



Rücker / Neugebauer / Willems

Instrumentelle pharmazeutische Analytik

Bearbeitet von Michael Neugebauer,
Gerhard K. E. Scriba und Marcus A. Hubert

5. AUFLAGE

WVG

Wissenschaftliche
Verlagsgesellschaft
Stuttgart

Rücker · Neugebauer · Willems
Instrumentelle pharmazeutische Analytik

Instrumentelle pharmazeutische Analytik

Lehrbuch zu spektroskopischen, chromatographischen, elektrochemischen und thermischen Analysenmethoden

Begründet von

Prof. Dr. Gerhard Rücker, Bonn

Priv.-Doz. Dr. Michael Neugebauer, Bonn

Dr. Günter G. Willems, Mainz

Bearbeitet von

Priv.-Doz. Dr. Michael Neugebauer, Bonn

Prof. Dr. Gerhard K. E. Scriba, Jena

Dr. Marcus A. Hubert, Bonn

Mit einer Einführung von

Dr. Helga Blasius, Remagen

5., überarbeitete Auflage

mit 249 Abbildungen und 83 Tabellen

Anschriften der Bearbeiter

Priv.-Doz. Dr. Michael Neugebauer
Pharmazeutisches Institut
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
An der Immenburg 4
53121 Bonn

Prof. Dr. Gerhard K.E. Scriba
Institut für Pharmazie
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Philosophenweg 14
07743 Jena

Dr. Marcus A. Hubert
Pharmazeutisches Institut
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
An der Immenburg 4
53121 Bonn

Ein Markenzeichen kann warenzeichenrechtlich geschützt sein, auch wenn ein Hinweis auf etwa bestehende Schutzrechte fehlt.

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet unter <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

ISBN 978-3-8047-3092-2

5., überarbeitete Auflage 2013

Jede Verwertung des Werkes außerhalb der Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Übersetzung, Nachdruck, Mikroverfilmung oder vergleichbare Verfahren sowie für die Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen.

© 2013 Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH
Birkenwaldstr. 44, 70191 Stuttgart
www.wissenschaftliche-verlagsgesellschaft.de

Printed in Germany

Satz und Druck: Tutte Druckerei & Verlagsservice GmbH, Salzweg
Umschlaggestaltung: deblik, Berlin

Vorwort zur 5. Auflage

In der pharmazeutischen Analytik nimmt die Bedeutung instrumenteller Analysemethoden ständig zu. Für die Ausbildung der Pharmaziestudierenden fehlten zunächst entsprechende Lehrbücher. Diese Lücke wurde erstmals 1988 mit dem Lehrbuch „Instrumentelle Pharmazeutische Analytik“, das die Grundlagen spektroskopischer, chromatographischer und elektrochemischer Methoden behandelte, geschlossen.

Mit der vorliegenden 5. Auflage des „Rücker-Neugebauer-Willems“ vollzieht sich ein grundlegender Wandel. Gerhard Rücker, der Initiator des Buchs, der über mehr als zwei Jahrzehnte das Kapitel der optischen und spektroskopischen Analysemethoden bearbeitet hat, zieht sich aus Altersgründen aus dem Autorenteam zurück. Mit ihm scheidet auch Günter G. Willems aus, der über denselben Zeitraum die Kapitel der elektrochemischen und später auch der thermischen Analysemethoden verfasst hat. Als Nachfolger setzen Gerhard K.E. Scriba (Pharmazeutisches Institut der Friedrich-Schiller-Universität Jena) und Marcus A. Hubert gemeinsam mit Michael Neugebauer (beide Pharmazeutisches Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn) die Bearbeitung des Werks fort. Aufgrund der langjährigen Tradition dieses Lehrbuchs wird es weiterhin unter den Namen der Begründer als „Rücker-Neugebauer-Willems“ erscheinen.

Das vorliegende Lehrbuch ist nicht nur für Studierende der Pharmazie geeignet, wenngleich besonderer Wert auf der Einführung in die Analyseverfahren für Anfänger ohne umfangreiche Grundkenntnisse gelegt wird. Im gegebenen Rahmen werden auch die Belange Fortgeschrittener wie Doktoranden oder im Beruf stehender Pharmazeuten, Chemiker und Biologen berücksichtigt, die im pharmazeutischen Umfeld instrumentelle Verfahren einsetzen.

Am Anfang des Buches erfolgt eine kurze Einführung in die rechtlichen Grundlagen zur Sicherung der Qualität von Arzneimitteln gemäß den internationalen, europäischen und nationalen Vorschriften. Weitere Kapitel sind dem sinnvollen Umgang mit Messwerten und Messergebnissen sowie der Validierung und Kalibrierung gewidmet. Die instrumentellen Methoden werden in der Regel nicht erschöpfend mathematisch bzw. physikalisch abgeleitet, sondern anwendungsbezogen erläutert. Zum leichteren Einstieg geben die den methodischen Einzelkapiteln vorangestellten Einführungen zunächst einen Überblick. Große Bedeutung wird den Methoden des Arzneibuchs bei-

gemessen. Am Ende eines jeden Kapitels ist zur weiterführenden Lektüre eine Auswahl an Literaturangaben angefügt.

Instrumentelle Verfahren unterliegen nicht nur einer ständigen Weiterentwicklung, sondern ihr Anwendungsbereich weitet sich gegenüber den klassischen Analysenverfahren zunehmend aus. Ständig werden die Methoden in der Arzneibuchanalytik verändert bzw. neue Verfahren eingeführt. Konsequenterweise spiegelt sich dies auch in der Lehre und in Prüfungen wider. Wie schon in den früheren Auflagen wurden alle in der 5. Auflage beschriebenen Analysenmethoden an die Vorschriften und Anforderungen der aktuellen Ausgabe des Arzneibuches angepasst. Bei der Aktualisierung konnten Änderungen bis einschließlich des 4. Nachtrags der 7. Ausgabe der Ph. Eur berücksichtigt werden.

Angaben, Vorschriften und die Anwendungsbereiche der instrumentellen Verfahren des Arzneibuchs wurden in allen Kapiteln umfangreich aktualisiert. Bei den optischen und spektroskopischen Analysenmethoden wurde besonders auf Weiterentwicklungen der Verfahren eingegangen. Kopplungstechniken und neue Analytoren in der Massenspektrometrie wurden ergänzt. Das Kapitel der Raman-Spektroskopie wurde erweitert, und neue Arzneibuchverfahren wie die Atomemissions- und die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma werden jetzt beschrieben. Gleiches gilt für die SDS-PAGE, die aufgrund ihrer zunehmenden Bedeutung für die Arzneibuchanalytik im elektrochemischen Teil jetzt eingehend erläutert wird.

Wie in den früheren Auflagen sind wir bemüht, uns nicht durch die Fülle des Stoffes und die teilweise sehr speziellen Grundlagen zu einer Oberflächlichkeit verleiten zu lassen, die kein Verständnis der Methoden zuließe. Dennoch kann zugunsten des Umfangs des Buches nicht in allen Fällen auf grundlegende Details einzelner Verfahren eingegangen werden, so dass hier auf die Literatur der Grundlagenfächer wie z. B. der Physikalischen Chemie verwiesen werden muss. Wir hoffen auch mit der 5. Auflage den Studierenden und in der Praxis tätigen Kollegen einen fundierten, aktuellen und verständlichen Einblick in die instrumentellen Methoden der pharmazeutischen Analytik zu geben. Die vermittelten Grundlagen sollten es in Verbindung mit den eigenen praktischen Erfahrungen ermöglichen, die Vor- und Nachteile der jeweiligen Methoden einschätzen zu können. Für Anregungen und Vorschläge sind wir jederzeit dankbar.

Der Wissenschaftlichen Verlagsgesellschaft Stuttgart, insbesondere Herrn Dr. Tim Kersebohm, danken wir für die gute Zusammenarbeit.

Bonn und Jena, im Sommer 2013

Die Verfasser

Inhaltsverzeichnis

Vorwort zur 5. Auflage	V
------------------------------	---

Charakterisierung von Analysemethoden

Verzeichnis der Symbole	2
Rechtliche Grundlagen zur Qualitätskontrolle von Arzneimitteln	3
1 Über den sinnvollen Umgang mit Messwerten und Messergebnissen	11
1.1 Ermittlung von Messwerten	11
1.2 Berechnung von Messergebnissen	13
2 Validierung und Kalibrierung	15
2.1 Validierung von Analyseverfahren	15
2.1.1 Qualitätsmerkmale für Analyseverfahren	16
2.1.2 Erfassung und Bestimmung der Qualitätsmerkmale für Analyseverfahren	20
2.1.3 Durchführung von Validierungen in der pharmazeutischen Analytik	30
2.2 Kalibrierung von Messgeräten	33
2.2.1 Empfindlichkeit von Messgeräten	34
2.2.2 Nachweisgrenze bzw. Bestimmungsgrenze bei Messgeräten	35
2.2.3 Bestimmungsgrenze bei Messgeräten	36
2.3 Abschätzung von Gesamtfehlern, Fehlerfortpflanzung	36

I

H. Blasius

M. Neugebauer
G. Rücker

Optische und spektroskopische Analysemethoden

Verzeichnis der Symbole	40
3 Einführung in die optischen und spektroskopischen Analysemethoden	41
3.1 Licht als elektromagnetische Wellenbewegung	42

II

G. Rücker
G. Scriba

3.2	Energie der elektromagnetischen Wellen	43
3.3	Spektrum der elektromagnetischen Wellen, Spektralbereiche	43
3.4	Lichtabsorption und Farbe	46
3.5	Übersicht über die spektroskopischen Analysemethoden	46
3.5.1	Atomspektroskopie und Molekülspektroskopie	47
3.5.2	Emissionsspektroskopie und Absorptionsspektroskopie	47
4	Refraktometrie	48
4.1	Grundlagen der Refraktometrie	48
4.2	Messung der Brechzahl	49
4.2.1	Grenzwinkel der Totalreflexion	49
4.2.2	Abbe-Refraktometer	50
4.3	Anwendungen der Refraktometrie in der Pharmazie ..	51
5	Chiroptische Analysemethoden	53
5.1	Polarimetrie	53
5.1.1	Grundlagen der Polarimetrie	53
5.1.2	Messung der optischen Drehung	56
5.1.3	Anwendungen der Polarimetrie in der Pharmazie	60
5.2	Zirkulardichroismus	62
5.2.1	Wirkung von zirkular polarisiertem Licht auf optisch aktive Substanzen	62
5.2.2	Definition des Zirkulardichroismus	63
5.2.3	Messgrößen für den Zirkulardichroismus	65
5.2.4	Geräte zur Messung des Zirkulardichroismus	67
5.2.5	Anwendung des Zirkulardichroismus zur Untersuchung der Stereochemie von Arzneistoffen	68
5.2.6	Qualitätskontrolle von Arzneistoffen	69
5.2.7	Anwendungen im Arzneibuch	69
5.3	Optische Rotationsdispersion, Cotton-Effekt	70
5.3.1	Normale optische Rotationsdispersion	70
5.3.2	Anomale Rotationsdispersion, Cotton-Effekt	71
6	Einführung in die atomspektroskopischen Analysemethoden	73
6.1	Thermische Anregung von Atomen	73
6.2	Vorgänge in der Flamme	74
6.3	Elektronenanregung und Lichtemission des Natriums	75
7	Spektralanalyse	76
7.1	Prinzip der Spektralanalyse	76
7.2	Messgeräte zur Spektralanalyse	76
7.3	Anwendungen der Spektralanalyse in der Pharmazie .	77

8	Atomemissionsspektroskopie, Flammenphotometrie	78
8.1	Prinzip der Flammenphotometrie	78
8.1.1	Quantitative Auswertung der Lichtemission	78
8.2	Messgeräte zur Flammenphotometrie	80
8.3	Anwendungen der Flammenphotometrie in der Pharmazie	81
8.4	Emissionsspektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma	84
9	Atomabsorptionsspektroskopie	88
9.1	Grundlagen der Atomabsorptionsspektroskopie	88
9.1.1	Lichtabsorption durch Atome, Resonanzabsorption . .	88
9.1.2	Messgrößen der Atomabsorptionsspektroskopie	88
9.2	Messgeräte zur Atomabsorptionsspektroskopie	89
9.3	Anwendungen der Atomabsorptionsspektroskopie in der Pharmazie	91
10	Einführung in die Molekülspektroskopie	95
10.1	Wechselwirkungen von Licht mit organischen Molekülen	95
10.1.1	Ionisation	96
10.1.2	Elektronenanregung	97
10.1.3	Molekülschwingungen	98
10.1.4	Molekülrotationen	98
10.2	Absorptionsspektrum, Absorptionsbanden	99
10.3	Messgrößen für die Lichtabsorption	100
10.3.1	Transmission	101
10.3.2	Absorption	101
10.4	Lambert-Beer'sches Gesetz	102
10.4.1	Bouguer-Lambert'sches Gesetz	102
10.4.2	Beer'sches Gesetz	102
10.4.3	Kombiniertes Bouguer-Lambert-Beer'sches Gesetz, molarer Absorptionskoeffizient	102
10.4.4	Anwendungen des Lambert-Beer'schen Gesetzes	103
10.4.5	Herleitung des Lambert-Beer'schen Gesetzes	104
10.5	Grundsätzlicher Aufbau von Absorptionsspektrometern	105
11	UV-Vis-Spektroskopie	108
11.1	Grundlagen der UV-Vis-Spektroskopie	108
11.1.1	Chromophores System, Elektronenübergänge	108
11.1.2	Jablonski-Termschema	109
11.1.3	Verbotene Elektronenübergänge	110
11.1.4	Aussehen der Absorptionsbanden, Feinstruktur	110
11.2	Chromophore aus π -Elektronen	112
11.2.1	Alkene, Polyene	112
11.2.2	Alkine	116

11.2.3	Aromaten	117
11.2.4	Unterscheidung von Polyenen, Polyinen und Aromaten	119
11.3	Chromophore aus π - und n-Elektronen	119
11.3.1	Gesättigte Carbonylverbindungen	120
11.3.2	Ungesättigte Carbonylverbindungen	120
11.3.3	Heterocyclische Verbindungen	124
11.3.4	Substanzen mit mehreren voneinander unabhängigen Chromophoren	125
11.4	Anwendungen der UV-Vis-Spektroskopie in der Pharmazie	126
11.4.1	Durchführung von Messungen im UV-Vis-Bereich	126
11.4.2	Anwendung der UV-Vis-Spektroskopie zur Strukturaufklärung	135
11.4.3	Anwendung der UV-Vis-Spektroskopie zur Analyse von Arzneimitteln	137
11.4.4	Photometrische Bestimmung von Arzneistoffen in Gemischen; Mehrkomponentenanalysen	148
11.4.5	Charge-Transfer-Spektren	150
11.4.6	Photometrische Bestimmungen in biologischem Material	151
11.4.7	Stabilitätsuntersuchungen an Arzneistoffen	157
11.4.8	Differentialspektroskopie, Derivativspektroskopie, Ableitungsspektroskopie	157
11.4.9	Untersuchung von Reaktionsabläufen, Isosbestische Punkte	160
12	Fluorimetrie	169
12.1	Grundlagen der Fluorimetrie	169
12.1.1	Anregungsspektrum und Fluoreszenzspektrum	169
12.1.2	Fluoreszenzintensität	170
12.1.3	Fluoreszenz und Struktur	171
12.2	Messung der Fluoreszenz	173
12.2.1	Messgeräte	173
12.2.2	Lösungsmittel	174
12.2.3	Lumineszenzminderung zur Detektion von Substanzen auf der Dünnschichtplatte	175
12.3	Anwendungen der Fluorimetrie in der Pharmazie	175
12.3.1	Identitätsprüfung von Arzneistoffen	176
12.3.2	Reinheitsprüfung von Arzneistoffen	176
12.3.3	Gehaltsbestimmung von Arzneistoffen	177
12.3.4	Analyse von biologischem Material	178
12.3.5	Kopplungen der Fluorimetrie mit chromatographischen Verfahren	179
12.4	Lumineszenzmethoden durch andere Anregungsarten	179
12.4.1	Chemilumineszenz	179
12.4.2	Röntgenfluoreszenzspektroskopie	180

13	IR-Spektroskopie, Raman-Spektroskopie	181
13.1	Prinzip der IR-Spektroskopie	181
13.2	Grundlagen der IR-Spektroskopie	181
13.2.1	Infraroter Bereich des Spektrums der elektromagnetischen Wellen	181
13.2.2	Molekülschwingungen	182
13.3	Praktische IR-Spektroskopie	188
13.3.1	IR-Spektrum	188
13.3.2	IR-Spektrometer	189
13.3.3	Messung von IR-Spektren	190
13.3.4	Charakterisierung der Molekülschwingungen	197
13.4	Anwendungen der IR-Spektroskopie in der Pharmazie	198
13.4.1	Kontrolle und Optimierung von IR-Spektrometern nach dem Arzneibuch	199
13.4.2	Strukturaufklärung	200
13.4.3	Analyse von Arzneimitteln	215
13.4.4	Weitere Anwendungen der IR-Spektroskopie	219
13.5	Nicht-dispersive IR-Spektroskopie, NDIR-Spektroskopie	220
13.6	Spektroskopie im Nahen IR-Bereich, NIR-Spektroskopie	221
13.7	Raman-Spektroskopie	227
13.7.1	Grundlagen und Theorie der Raman-Spektroskopie ..	227
13.7.2	Aufbau des Raman-Spektrometers	231
13.7.3	Weitere Techniken der Raman-Spektroskopie	233
13.7.4	Anwendung der Raman-Spektroskopie	234
14	¹H-NMR-Spektroskopie	237
14.1	Prinzip der Kernresonanzspektroskopie	237
14.1.1	Kernspin und magnetisches Moment von Atomkernen	238
14.2	Grundlagen der ¹ H-NMR-Spektroskopie	240
14.2.1	Verhalten der Wasserstoffkerne im Magnetfeld Kreiselmodell	240
14.2.2	Energieniveaus der Wasserstoffkerne im Magnetfeld ..	241
14.2.3	Larmor-Gleichung	243
14.2.4	Besetzungsunterschied und Magnetisierung	243
14.2.5	Kernresonanz, Quermagnetisierung und Kerninduktion	244
14.2.6	Relaxation und Relaxationszeit	246
14.2.7	Messung der Kernresonanz	247
14.3	¹ H-NMR-Spektrum	252
14.3.1	Chemische Verschiebung	252
14.3.2	Integrationskurve	261
14.3.3	Spin-Spin-Kopplung	262
14.4	Anwendungen der ¹ H-NMR-Spektroskopie in der Pharmazie	276

14.4.1	Kontrolle und Optimierung des ^1H -NMR-Spektrometers nach dem Arzneibuch	277
14.4.2	Durchführung von ^1H -NMR-Messungen nach dem Arzneibuch	278
14.4.3	Strukturaufklärung	278
14.4.4	Konformationsanalyse von Arzneistoffen	284
14.4.5	Untersuchungen des Zustandes von Arzneistoffen in Lösung	285
14.4.6	Identifizierung, Reinheitsprüfung und quantitative Bestimmung von Arzneistoffen	290
14.4.7	Untersuchungen über Struktur und Wirkung von Arzneistoffen	291
14.4.8	Kopplung HPLC-NMR-Spektroskopie	291
15	^{13}C-NMR-Spektroskopie	293
15.1	Prinzip der ^{13}C -NMR-Spektroskopie	293
15.1.1	Resonanzfrequenz der ^{13}C -Atome	293
15.2	Chemische Verschiebung der ^{13}C -Atome	293
15.2.1	Einfluss des Hybridisierungsgrades	294
15.2.2	Substituenteneinflüsse und γ -Effekt	295
15.2.3	Einfluss der Elektronendichte	297
15.2.4	Inkrement-Regeln zur Abschätzung von ^{13}C -Verschiebungen	298
15.3	Spin-Kopplungen	307
15.3.1	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -Kopplungen	308
15.3.2	Andere heteronukleare Kopplungen	309
15.4	Entkopplungsverfahren in der ^{13}C -NMR-Spektroskopie	310
15.4.1	Protonen-Breitband-Entkopplung	310
15.4.2	Protonen-Off-Resonance-Entkopplung	311
15.4.3	Selektive ^1H -Entkopplungen	311
15.4.4	Gepulste Protonen-Entkopplung	311
15.5	Integration von ^{13}C -Signalen	313
15.6	^{13}C -NMR-Spektroskopie durch Pulsfolgen	313
15.6.1	Eindimensionale (1D)- ^{13}C -NMR-Spektroskopie	314
15.6.2	Zweidimensionale (2D)- ^{13}C -NMR-Spektroskopie	315
15.7	Anwendungen der ^{13}C -NMR-Spektroskopie in der Pharmazie	317
15.8	NMR-Spektroskopie zur Untersuchung lebender Gewebe	318
15.8.1	Klinische NMR-Spektroskopie, <i>In-vivo</i> -Spektroskopie	318
15.8.2	^1H -NMR-Tomographie, Kernspin-Tomographie. Protonen-Imaging (MRT, MRI)	320
15.9	Festkörper-NMR	321
16	Massenspektrometrie	323
16.1	Prinzip der Massenspektrometrie	323

16.1.1	Grundvorgänge der Massenspektrometrie	323
16.1.2	Masseneinheiten	324
16.2	Grundlagen der Massenspektrometrie durch Elektronenstoß-Ionisation, EI-Massenspektrometrie . .	325
16.2.1	Ionisierung durch Elektronenstoß – Bildung von Molekülionen	326
16.2.2	Zerfall der Molekülionen; Fragmentierung	327
16.2.3	Massenspektrum	331
16.2.4	Aufbau des EI-Massenspektrometers	332
16.2.5	Fragmentierungsreaktionen in der EI-Massenspektrometrie	339
16.3	Anwendung der EI-Massenspektrometrie zur Strukturaufklärung	349
16.3.1	Interpretation von EI-Massenspektren	349
16.3.2	Formulierung massenspektrometrischer Zerfallsreaktionen	356
16.3.3	Verlauf der Auswertung von EI-Massenspektren	360
16.4	Massenspektrometrie mit anderen Ionisationsmethoden	363
16.5	Analysatoren in der Massenspektrometrie	377
16.5.1	Elektrostatische Analysatoren	378
16.5.2	Quadrupol-Analysatoren	378
16.5.3	Flugzeit-Analysatoren	379
16.5.4	Ionenfallen-Analysatoren	381
16.5.5	Fouriertransformations-Ionen-Zyklotron-Resonanz- Analysatoren	383
16.5.6	Orbital-Ionenfalle	383
16.6	Spezielle Methoden in der Massenspektrometrie	384
16.6.1	Kombination von Analysatoren	384
16.6.2	Kopplung der Massenspektrometrie mit Trennverfahren	387
16.6.3	Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma	389
16.7	Anwendung der Massenspektrometrie in der Pharmazie	390
17	Radiochemische Analysenverfahren	394
17.1	Grundlagen radiochemischer Messmethoden	394
17.1.1	Zerfallsgesetz und Halbwertszeit	394
17.2	Messgrößen für radioaktive Strahlung	396
17.3	Messgeräte zur Messung radioaktiver Strahlung	397
17.3.1	Ionisationsdetektoren	397
17.3.2	Szintillationsdetektoren	401
17.3.3	Halbleiterzähler	402
17.4	Gammaspektrometrie	403
17.5	Anwendung radiochemischer Analysenmethoden in der Pharmazie	404
17.5.1	Analytik von Radiopharmaka	404
17.5.2	Isotopenverdünnungsanalyse	407
17.5.3	Radioimmunoassay	407

17.5.4	Tracer-Methoden	409
17.5.5	Neutronenaktivierungsanalyse	409
17.5.6	Medizinische Anwendungen	409

III

M. Neugebauer

Chromatographische Analysenmethoden

	Verzeichnis der Symbole	414
18	Einführung in die chromatographischen Methoden	415
18.1	Chromatographische Trennmechanismen	417
18.2	Chromatographische Symbole und Kenngrößen	421
18.2.1	Retentionsdaten	421
18.2.2	Kenngrößen zur Beschreibung von Peakform und Trennqualität	422
18.2.3	Quantitative Kenngrößen und Methoden	434
18.2.4	Zusammenfassung: Parameter zur Beschreibung von Chromatogrammen	438
18.3	Häufig verwendete Abkürzungen	440
19	Gaschromatographie	441
19.1	Prinzip der Gaschromatographie	441
19.2	Aufbau des Gaschromatographen	442
19.2.1	Probenaufgabesysteme	443
19.2.2	Trennsäulen	446
19.2.3	Detektoren	453
19.2.4	Signalregistrierung, Integratoren	457
19.3	Durchführung gaschromatographischer Analysen	458
19.3.1	Auswahl der Trennbedingungen	458
19.3.2	Praktische Durchführung	461
19.3.3	Derivatisierungen	461
19.4	Auswertung des Gaschromatogramms	463
19.4.1	Retentionsindizes	464
19.4.2	Quantitative Bestimmungen	465
19.5	Anwendung der Gaschromatographie in der Pharmazie	468
19.5.1	Anwendungen der Gaschromatographie im Arzneibuch	468
20	Hochleistungs-Flüssigchromatographie	472
20.1	Prinzip der Hochleistungs-Flüssigchromatographie	472
20.2	Aufbau von Geräten zur Hochleistungs-Flüssigchromatographie	474
20.2.1	Elutionsmittel	476
20.2.2	Pumpen	477
20.2.3	Gradientenmischer	477

20.2.4	Probeneinlasssystem	478
20.2.5	Trennsäulen	479
20.2.6	Säulenfüllung und Trennmaterialien	480
20.2.7	Detektoren	483
20.3	Durchführung flüssigchromatographischer Analysen	487
20.3.1	Die Trennverfahren der Hochleistungs- Flüssigchromatographie	487
20.3.2	Auswahl der Trennbedingungen	493
20.3.3	Elutionsgeschwindigkeit	494
20.3.4	Temperatureinflüsse	495
20.3.5	Elutionsmittelgradienten	495
20.4	Anwendungen der Hochleistungs-Flüssig- chromatographie in der Pharmazie	497
20.4.1	Anwendungen der Hochleistungs-Flüssig- chromatographie im Arzneibuch	497
21	Dünnschichtchromatographie	500
21.1	Prinzip der Dünnschichtchromatographie	500
21.1.1	Geräte und Materialien zur Durchführung der Dünnschichtchromatographie	501
21.1.2	Durchführung der Dünnschichtchromatographie	504
21.1.3	Anwendung der Dünnschichtchromatographie in der Pharmazie	508
21.2	Prinzip der quantitativen Dünnschicht- chromatographie	510
21.2.1	Messgeräte und Messprinzip der quantitativen Dünnschichtchromatographie	511
21.2.2	Durchführung quantitativer, dünnschicht- chromatographischer Messungen	512
21.2.3	Fehlermöglichkeiten	516
21.2.4	Anwendung der quantitativen Dünnschicht- chromatographie in der Pharmazie	517

Elektrochemische Analysemethoden

	Verzeichnis der Symbole	520
22	Allgemeine Einführung in die Elektrochemie	524
22.1	Elektrodenvorgänge	524
22.2	Elektrodenpotentiale; Nernst'sche Gleichung	526
22.3	Arten von Elektroden	528
22.3.1	Metall(ionen)elektroden	528
22.3.2	Gaselektroden	531
22.3.3	Redoxelektroden	532

IV

G. G. Willems
M. A. Hubert

22.4	Elektrochemische Zellen	533
22.4.1	Aufbau der galvanischen Zelle	534
22.4.2	Spannung der galvanischen Zelle; Elektrochemische Spannungsreihe	535
22.4.3	Elektrolytische Umsetzungen	538
22.4.4	Elektrolytische Leitfähigkeit	546
22.4.5	Anhang: Ein Ersatzschaltbild der elektrochemischen Zelle	550
23	Potentiometrie	553
23.1	Grundlagen der Direktpotentiometrie	553
23.1.1	Messung von pH-Werten	554
23.1.2	Konzentrationsbestimmungen mit ionenspezifischen Elektroden	558
23.2	Durchführung direktpotentiometrischer Messungen ..	563
23.3	Grundlagen potentiometrischer Titrationsen	565
23.3.1	Säure-Base-Titrationsen	566
23.3.2	Fällungstitrationsen	568
23.3.3	Komplexometrische Titrationsen	571
23.3.4	Redoxstitrationsen	571
23.4	Durchführung potentiometrischer Titrationsen	574
23.5	Pharmazeutische Anwendungen potentiometrischer Titrationsen	578
24	Elektrogravimetrie	585
24.1	Grundlagen der Elektrogravimetrie	585
24.2	Instrumentelle Anordnung und Durchführung elektrogravimetrischer Bestimmungen	589
24.3	Anwendungsbereich der Elektrogravimetrie	591
25	Coulometrie	594
25.1	Grundlagen der Coulometrie	595
25.2	Durchführung coulometrischer Bestimmungen	598
25.3	Instrumentelle Anordnung	599
25.4	Anwendungen der Coulometrie	601
26	Voltammetrische Verfahren; Polarographie	604
26.1	Einführung in die Voltammetrie und Polarographie ..	604
26.2	Grundlagen der Voltammetrie	608
26.2.1	Grundlagen der Gleichspannungspolarographie	608
26.2.2	Grundlagen der Voltammetrie an stationären Elektroden	612
26.2.3	Der voltammetrische Grundstrom	613

26.2.4	Auswertung voltammetrischer Strom-Spannungs- Kurven; Simultanbestimmungen	616
26.2.5	Voltammogramme bei nichtreversiblen Elektrodenvorgängen	617
26.2.6	Cyclische Voltammetrie	619
26.3	Durchführung voltammetrischer Bestimmungen	620
26.3.1	Voltammetrische Zellen	620
26.3.2	Instrumentelle Anordnung	622
26.3.3	Experimentelle Durchführung	623
26.4	Anwendungen der Voltammetrie	623
26.4.1	Voltammetrie anorganischer Substanzen	624
26.4.2	Voltammetrie organischer Verbindungen	627
26.4.3	Voltammetrie in der pharmazeutischen Analytik	635
26.5	Anhang: Spezielle voltammetrische Verfahren	636
26.5.1	Inverse Voltammetrie	636
26.5.2	Pulsverfahren	637
26.5.3	Wechselspannungsvoltammetrie	639
27	Amperometrie und Voltammetrie	643
27.1	Einführung in die amperometrischen und voltammetrischen Indizierungsverfahren	643
27.2	Grundlagen und Anwendungsbereiche der amperometrischen und voltammetrischen Verfahren	645
27.2.1	Amperometrie mit einer Indikatorelektrode	645
27.2.2	Amperometrie mit zwei Indikatorelektroden	650
27.2.3	Voltammetrie mit einer Indikatorelektrode	654
27.2.4	Voltammetrie mit zwei Indikatorelektroden	655
27.3	Durchführung amperometrischer und voltammetrischer Titrationen mit einer und mit zwei Indikatorelektroden	657
27.3.1	Messanordnungen und experimentelle Durchführung	657
27.3.2	Elektroden und Zellen	658
27.3.3	Durchführung amperometrischer Methoden des Arzneibuchs	659
27.4	Pharmazeutische Anwendungen amperometrischer und voltammetrischer Indizierungsmethoden	661
28	Konduktometrie	664
28.1	Grundlagen der Konduktometrie	664
28.2	Durchführung konduktometrischer Messungen	665
28.2.1	Instrumentelle Anordnung	666
28.2.2	Messzellen	666
28.3	Anwendungen der Konduktometrie	668
28.3.1	Absolute Leitfähigkeitsmessungen	668
28.3.2	Konduktometrische Titrationen	668

29	Elektrophoretische Verfahren	674
29.1	Grundlagen elektrophoretischer Verfahren	684
29.2	Durchführung elektrophoretischer Verfahren	686
29.3	Anwendungen elektrophoretischer Verfahren	690

V

G. G. Willems
M. A. Hubert

Thermische Analysenmethoden

	Verzeichnis der Symbole	694
30	Grundlagen der thermischen Analysenmethoden	695
30.1	Einführung in die Methoden	695
30.2	Grundprinzipien	697
30.3	Modifikationsübergänge und Thermodynamik	699
31	Thermogravimetrie	702
31.1	Grundlagen der Thermogravimetrie	702
31.2	Durchführung der Thermogravimetrie	702
31.3	Anwendungen der Thermogravimetrie	705
32	Thermoanalyse, Differenzthermoanalyse	708
32.1	Grundlagen der Thermoanalyse	708
32.2	Durchführung der Differenzthermoanalyse	708
32.3	Anwendungen der Differenzthermoanalyse	710
33	Kalorimetrische Verfahren	711
33.1	Grundlagen der Dynamischen Differenz-Kalorimetrie	711
33.2	Durchführung der Dynamischen Differenz- Kalorimetrie	712
33.3	Anwendungen der Dynamischen Differenz- Kalorimetrie	714
33.4	Kopplungssysteme	718
	Sachregister	721
	Die Bearbeiter	734

Charakterisierung von Analysemethoden



Verzeichnis der Symbole

Teil I: Charakterisierung von Analysemethoden

a	Abschnitt auf der y -Achse der Kalibriergeraden	n	Anzahl der Messungen
b	Steigung der Kalibriergeraden (Regressionskoeffizient)	μ	richtiger Wert einer Analyse
b	Kalibrierempfindlichkeit von Messgeräten	r	linearer Korrelationskoeffizient
c	Konzentration	s	absolute Standardabweichung
C_m	Grenzkonzentration	s_{rel}	relative Standardabweichung
E	Empfindlichkeit	s^2	Varianz
F	Testgröße der F -Verteilung	s_R	Standardabweichung der Rauschsignale
F	absoluter Gesamtfehler	s_t	totale Standardabweichung
F_{rel}	relativer Gesamtfehler	S_m	Messsignal einer Substanz
f	um 1 verminderte Zahl der Bestimmungen ($n - 1$)	S_R	Mittelwert der Rauschsignale
f	absoluter Fehler der Teilschritte	$t_{\text{ber.}}$	Testgröße für den t -Test
f_{rel}	relativer Fehler der Teilschritte	Vk	Variationskoeffizient
γ	analytische Empfindlichkeit von Messgeräten	\bar{x}	arithmetischer Mittelwert der Messwerte
k	Faktor	x_i	Messwerte, Konzentrationswerte
ΔM	Änderung der Messwerte	Δx	Fehler einer Messung
		\bar{y}	arithmetischer Mittelwert von Messwerten
		y_i	Messwerte

Rechtliche Grundlagen zur Qualitätskontrolle von Arzneimitteln

Übersicht

Welche Prüfungen an Arzneimitteln zur Anwendung am Menschen durchgeführt werden müssen, bestimmen im EU-Binnenmarkt der europäischen **Kodex für Humanarzneimittel, das heißt die Richtlinie 2001/83 zu Humanarzneimitteln** (Lit. 1) sowie die **europäische Prüfrichtlinie im Anhang I zu dieser Richtlinie**: Rechts- und Verwaltungsvorschriften über die analytischen, toxikologisch, pharmakologischen und ärztlichen oder klinischen Vorschriften und Nachweise über Versuche mit Arzneimitteln. Die Vorschriften sind in Deutschland im Arzneimittelgesetz (Lit. 2) und in den Arzneimittelprüfrichtlinien gemäß § 26 AMG (Lit. 3) in nationales Recht umgesetzt. Weitere Detailvorschriften (Leitlinien und Empfehlungen) zu einzelnen Prüfungen sind im europäischen Regelwerk für Arzneimittel (Eudralex) in Band 3 (Humanarzneimittel) enthalten (Lit. 4, 5).

Diese bilden die Grundlage für eine harmonisierte Implementierung der europäisch und im Rahmen der International Conference on Harmonisation (ICH) zwischen der EU, den USA und Japan auch weitgehend international harmonisierten Anforderungen an die Prüfung der Qualität von Arzneimitteln. Die Beachtung der Guidelines wird dringend empfohlen. Abweichungen von ihren Inhalten sind zwar möglich, müssen aber im Antrag auf Zulassung oder Registrierung eines Arzneimittels begründet werden.

Die Guidelines zur Qualität befassen sich vor allem mit den Themenbereichen: Wirkstoffe, Herstellung, Verunreinigungen, Spezifikationen, analytische Verfahren und analytische Validierung, Hilfsstoffe, Packmittel, Stabilität und pharmazeutische Entwicklung.

Bedeutsam für die Sicherstellung einer angemessenen Arzneimittelqualität sind zudem die **Grundsätze der guten Herstellungspraxis (GMP)**, die die Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle einschließen. Sie sind in den Mitgliedstaaten der Europäischen Union verbindlich anzuwenden (Lit. 6). Nähere Einzelheiten sind EU-weit im **EG-GMP-Leitfaden** (Band 4 Eudralex) festgelegt (Lit. 7). Dieses umfangreiche Dokument, das erstmals im Jahr 1989 herausgegeben wurde und das in keinem Pharmaunternehmen, Herstellungsbetrieb und Kontrolllabor fehlen darf, hat zahlreiche Anhänge und wird ständig an den Stand von Wissenschaft und Technik angepasst. Seine wesentlichen Inhalte sind im deutschen Arzneimittelrecht in der **Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung (AMWHV)** von November 2006 implementiert (Lit. 8).

Vorschriften für die Prüfung von Arzneimitteln

Grundsätze der guten Herstellungspraxis (GMP)

Analytische Vorschriften

In dem vorliegenden Buch werden die instrumentell-analytischen Methoden für die Prüfung von Arzneistoffen, Hilfsstoffen und Fertigarzneimitteln behandelt. Dazu bilden die Arzneibücher (**DAB, Ph. Eur., HAB**) sowie der **Deutsche Arzneimittel-Codex (DAC)** eine wichtige Grundlage. Sofern nicht auf ein Arzneibuch zurückgegriffen werden kann, müssen für die Kontrolle der Qualität von Arzneistoffen, Wirkstoffen oder Fertigarzneimitteln eigene analytische Methoden ausgearbeitet und validiert werden. Die hieraus abgeleiteten **Spezifikationen** bilden die Grundlage der routinemäßigen Kontrolle für die Freigabe zur Verwendung innerhalb des Herstellungsverfahrens oder auch für das Inverkehrbringen (**Freigabespezifikation, release specification**). Die Merkmale des Arzneimittels, die über seine gesamte Haltbarkeitsdauer eingehalten werden müssen, werden in der **Laufzeitspezifikation (shelf-life specification)** beschrieben.

Ausarbeitung eigener analytischer Vorschriften

Im Bereich der Spezifikationen sind die folgenden europäischen Guidelines von grundlegender Bedeutung:

- Spezifikationen: Prüfverfahren und Akzeptanzkriterien für neue Wirkstoffe und neue Arzneimittel (chemisch definierte Substanzen (Lit. 9),
- Spezifikationen und Kontrollen am Fertigarzneimittel (Lit. 10).

Validierung und Qualifizierung

Definition von Validierung und Qualifizierung

Ziel jeder analytischen Messung ist es, ein wahres Ergebnis bzw. den wahren Wert einer Größe zu ermitteln. Auch bewährte instrumentelle Methoden in der pharmazeutischen Analytik zeigen Analysenfehler bzw. Bestimmungsfehler. Um zu verlässlichen und reproduzierbaren Ergebnissen zu kommen, muss die Qualität und Eignung der Verfahren einer speziellen Kontrolle unterworfen werden. Diese Kontrolle wird als **Validierung** bezeichnet. Die deutschen Arzneimittelprüfrichtlinien (Lit. 3) fordern basierend auf europäischem Recht: „Alle Prüfverfahren müssen dem jeweiligen Stand der Wissenschaft entsprechen und müssen validierte Verfahren sein. Die Ergebnisse der Validierungsprüfung sind vorzulegen“. Der europäische Leitfadens zur guten Herstellungspraxis (EG-GMP, Lit. 7) enthält für die Begriffe der Validierung sowie der Qualifizierung die folgenden Definitionen:

- **Validierung:** Beweisführung in Übereinstimmung mit den Prinzipien der Guten Herstellungspraxis (GMP), dass Verfahren, Prozesse, Ausrüstungsgegenstände, Materialien, Arbeitsgänge oder Systeme tatsächlich zu den erwarteten Ergebnissen führen.
- **Qualifizierung:** Beweis, dass eine Ausrüstung korrekt arbeitet und zu den erwarteten Ergebnissen führt. Teilweise wird der Begriff der „Validierung“ ausgeweitet und beinhaltet auch die Qualifizierung.

Der Anhang 15 zum EU-Leitfaden einer guten Herstellungspraxis von April 2001 (Lit. 11) ist der Thematik der **Qualifizierung und Validierung** gewidmet. Hiernach sollten alle Validierungsaktivitäten geplant werden. Die Schlüsselemente eines Validierungsprogramms sollten in einem **Validierungsmasterplan** (VMP) klar definiert und dokumentiert werden. Basis hierfür ist eine **Risikoanalyse** der für das Funktionieren von Ausrüstung oder Prozess kritischen Parameter. Schriftliche Anweisungen machen die Vorgaben, wie die Qualifizierung und Validierung durchzuführen ist.

Qualifizierung

Der erste Schritt einer Validierung neuer Einrichtungen, Anlagen oder Ausrüstungsgegenstände sollte die **Designqualifizierung** (DQ) sein (siehe Tab. 1). Bei neuen oder veränderten Einrichtungen, Anlagen oder Ausrüstungsgegenständen ist eine **Installationsqualifizierung** (IQ) vorzunehmen. Die IQ umfasst unter anderem die **Kalibrierung**. Im Anschluss an die Installationsqualifizierung sollte die **Funktionsqualifizierung** (OQ) stattfinden. Ihr erfolgreicher Abschluss ermöglicht die formale „Freigabe“ der Einrichtungen, Anlagen und Ausrüstung zur Nutzung. Die anschließende **Leistungsqualifizierung** (PQ) dient dazu, Tests mit Produktionsmaterialien, geeigneten Ersatzma-

Arten der Qualifizierung

Tab. 1 Elemente der Qualifizierung (EG-GMP-Leitfaden, Lit. 7)

Qualifizierung	bedeutet eine dokumentierte Verifizierung, dass Einrichtungen, Anlagen und Ausrüstung...
Designqualifizierung (DQ)	... bezüglich des vorgesehenen Designs für den entsprechenden Verwendungszweck geeignet sind.
Installationsqualifizierung (IQ)	<p>... so wie sie installiert wurden, mit dem genehmigten Design und den Empfehlungen des Herstellers übereinstimmen.</p> <p>Kalibrierung: Arbeitsgänge, durch die unter bestimmten Bedingungen die Beziehung zwischen den durch ein Messgerät oder ein Messsystem angezeigten oder den sich aus einer Materialmessung ergebenden Werten und den entsprechenden bekannten Werten eines Referenzstandards bestimmt wird. Kalibrieren: Vergleich einer gemessenen Größe mit einer Referenzgröße.</p> <p>zum Vergleich:</p> <p>Justierung: Ein Messsystem wird so abgeglichen, dass die gemessene Größe vom wahren Wert (Referenzwert) so wenig wie möglich abweicht und innerhalb des Toleranzbereichs liegt.</p> <p>Eichen: In einer Prüfung wird festgestellt, ob die eichrechtlichen Vorschriften, wie z. B. die Eichfehlgrenzen, nicht verletzt werden. Bestätigung durch Eichstempel.</p>
Funktionsqualifizierung (OQ)	... so wie sie installiert oder modifiziert wurden, im Rahmen der vorgesehenen Betriebsbereiche den Erwartungen gemäß funktionieren.
Leistungsqualifizierung (PQ)	... so wie sie miteinander verbunden wurden, auf der Grundlage der genehmigten Prozessmethode und Produktspezifikation effektiv und reproduzierbar funktionieren.

terialien oder simulierten Produkten durchzuführen. Ausrüstungen und Prozesse sollen in bestimmten Zeitabständen bewertet werden, um zu gewährleisten, dass sie sich weiterhin in einem qualifizierten bzw. validierten Zustand befinden. Bei Änderungen ist eine Änderungskontrolle durchzuführen, evtl. mit einer **Requalifizierung** oder **Revalidierung**.

Validierung

Arten der Validierung Die Validierung im Rahmen der Guten Herstellungspraxis umfasst die

- Validierung analytischer Methoden,
- Reinigungsvalidierung,
- Prozessvalidierung.

Validierung analytischer Methoden

Vorschriften für die Validierung analytischer Methoden und Verfahren

Für analytische Methoden, die nicht explizit im Arzneibuch referenziert werden, ist der Nachweis zu führen, dass die Methode unter den gegebenen Anwendungsbedingungen unter Nutzung qualifizierter analytischer Geräte zuverlässig ist und zu korrekten analytischen Werten führt. Zur Validierung analytischer Methoden bei der Prüfung von Humanarzneimitteln wurde im Rahmen der internationalen Harmonisierung der Zulassungsanforderungen zwischen der Europäischen Gemeinschaft, den USA und Japan (International Conference on Harmonisation ICH) eine wichtige Leitlinie (Guideline) verabschiedet (Lit. 12).

In dieser wird im Einzelnen dargelegt, bei welchen Prüfungen im Rahmen des Arzneimittel-Zulassungsverfahrens in welchem Umfang Validierungen durchgeführt werden müssen und welche Parameter in die jeweilige Validierung einzubeziehen sind.

Die vier gängigsten Methoden, die validiert werden müssen sind:

Wichtigste Bereiche der Validierung

- Identitätstests
- Gehalt an Verunreinigungen
- Grenzwertbestimmungen für Verunreinigungen
- Gehaltsbestimmung des Wirkstoffes selbst bzw. des Wirkstoffes im Fertigarzneimittel oder anderer ausgewählter Komponenten.

Typische Parameter der Validierung sind (siehe auch Tab.2 und Kap. 2.1 und 2.2):

Parameter der Validierung

- Präzision (precision), Wiederholpräzision (repeatability), Vergleichspräzision, (reproducibility), Laborpräzision, Wiederfindung (recovery)
- Richtigkeit (accuracy)

- Nachweisgrenze (limit of detection)
- Bestimmungsgrenze (limit of quantitation)
- Spezifität, Selektivität (specifity, selectivity)
- Linearität (linearity)
- Empfindlichkeit (sensitivity)
- Arbeitsbereich, Bestimmungsbereich (range)

Wichtig ist darüber hinaus die **Robustheit** (*robustness, ruggedness*) einer Methode (Kap. 2.1.1). Sie ist definiert als die Störanfälligkeit der Ergebnisse durch variierende Bedingungen oder die Fähigkeit eines Verfahrens, ein Ergebnis zu liefern, das durch variierende Be-

Definition der Robustheit analytischer Verfahren

Tab. 2 Parameter der Validierung (EG-GMP-Leitfaden, Lit. 7, siehe auch Kap. 2.1 und 2.2)

Präzision (<i>precision</i>)	<p>Sie beschreibt die Streuung von Analyseergebnissen. Als Maße dienen die Standardabweichung (s), die relative Standardabweichung (s_{rel}) (identisch mit dem Variationskoeffizient VK) und seltener die Varianz (s^2).</p> <p>Wiederholpräzision (<i>repeatability</i>): Aussage über die Präzision bei Wiederholbedingungen: gleiche Probe, gleicher Prüfer, gleiches Gerät, identische Reagenzien, kurzer Zeitabstand.</p> <p>Vergleichspräzision (<i>reproducibility</i>): Aussage über die Präzision unter Vergleichsbedingungen: anderes Labor (d. h. auch andere Geräte, Chemikalien, Prüfer).</p> <p>Laborpräzision: Aussage über die Präzision bei gleicher Probe, aber wechselnden Bedingungen: anderer Prüfer, anderes Gerät, anderer Tag, neue Chemikalien etc.</p> <p>Wiederfindungs(rate) (<i>recovery</i>): Verhältnis der unter Wiederholbedingungen gemessenen Ausbeute nach allen Analyseschritten (Mittelwert) zum richtigen Wert des Analyten in der Probe.</p>
Richtigkeit (<i>accuracy</i>)	Sie erlaubt eine Aussage über den systematischen Fehler einer Methode. Maß der Übereinstimmung zwischen dem ermittelten und einem definitionsgemäß richtigen Wert (Referenzmaterial mit definiertem Gehalt).
Nachweisgrenze (<i>limit of detection</i>)	Kleinste nachweisbare Menge (DIN), minimal detektierbare Nettokonzentration oder Gehalt (ISO*).
Bestimmungsgrenze (<i>limit of quantitation</i>)	Kleinste quantifizierbare Menge (DIN), minimal detektierbare Nettokonzentration oder Gehalt (ISO*).
Spezifität (<i>specifity</i>)	<p>Fähigkeit, eine bestimmte Substanz ohne Störungen durch andere Komponenten zu bestimmen.</p> <p>Selektivität (<i>selectivity</i>): Fähigkeit, verschiedene, nebeneinander zu bestimmende Komponenten ohne gegenseitige Störung zu erfassen.</p>
Linearität (<i>linearity</i>)	Fähigkeit, innerhalb eines gegebenen Konzentrationsbereiches Ergebnisse zu liefern, die der Konzentration des Analyten direkt proportional sind (Kalibrierfunktion).
Empfindlichkeit (<i>sensitivity</i>)	Differenz in der Probenkonzentration, die der kleinsten detektierbaren Signaldifferenz entspricht; Steigung der Kalibriergeraden.
Arbeitsbereich (Messbereich) (<i>range</i>)	Konzentrationsbereich für akzeptable/bestätigte Angaben über die zu validierenden Parameter. Wird ermittelt aus der linearen Kalibrierfunktion, Bereich, für den diese Gültigkeit besitzt.

*) International Standardization Organisation

dingungen nicht oder nur unwesentlich verfälscht wird. Für jeden variierbaren Parameter lässt sich ein Bereich ermitteln, in dem die Genauigkeit der Methode nicht durch die Variation des Parameters beeinflusst wird. Die Größe dieses Bereichs ist das Maß für die Robustheit der Methode bezüglich des variierten Parameters. Ein weiterer integraler Bestandteil vieler analytischer Verfahren ist der Nachweis der Eignung für den spezifischen Test (system suitability testing). Die Parameter, die hierfür zu validieren sind, ergeben sich aus der Art des Verfahrens. Näheres hierzu siehe in Kap. 2 dieses Buches.

Prozess-Validierung

Gebiete der
Prozessvalidierung

In Ausnahmefällen kann es notwendig sein, Prozesse während der routinemäßigen Produktion zu validieren (**begleitende Validierung**). Eine **retrospektive Validierung** ist nur bei gut etablierten Prozessen zulässig. Übergreifende Vorschriften für die Arbeit in analytischen Laboratorien sowie für die Kalibrierung und Validierung von Analysenmethoden und Regelungen von Teilbereichen auf inoffizieller, wissenschaftlicher Grundlage werden unter den folgenden Begriffen zusammengefasst: Computersystem-Validierung (CSV), Good Analytical Practice (GAP), Good Automated Laboratory Practice (GALP).

Bedeutung des Standes der Technik

Anpassung der Methoden
an den Stand der Technik

Artikel 23 des Kodexes für Humanarzneimittel (Richtlinie 2001/83/EG, Lit. 1) fordert, dass auch nach Erteilung der Zulassung bezüglich der angewandten Kontrollmethoden zur qualitativen und quantitativen Analyse der Bestandteile des Fertigerzeugnisses stets der Stand der Technik und die Fortschritte der Wissenschaft berücksichtigt werden müssen. Gegebenenfalls sind die notwendigen Änderungen vorzunehmen, um die Kontrolle der Arzneimittel gemäß den allgemein anerkannten wissenschaftlichen Methoden sicherzustellen.

Literatur

- 1) Richtlinie 2001/83/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 6. November 2001 zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Humanarzneimittel. Amtsblatt Nr. L 311 vom 28. 11. 2001, S. 67–128. Zuletzt geändert durch Richtlinie 2010/84/EU des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. Dezember 2010. Amtsblatt Nr. L 348 vom 31. 12. 2010, S. 74.
- 2) Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz -AMG). In der Fassung der Bekanntmachung vom 12. Dezember 2005. BGBl. I S. 3394, Zuletzt geändert durch das Zweite Gesetz zur Änderung arzneimittelrechtlicher und anderer Vorschriften vom 19. Oktober 2012. BGBl. I S. 2192.
- 3) Zweite Allgemeine Verwaltungsvorschrift zur Änderung der Allgemeinen Verwaltungsvorschrift zur Anwendung der Arzneimittelprüfrichtlinien vom 11. Oktober 2004. BAnz Nr. 197 vom 16. Oktober 2004.
- 4) Eudralex. Volume 3 – Medicinal Products for Human Use: Guidelines. <http://>

- ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-3/index/en.htm
<http://www.ema.europa.eu>.
- 5) Feiden K. (Hrsg.), Arzneimittelprüfrichtlinien. Sammlung nationaler und internationaler Richtlinien. Unter Mitarbeit von Helga Blasius. Fortsetzungswerk, einschl. 33. Aktualisierungsflg., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (2012).
 - 6) Richtlinie 2003/94/EG der Kommission vom 8. Oktober 2003 zur Festlegung der Grundsätze und Leitlinien der Guten Herstellungspraxis für Humanarzneimittel und für zur Anwendung beim Menschen bestimmte Prüfpräparate. Amtsblatt Nr. L 262 vom 14. 10. 2003, S. 22-2.
 - 7) Eudralex. Volume 4. EU Guidelines to Good Manufacturing Practice, Medicinal Products for Human and Veterinary Use, Stand November 2012. http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4/index_en.htm.
 - 8) Verordnung zur Ablösung der Betriebsverordnung für pharmazeutische Unternehmer vom 3. November 2006. BGBl 2006 Teil I Nr. 51, 2523-2542 vom 9. November 2006, 2523 (Artikel 1: Verordnung über die Anwendung der Herstellungspraxis bei der Herstellung von Arzneimitteln und Wirkstoffen und über die Anwendung der Guten fachlichen Praxis bei der guten Herstellung von Produkten menschlicher Herkunft – (Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung – AMWHV), zuletzt geändert durch das Zweite Gesetz zur Änderung arzneimittelrechtlicher und anderer Vorschriften vom 19. Oktober 2012. BGBl. I S. 2192.
 - 9) Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances (CPMP/ICH/367/96-ICH Q6A).
 - 10) Specifications and control Tests on the Finished Product (3AQ11A).
 - 11) Eudralex – Volume 4 Good Manufacturing Practice (GMP) Guidelines. Annex 15 to the EU Guide to Good Manufacturing Practice. Title: Qualification and validation. Final version of July 2001. http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-4/pdfs-en/v4an15_en.pdf
 - 12) Note for Guidance on validation of analytical methods: Text and Methodology (CPMP/ICH/381/95) as of June 1995 ICH Topic Q 2 (R1).

1 Über den sinnvollen Umgang mit Messwerten und Messergebnissen

1.1 Ermittlung von Messwerten

Jede Messung ist naturgemäß mit experimentellen Fehlern oder Unsicherheiten behaftet. Häufig ist es nicht einfach, den Fehler einer Messung abzuschätzen oder gar zu berechnen; dennoch gibt es einige einfache Regeln, die es ermöglichen, ein Endergebnis mit der gebotenen Genauigkeit anzugeben. Darunter ist zu verstehen, dass das Resultat einer Messung oder Berechnung weder zu ungenau (d.h. mit zu wenig signifikanten Ziffern), noch übertrieben genau anzugeben ist (d.h. mit einer Anzahl an signifikanten Ziffern versehen ist, die in keiner Weise der Genauigkeit des Messvorganges entspricht – etwa sämtlichen Ziffern der Anzeige eines Taschenrechners).

Die Anzahl der angegebenen signifikanten Ziffern ist immer auch eine Aussage über die Genauigkeit bzw. über den Fehler des Messwertes.

Was ist bei der Angabe von Messwerten zu beachten?

Anzahl der Ziffern bei Messwerten

Signifikante Ziffern

Hierunter versteht man die Stellen, die mit Sicherheit bekannt sind plus der ersten unsicheren Stelle. Dabei wird üblicherweise unterstellt, dass die unsichere Stelle um ± 1 ihrer Einheit abweichen kann. Das Arzneibuch verwendet eine etwas andere Definition. Es werden nur die sicheren Stellen angegeben und eine Abweichung von ± 5 hinter der letzten angegebenen Stelle ist erlaubt.

Definition der signifikanten Ziffern

Unsicherheit

Unter **absoluter Unsicherheit** versteht man die mögliche Abweichung in der letzten Stelle eines Messwertes. Unter **relativer Unsicherheit** versteht man die absolute Unsicherheit in Promille oder Prozent bezogen auf den Messwert, siehe Gl. 1.1.

Definition der absoluten und relativen Unsicherheit

$$\text{Rel. Unsicherheit} = \frac{\text{abs. Unsicherheit}}{\text{Messwert}} \cdot 100[\%] \quad (\text{Gl. 1.1})$$

Auf einer Analysenwaage kann üblicherweise mit einer Genauigkeit (absoluten Unsicherheit) von $\pm 0,5$ mg gewogen werden, obwohl eine Ablesung von zehntel Milligramm möglich ist. Bei einer Einwaage