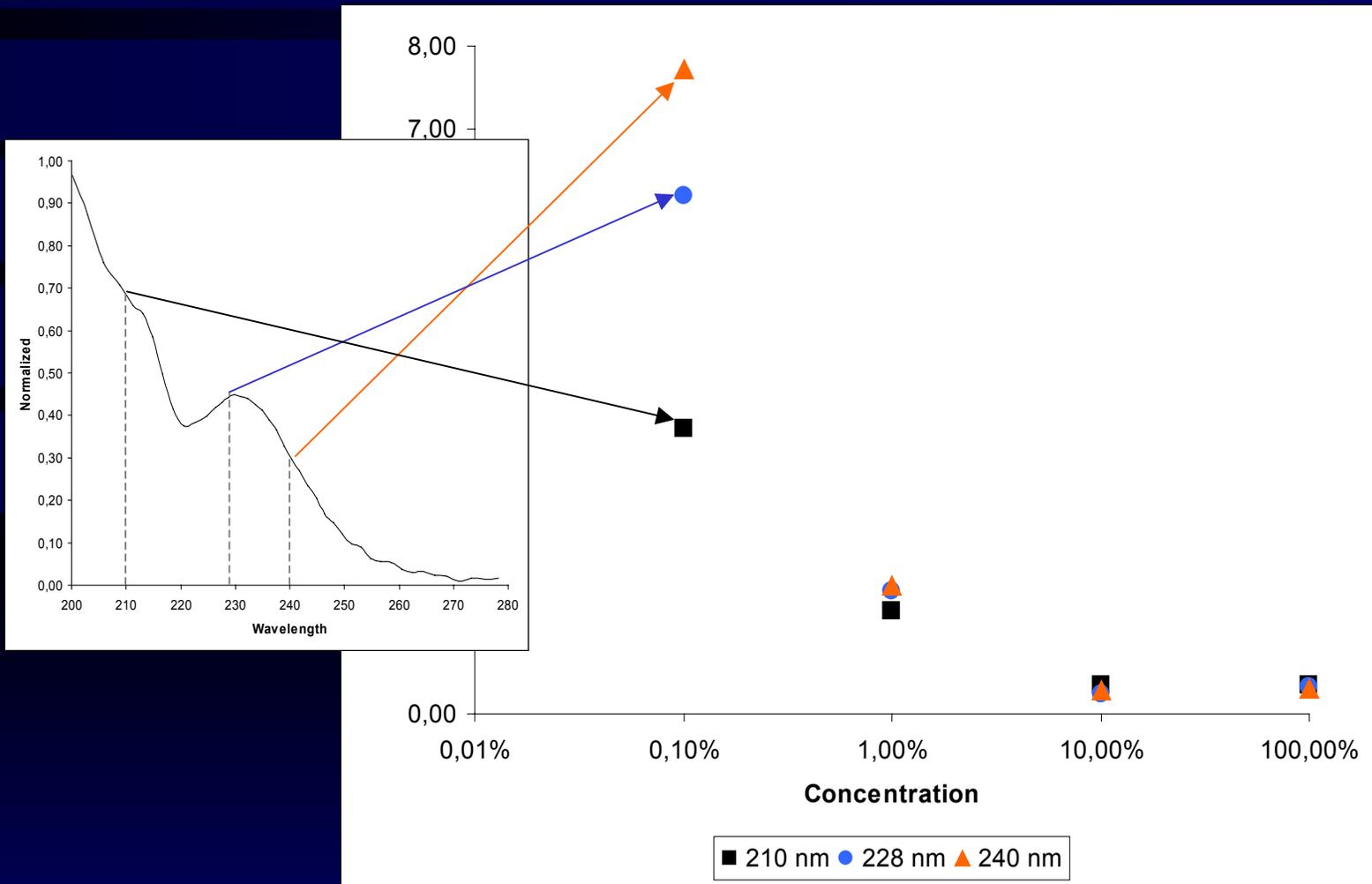


UV-Spektrum von Glibenclamid

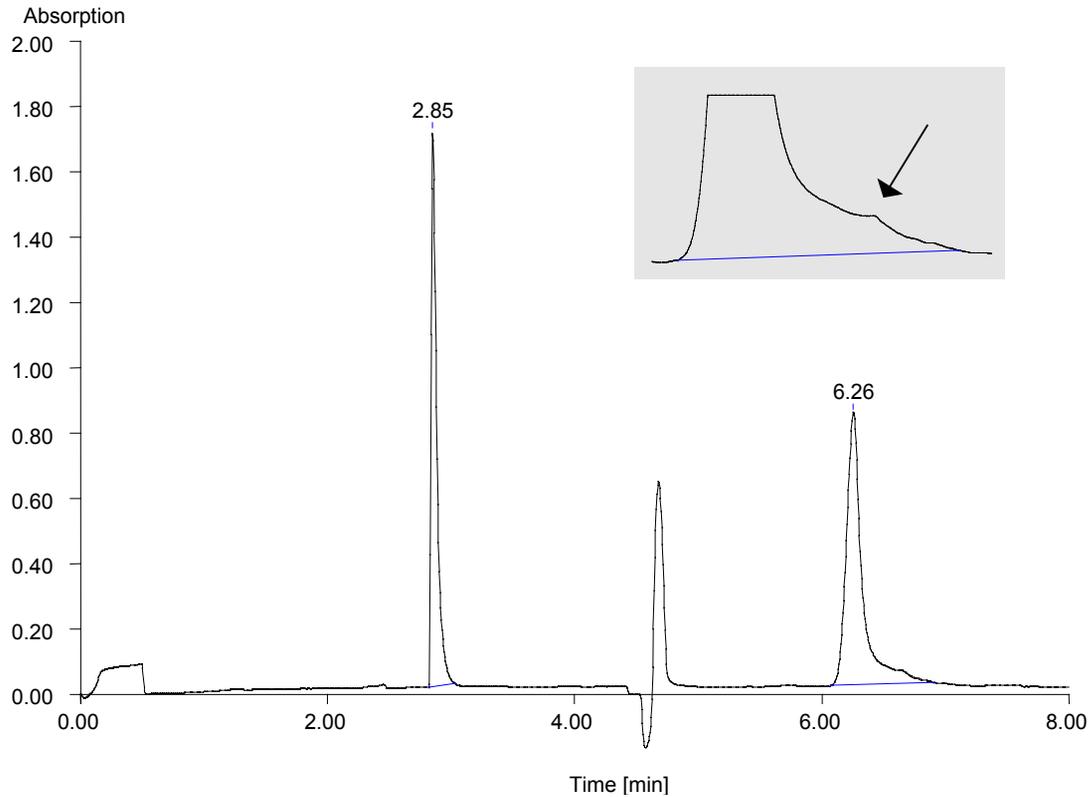


Auswertung bei 210, 228 und 240 nm

Systempräzision bei den verschiedenen Wellenlängen

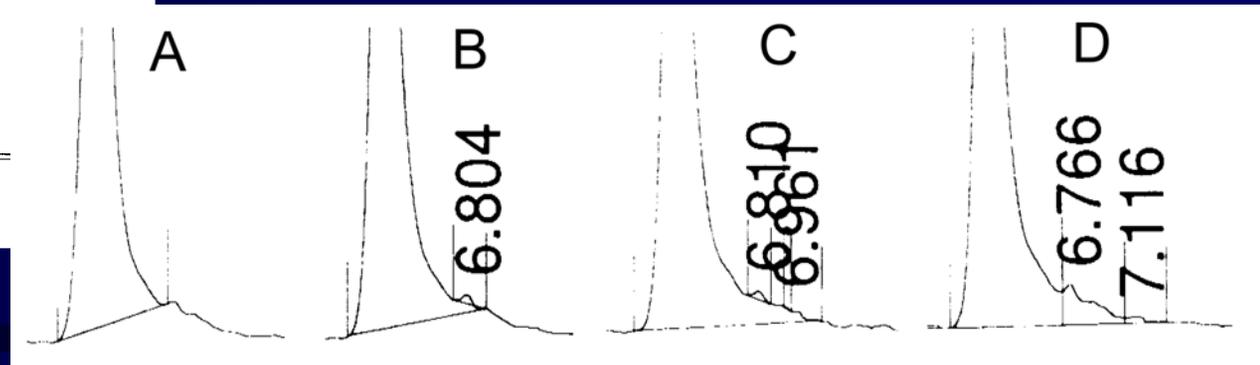
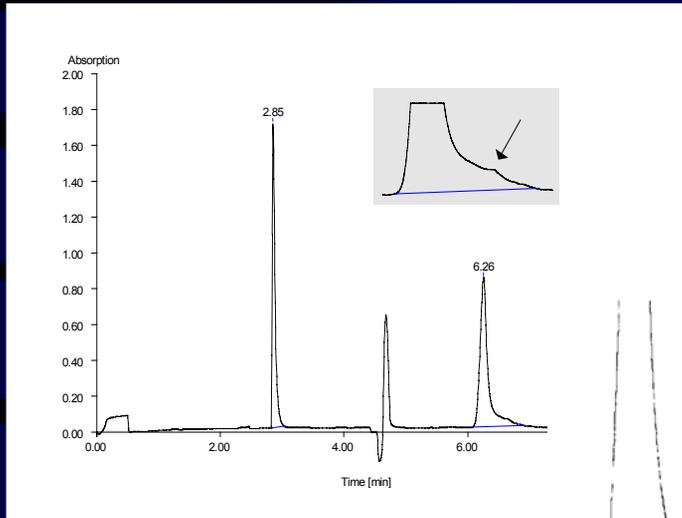


Präzision und Integrationssoftware



B. Schirm, H. Wätzig, *Chromatographia* 48, 331-346 (1998)

Präzision und Integrationssoftware



Kommerziell erhältliche Software: 2.9 - 3.5% RSD%

KISS-Software: 0.5 - 0.7% RSD%

B. Schirm, H. Wätzig, Chromatographia 48, 331-346 (1998)

Präzision in der HPLC: Schlussfolgerungen

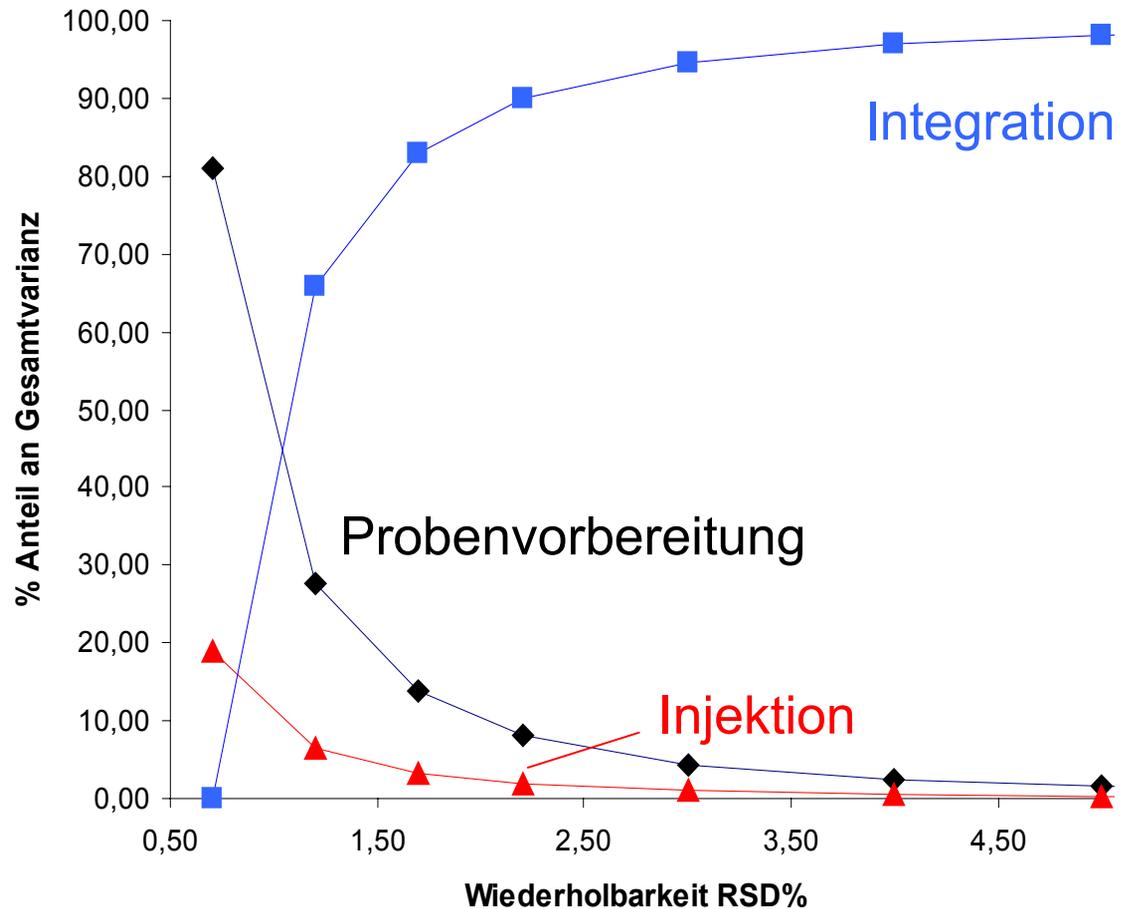
- Obere Grenze für die Wiederholbarkeit (RSD%):
etwa 2%
- TSD von 0.6% berücksichtigt den analytischen Fehler zufriedenstellend
- Obere Grenze für die Vergleichbarkeit (RSD%):
etwa 2.4%
- Weitere Verbesserung der Präzision wünschenswert (vgl. Akzeptanzkriterien)

Präzision in der HPLC: Schlussfolgerungen

- höhere Konzentrationen ($\geq 10\%$ eines deklarierten Wertes): Probenvorbereitung dominiert analytischen Fehler
- geringere Konzentrationen ($< 1\%$ eines deklarierten Wertes): Peakintegration dominiert analytischen Fehler

Präzision in der HPLC: Schlussfolgerungen

- höhere Konzentrationen ($\geq 10\%$ eines deklarierten Wertes): Probenvorbereitung dominiert analytischen Fehler
- geringere Konzentrationen ($< 1\%$ eines deklarierten Wertes): Peakintegration dominiert analytischen Fehler





Danksagung

- Brigitte Babic
- Aventis

Präzision in der HPLC: Schlussfolgerungen

- höhere Konzentrationen ($\geq 10\%$ eines deklarierten Wertes): Probenvorbereitung dominiert analytischen Fehler
- geringere Konzentrationen ($< 1\%$ eines deklarierten Wertes): Peakintegration dominiert analytischen Fehler

