

Die vorliegende Bachelorarbeit unterliegt strengster Vertraulichkeit und darf Dritten nur mit Genehmigung der Firma Phytochem® Referenzsubstanzen GbRmbH zugänglich gemacht werden.

„Serofive“ – ein neuwertiges
stimmungsaufhellendes Produkt
Qualitätssichernde Elemente zur Entwicklung
und Analytik inklusive der Herstellung von
Pilotchargen

Bachelorarbeit

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
Bachelor of Science (B.Sc.)

Vorgelegt der Prüfungskommission der
Fachhochschule nta Prof. Dr. Grübler gGmbH Isny im Allgäu
von Sina Strobl

am 18.02.2021

Referent:
Koreferent:

Prof. Dr. Kurt Grillenberger
Hans Rausch

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ganz besonders gilt dieser Dank meinem Hochschulbetreuer Herrn Prof. Dr. Kurt Grillenberger und Herrn Hans Rausch, mit dem ich dieses interessante Thema für meine Bachelorarbeit ausgewählt habe und welcher mir zu jeder Zeit Unterstützung geboten hat.

Ebenso möchte ich mich bei Dr. Norbert Huppmann, Dr. Gudrun Steinmann-Möller, Christine Kremmeter, Laura Schneider; Nino Joel Schwarz und Marius Konrad bedanken, die mir immer eine große Hilfe waren im Hinblick auf praktische und theoretische Fragen.

Ein großer Dank geht an meine Familie, insbesondere an meine Eltern, die mir mein Studium ermöglicht und mich unterstützt haben.

Meinem Freund André Loleit danke ich besonders für den starken emotionalen Rückhalt über die Dauer meines gesamten Studiums.

Hiermit versichere ich, dass diese Arbeit von mir selbständig und ohne die unerlaubte Hilfe von Fremden erstellt wurde. Jegliche von mir, direkt oder indirekt, übernommene Literatur ist ordnungsgemäß als solche gekennzeichnet.

Neu-Ulm, den 18.02.2021

Sina Strobl

Inhaltsverzeichnis

1.	Abkürzungsverzeichnis	1
2.	Abstract	4
3.	Zusammenfassung	4
4.	Vorwort	5
5.	Theoretische Grundlagen	7
5.1	Rechtliche Rahmenbedingungen für sogenannte Nahrungsergänzungsmittel	7
5.1.1	Offiziell geltende EU - Gesetze für Nahrungsergänzungsmittel	7
5.1.2	Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) § 2 Begriffsbestimmungen	8
5.2	Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	10
5.2.1	„Hazard Analysis and Critical Control Points“ als Mindestanforderung	10
5.2.2	„Hazard Analysis and Critical Control Points“, Risikoanalyse und gezielte Steuerung kritischer Interventionspunkte	11
5.2.3	Umsetzung der gesetzlichen Verpflichtung zu „Hazard Analysis and Critical Control Points“	11
5.2.4	Die Lebensmittel-Deklarationspflichten innerhalb der Europäischen Union	12
5.2.5	Darüberhinausgehende Ergänzungen für Nahrungsergänzungsmittel in der Europäischen Union .	13
5.3	„Serofive“ als anwenderfreundliches, neuartiges und sicheres Nahrungsergänzungsmittel	13
5.3.1	Pflanzliche Bestandteile von „Serofive“	16
5.3.2	Weitere Stoffe in „Serofive“ mit ernährungsphysiologischen Wirkungen	35
5.3.3	Charakterisierung im Rahmen eines Prüfzertifikats	38
5.4	Koffein – ein Risikofaktor?	39
5.4.1	Valide Analytik	39
5.4.2	Validierung in der Analytik	40
5.5	Mögliche, rechtlich zulässige Werbeaussagen	41
6.	Praktischer Teil	42
6.1	Übersicht über das Ablaufschema zur Produktion von „Serofive“-Kapseln	42
6.2	Möglichkeiten von Darreichungsformen	43
6.3	Vorproduktion von „Serofive“-Kapseln im Kleinmaßstab für die Produktentwicklung	44
6.4	Prüfung physikalischer Anforderungen analog dem Arzneimittel-Recht	49
6.4.1	European Pharmacopoeia 2.9.5 Gleichförmigkeit der Masse bei Fertigpräparaten	49
6.4.1.1	Formblatt zur Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten	51
6.4.2	European Pharmacopoeia 2.9.40. Gleichförmigkeit der Gebinde-Einheiten	52
6.4.2.1	Formblatt zur Gleichheit der Gebinde-Masse von Fertigpräparaten	53
6.5	Bereitstellung von Dokumentationsvorlagen	54
6.5.1	Protokollformat zur Herstellung von standardisierten Prüfextrakten	58
6.5.2	Protokollformat für die HPLC-Bedingungen	59
6.5.3	Protokollformat für die DC-Bedingungen	60
6.5.4	Kontrollblatt für Referenzlösungen	61
6.6	Festlegung von Kriterien zur Wareneingangskontrolle	62

6.7	Etikettierungsverordnung/ Deklarationspflichten bei Nahrungsergänzungsmitteln	62
6.7.1	Anforderungen des Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz	62
6.7.2	Anforderungen des Zielmarktes USA	63
6.8	Trocknungsverlust „Loss on drying“	64
6.8.1	Feuchtigkeit in Fertigprodukten	64
6.8.2	Analytische Bestimmung der Feuchtigkeit	65
6.8.3	Konzeptionierung eines geeigneten Formblatts zur Bestimmung des Trocknungsverlusts	66
6.8.4	Protokollformat „Loss on drying“	69
6.9	Validierung als wichtigstes qualitätssicherndes Element in der Analytik	70
6.9.1	Validierungsanforderungen für Prüfverfahren und Dokumentation gemäß ICH-Guidelines	70
6.9.2	„Standard Operating Procedure“ zur betriebsinternen Vereinheitlichung von Validierungen	71
6.9.3	Adaptierung der individuellen Validierungspläne für das Produkt „Serofive“	80
6.9.4	Validierungsplan zur qualitativen Bestimmung von „Serofive“	81
6.10	Durchführung der Freigabeanalytik basierend auf den Prüfvorschriften und dem Vergleich mit den Zielwerten (Erstellung der zugehörigen Dokumentation)	93
6.11	Gesamtprüfvorschrift für das Produkt „Serofive“	94
6.12	Analysenzertifikat für das Produkt „Serofive“	94
7.	Ergebnisse und Ausblick	97
8.	Literaturverzeichnis	100
9.	Abbildungsverzeichnis	108
10.	Tabellenverzeichnis	110
11.	Anhang	111
11.1	Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten	111
11.2	SOP – AR 012 „Validierung analytischer Prüfverfahren im GMP-Bereich“	112
11.3	Validierungsplan für die quantitative Bestimmung von Koffein in „Serofive“	126
12.	Lebenslauf	133

I. Abkürzungsverzeichnis

5-HT	5-Hydroxytryptamin
5-HTP	5-Hydroxytryptophan
AADC	Aminosäure-Decarboxylase
Abb.	Abbildung
AM	Arzneimittel
AMG	Arzneimittelgesetz
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BG	Bestimmungsgrenze
BHS	Blut-Hirn-Schranke
Bzw.	Beziehungsweise
CCP	<i>Critical Control Point</i>
CoA	<i>Certificate of Analysis</i>
DAD	Diodenarray-Detektor (<i>Diode Array Detector</i>)
DC	Dünnschichtchromatographie
EDQM	<i>European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare</i>
EMA	<i>European Medicine Agency</i>
EP, Ph. Eur.	<i>European Pharmacopoeia</i>
EPO	<i>European Pharmacopoeia Online</i>
ETOH	Ethanol

EU	Europäische Union
FAM	Fertigarzneimittel
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GABA	Gamma Aminobuttersäure
GC	Gaschromatographie
GMP	Gute Herstellungspraxis (<i>Good Manufacturing Practice</i>)
HACCP	<i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose
ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
IDO	Indolamin-2,3-Dioxygenase
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LBP	<i>Lycium barbarum polysaccharide</i>
LFGB	Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch
LM	Lebensmittel
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-gesetz
MAO	Monoaminoxidase
MEOH	Methanol
NAD	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NEM	Nahrungsergänzungsmittel
NG	Nachweisgrenze

PDA	<i>Photo diode detektor</i>
PV	Prüfvorschrift
QM	Qualitätsmanagement
QMS	Qualitätsmanagementsysteme
QS	Qualitätssicherung
S/N	Signal-Rausch-Verhältnis
SOP	Standard-Arbeitsanweisung (<i>Standard Operating Procedure</i>)
T5H	<i>tryptamine 5-hydroxylase</i>
TCM	Traditionelle chinesische Medizin
TDO	Tryptophan-2,3-Dioxygenase
US	<i>United States</i>
USA	<i>United States of America</i>
UV-Strahlung	Ultraviolette Strahlung
VD	Vitamin D
VIS	<i>visible</i>
ZNS	Zentralnervensystem

2. Abstract

High-quality food supplements, which are legally classified as food, should nevertheless meet pharma-analogue performance criteria. Ensuring batch consistency is relevant here. The basis for a constant quality cannot be realized exclusively with the legal basic concept "*Hazard Analysis and Critical Control Points*" (HACCP), so that for the analytical support of the product optimization and transfer into the production scale the quality management systems „*International Organization for Standardization*“ (ISO) 9001 as well as the European Pharma „*Good Manufacturing Practice*“ (GMP) were integrated. Analytical quality assurance for the new "mood enhancer" "Serofive", which was configured as a food supplement due to the requirements by implementing and adapting the associated GMP-compliant quality assurance system. The analytics has been optimized through pharma-compliant validations and absolutely transparent documentation formats.

3. Zusammenfassung

Hochwertige Nahrungsergänzungsmittel, die rechtlich als Lebensmittel eingestuft sind, sollten trotzdem pharma-analogue Leistungskriterien erfüllen. Hierbei ist die Sicherstellung einer Chargenkonstanz relevant. Die Basis für eine gleichbleibende Qualität kann nicht ausschließlich mit der rechtlichen Grundkonzeption HACCP realisiert werden, sodass für die analytische Begleitung der Produktoptimierung und Übertragung in den Produktionsmaßstab die Qualitätsmanagementsysteme ISO 9001 sowie darüber hinaus das europäische Pharma GMP integriert wurden. Die analytische Qualitätssicherung für den neuen „*Stimmungsaufheller*“ „*Serofive*“ konnte durch die Implementierung und Anpassung des zugehörigen GMP konformen Qualitätssicherungs-(QS)-Systems auf ein über der gesetzlichen Vorgabe liegendes Qualitätslevel angehoben werden. Die Analytik konnte so durch pharmakonforme Validierungen und absolut transparente Dokumentationsformate optimiert werden.

4. Vorwort

Die Einstufung moderner, kommerzieller Produkte im Gesundheitsbereich ist in heutiger Zeit nicht mehr eindeutig, wie das Arzneimittelrecht mit seiner Einstufung als Präsentations- bzw. Funktionsarzneimittel vorgibt.

Die Definition des Begriffs „Arzneimittel“ (AM) ist im Paragraph 2 (1) im Arzneimittelgesetz (AMG), wie folgt, aufgeführt:

„Arzneimittel sind Stoffe oder Zubereitungen aus Stoffen,

1. die zur Anwendung im oder am menschlichen oder tierischen Körper bestimmt sind und als Mittel mit Eigenschaften zur Heilung oder Linderung oder zur Verhütung menschlicher oder tierischer Krankheiten oder krankhafter Beschwerden bestimmt sind oder

2. die im oder am menschlichen oder tierischen Körper angewendet oder einem Menschen oder einem Tier verabreicht werden können, um entweder

a) die physiologischen Funktionen durch eine pharmakologische, immunologische oder metabolische Wirkung wiederherzustellen, zu korrigieren oder zu beeinflussen oder

b) eine medizinische Diagnose zu erstellen [...]“¹

Dabei werden grundsätzlich 2 Arten von Arzneimitteln unterschieden.^{2,3}

Funktionsarzneimittel sind Arzneimittel, die aufgrund ihrer Wirkung physiologische Funktionen beeinflussen. Die Bezeichnung der Arzneimittel erfolgt nach der Funktion.²

Präsentationsarzneimittel bezeichnen dagegen Arzneimittel, deren Verwendung der Heilung oder der Prävention menschlicher Krankheiten dient. Die Bezeichnung der Arzneimittel erfolgt nach der Bezeichnung.²

„Darunter sind solche Produkte zu verstehen, die durch ihre Bezeichnung oder Aufmachung (Werbung) beim durchschnittlich informierten Verbraucher den Eindruck erwecken, dass sie zur Heilung oder Verhütung menschlicher Krankheiten bestimmt sind. Auf die Wirksamkeit des Produktes kommt es für diese Einstufung nicht an [...]“²

Das europäische Arzneibuch regelt als gesetzliche Grundlage entsprechende Vorgänge bezüglich der Qualität, Reinheit und Sicherheit von Arzneimitteln. Offiziell wird das europäische Arzneibuch nur in den beiden Amtssprachen Englisch und Französisch von der „European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare“ (EDQM) herausgegeben.

Eine deutsche Version des europäischen Arzneibuches stellt eine nicht autorisierte und damit rechtlich bedenkliche Hilfskonstruktion für den deutschen Anwender dar. Im Streitfall wird immer nur auf die beiden autorisierten Versionen zurückgegriffen.

Das deutsche Arzneibuch gilt als nationale Ergänzung des europäischen Arzneibuches und stellt im Rahmen der Rechtskaskade eindeutig nur nationales Recht dar, welches zwingend dem Gemeinschaftsrecht untergeordnet ist. Somit ist es üblich, auch amtsüblich, Auszüge des europäischen Arzneibuches sowie ergänzende Regelungen der europäischen Zulassungsbehörde *European Medicine Agency* (EMA) in Dokumenten in der Originalsprache hier z. B. in Englisch, zu übernehmen. Dies wurde auch in dieser Arbeit so realisiert. Die Zuordnungsproblematik wurde auch von den nationalen Aufsichtsbehörden hier z. B. von dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) erkannt und wie folgt beschrieben.

„In den letzten Jahren sind jedoch immer mehr Produktgruppen hinzugekommen, die insbesondere für Verbraucher vergleichbare Eigenschaften wie Arzneimittel aufweisen und von diesen schwer abzugrenzen sind.

Für Arzneimittel, Lebensmittel (dazu gehören auch Nahrungsergänzungsmittel und diätetische Lebensmittel), Medizinprodukte, Biozide oder kosmetische Mittel gelten unterschiedliche rechtliche Rahmenbedingungen. So können aus gleichen pflanzlichen Ausgangsstoffen Produkte unterschiedlicher Produktgruppen hergestellt werden. Für den Verbraucher oder den Patienten, aber vielfach auch für Fachkreise ist es oft schwer, die Unterschiede zu erkennen oder Produkte zu vergleichen.

Bei einer fehlerhaften Einstufung kann ein falsches Marktzugangsverfahren gewählt worden sein, das zu entsprechend nachteiligen Konsequenzen führt. Für Lebensmittel gelten andere Anforderungen an die Qualität und die Kennzeichnungsstandards oder an die Nutzen-Risiko-Bewertung als bei Arzneimitteln. Ebenso sind an Medizinprodukte wiederum andere Anforderungen zu stellen. Unabhängig von der Einstufung müssen für alle Produkte aber die erforderliche Qualität und sichere Anwendung gewährleistet sein.

Grundsätzlich sind für die Frage der Produktzuordnung und die Frage der Zulassungspflicht als Arzneimittel die lokalen Überwachungsbehörden zuständig, je nachdem wo der Inverkehrbringer seinen Sitz hat oder begründen will [...].⁴

5. Theoretische Grundlagen

5.1 Rechtliche Rahmenbedingungen für sogenannte Nahrungsergänzungsmittel

5.1.1 Offiziell geltende EU - Gesetze für Nahrungsergänzungsmittel

„Nahrungsergänzungsmittel“ (NEM) unterliegen dem Lebensmittelrecht und sind laut Art. 2 RL 2002/46/ EG definitionsgemäß Lebensmittel (LM), die zur normalen, ausgewogenen Ernährung unterstützend eingenommen werden können. Diese enthalten Einfach- oder Mehrfachkonzentrate von Nährstoffen sowie Vitamine und Mineralstoffe oder sonstige Stoffe mit ernährungsphysiologischer Wirkung. Nahrungsergänzungsmittel können in Kapseln, Pastillen, Tabletten, Pillen oder anderen Darreichungsformen in Umlauf gebracht werden, was aber theoretisch früher als Präsentationsarzneimittel angesehen wurde.⁵

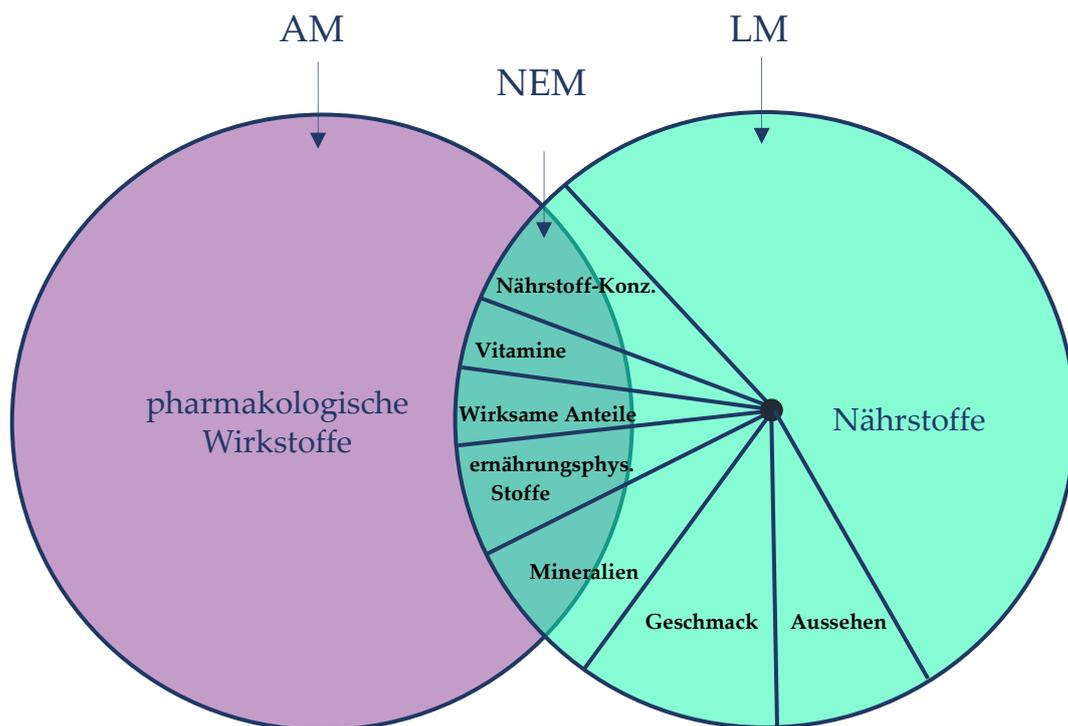


Abbildung 1: veranschaulichte Einteilung von AM, LM und NEM mit Hilfe eines Kreisdiagramms.

Da das Produkt „Serofive“ Bestandteile wie Konzentrate von Nährstoffen, Selen als Mineralstoff mit multipler Wirkung, Vitamin D als ergänzendes Vitamin und Tryptophan als essentielle Aminosäure enthält, wird es als NEM eingestuft.

Da NEM rein rechtlich Lebensmittel darstellen, muss auch noch die gesetzliche Grundlage hierfür betrachtet werden.

5.1.2 Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) § 2 Begriffsbestimmungen

„(1) Erzeugnisse sind Lebensmittel, einschließlich Lebensmittelzusatzstoffe, Futtermittel, kosmetische Mittel und Bedarfsgegenstände.

(2) Lebensmittel sind Lebensmittel im Sinne des Artikels 2 der Verordnung (EG) Nr. 178/2002.

(3) Lebensmittelzusatzstoffe sind Lebensmittelzusatzstoffe im Sinne des Artikels 3 Absatz 2 Buchstabe a in Verbindung mit Artikel 2 Absatz 2 der Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über Lebensmittelzusatzstoffe (ABl. L 354 vom 31.12.2008, S. 16, L 105 vom 27.4.2010, S. 114, L 322 vom 21.11.2012, S. 8, L 123 vom 19.5.2015, S. 122), die zuletzt durch die Verordnung (EU) 2016/1776 (ABl. L 272 vom 7.10.2016, S. 2) geändert worden ist. Den Lebensmittelzusatzstoffen stehen gleich

1. Stoffe mit oder ohne Nährwert, die üblicherweise weder selbst als Lebensmittel verzehrt noch als charakteristische Zutat eines Lebensmittels verwendet werden und die einem Lebensmittel aus anderen als technologischen Gründen beim Herstellen oder Behandeln zugesetzt werden, wodurch sie selbst oder ihre Abbau- oder Reaktionsprodukte mittelbar oder unmittelbar zu einem Bestandteil des Lebensmittels werden oder werden können; ausgenommen sind Stoffe, die natürlicher Herkunft oder den natürlichen chemisch gleich sind und nach allgemeiner Verkehrsauffassung überwiegend wegen ihres Nähr-, Geruchs- oder Geschmackswertes oder als Genussmittel verwendet werden,

2. Mineralstoffe und Spurenelemente sowie deren Verbindungen außer Kochsalz,

3. Aminosäuren und deren Derivate,

4. Vitamine A und D sowie deren Derivate [...]“⁶

Was ist nun ein Lebensmittel?

Der Artikel 2 der EG-Verordnung 178/2002 (Lebensmittelrecht) gibt hierzu folgende rechtsverbindliche Festlegungen:

„Definition von „Lebensmittel“

Im Sinne dieser Verordnung sind „Lebensmittel“ alle Stoffe oder Erzeugnisse, die dazu bestimmt sind oder von denen nach vernünftigem Ermessen erwartet werden kann, dass sie in verarbeitetem, teilweise verarbeitetem oder unverarbeitetem Zustand von Menschen aufgenommen werden.

Zu „Lebensmitteln“ zählen auch Getränke, Kaugummi sowie alle Stoffe - einschließlich Wasser -, die dem Lebensmittel bei seiner Herstellung oder Ver- oder Bearbeitung absichtlich zugesetzt werden. Wasser zählt hierzu unbeschadet der Anforderungen der Richtlinien 80/778/EWG und 98/83/EG ab der Stelle der Einhaltung im Sinne des Artikels 6 der Richtlinie 98/83/EG.

Nicht zu „Lebensmitteln“ gehören:

- a) Futtermittel,*
- b) lebende Tiere, soweit sie nicht für das Inverkehrbringen zum menschlichen Verzehr hergerichtet worden sind,*
- c) Pflanzen vor dem Ernten,*
- d) Arzneimittel im Sinne der Richtlinien 65/65/EWG(21) und 92/73/EWG(22) des Rates,*
- e) kosmetische Mittel im Sinne der Richtlinie 76/768/EWG(23) des Rates,*
- f) Tabak und Tabakerzeugnisse im Sinne der Richtlinie 89/622/EWG(24) des Rates,*
- g) Betäubungsmittel und psychotrope Stoffe im Sinne des Einheitsübereinkommens der Vereinten Nationen über Suchtstoffe, 1961, und des Übereinkommens der Vereinten Nationen über psychotrope Stoffe, 1971,*
- h) Rückstände und Kontaminanten. [...]“⁷*

Für ein Produkt stellt die rechtliche Einordnung ein sehr wichtiges Kriterium dar, welches natürlich auch entsprechende Auswirkungen auf die Ausprägung qualitätssichernder Instrumente besitzt. Daneben ist aber, vor allem auch die rechtliche Betrachtung der sogenannten Zielmärkte relevant, wenn sich diese außerhalb der Europäischen Union (EU) befinden.

5.2 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, ein pharma-adäquates Qualitätssicherungssystem zu entwickeln und zu etablieren, durch das die Qualität des Produktkonzeptes bei der Überführung in die Serienproduktion als pflanzenbasiertes NEM mit positiven Zusatznutzen für den Anwender gewährleistet werden kann. Diese Arbeit fokussiert sich dabei auf die formalen Aspekte der entsprechenden Qualitätssicherung außerhalb den lebensmitteltechnischen Untersuchungsparametern, da nicht der ernährungsphysiologische, sondern vorrangig der anwenderbezogene Nutzen für nachhaltige Markenprodukte sichergestellt werden muss. Wie bereits erwähnt, ist der Hersteller für die rechtlich verbindliche und richtige Einstufung verantwortlich. Diese Kategorisierung ist zudem vorrangig auf die angestrebten Zielmärkte zu optimieren. Im vorliegenden Fall ist das Produkt vorrangig für den *United States-(US)*-amerikanischen Markt gedacht, in dem pflanzenbasierte Produkte zu keinem Zeitpunkt einen offiziellen Arzneimittelstatus erhalten können.⁴

5.2.1 „Hazard Analysis and Critical Control Points“ als Mindestanforderung

„Trotzdem stellen pharma-adäquate Qualitäten in derartigen Verdrängungsmärkten ein nicht zu unterschätzendes Marketinginstrument dar.“⁸ Die Notwendigkeit eines lebensmitteltechnischen Qualitätssicherungssystems, genannt „HACCP-System“, ist für jedes Unternehmen, das an der Produktion, Verarbeitung und dem Verkauf von NEM aufgrund der rechtlichen Zuordnung zu Lebensmitteln beteiligt ist, gesetzlich vorgeschrieben und verpflichtend. Das „HACCP-System“ (siehe Tabelle 1) stellt ein in der Europäischen Union akzeptiertes Sicherheitssystem zur Fehlervermeidung dar. Es handelt sich also um ein System, das spezifische Gefahren und Maßnahmen zur Kontrolle identifiziert, um die Sicherheit eines Lebensmittels und insbesondere die Herstellung von gesundheitlich unbedenklichen Lebensmitteln zu gewährleisten.⁹

5.2.2 „Hazard Analysis and Critical Control Points“, Risikoanalyse und gezielte Steuerung kritischer Interventionspunkte

Tabelle 1: Begriffserklärung „HACCP-System“.

Abkürzung	Englische Begriffe	Deutsche Bedeutung
H	<i>Hazard</i>	Gefahr, Risiko, Wagnis
A	<i>Analysis</i>	Analyse, Untersuchung
C	<i>Critical</i>	kritisch
C	<i>Control</i>	Überwachung, beherrschen, kontrollieren, steuern
P	<i>Point</i>	Punkt, Stelle

5.2.3 Umsetzung der gesetzlichen Verpflichtung zu „Hazard Analysis and Critical Control Points“

Grundlegend existieren sieben Prinzipien (siehe Tabelle 2), die bei der Erstellung eines „HACCP – Konzeptes“ Anwendung finden.

Tabelle 2: Prinzipien des HACCP-Systems.

1	Durchführung der Gefahrenanalyse
2	Identifizierung kritischer Kontrollpunkte
3	Festlegung einer oder mehrerer Grenzwerte
4	System zur Überwachung der „Critical Control Points“ (CCPs) festlegen
5	Einrichtung von Korrekturmaßnahmen im Fall von Abweichungen
6	Festlegung von Verifizierungsmaßnahmen
7	Einrichtung einer Dokumentation der Maßnahmen

HACCP ist nur für betriebsinterne Abläufe für die Qualitätssicherung relevant. Der Verbraucher bekommt hiervon nichts mit. Um jedoch eine qualitative Grundinformation für den Verbraucher gewährleisten zu können, wurden in der westlichen Welt Deklarationsvorschriften erlassen, die dem Konsumenten einen zusammenfassenden Überblick über die für Lebensmittel relevanten Nährwerte ermöglicht.

5.2.4 Die Lebensmittel-Deklarationspflichten innerhalb der Europäischen Union

Bei der klassischen Lebensmitteldeklaration, genauer der Nährwertkennzeichnung (siehe Tabelle 3), sind gemäß der Nährwertkennzeichnungsrichtlinie die nachfolgend definierten Stoffe verpflichtend in der Etikettierung innerhalb der EU aufzuführen:¹⁰

Tabelle 3: Nährwertkennzeichnung.¹⁰

1) Energiewert/ Brennwert	- Angabe in [kJ] bzw. [kcal]
2) Folgende Nährstoffe	- Eiweiß [g]
	- Kohlenhydrate [- davon Zucker] [g]
	- Fett [- davon ungesättigte Fettsäuren] [g]
	- Ballaststoffe [g]
	- Natrium [g]
	- Vitamine und Mineralstoffe [g]

Vergleichbares gilt auch für den angloamerikanischen Markt, wobei abweichend davon die Daten nicht zwingend auf dem Etikett positioniert sein müssen, sondern alternativ auch auf einer öffentlich, frei zugänglichen Internetseite für den Verbraucher hinterlegt sein dürfen.

5.2.5 Darüberhinausgehende Ergänzungen für Nahrungsergänzungsmittel in der Europäischen Union

Die Deklaration anderer Besonderheiten von Nahrungsergänzungsmitteln wird nur als Ergänzung angesehen und nicht zwingend reglementiert. Beispielsweise sind bei einem herkömmlichen Magnesiumprodukt die in der Tabelle 3 aufgeführten Stoffe verpflichtend zu deklarieren, während der Gehalt an Magnesium zwar deklariert aber nicht analytisch bewertet werden muss.

Bei dem in der vorliegenden Arbeit behandelten Produkt handelt es sich um ein NEM, bestehend aus typischen Lebensmittelbestandteilen (z. B. Grüner Tee), pharmazeutisch relevanten Pflanzenanteilen (z. B. Johanniskraut) und weiteren nicht zuzuordnenden Pflanzenanteilen (z. B. Griffonia), einer zusätzlich essentiellen Aminosäure (hier Tryptophan) sowie ergänzend einem relevanten Vitamin (hier Vitamin D) und einem supportiven Mineralstoff (hier Selen) (siehe Tabelle 5).

5.3 „Serofive“ als anwenderfreundliches, neuartiges und sicheres Nahrungsergänzungsmittel

„Serofive“ besteht aus mehreren Pflanzenextrakten, deren relevante Leitkomponenten in der Tabelle 4 aufgeführt sind. Die Bezeichnung „Serofive“ setzt sich aus den beiden Worten Serotonin und 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) zusammen. Die angestrebte Wirkung dieser „Serofive“-Kapseln ist, bei nervöser Unruhe und depressiven Verstimmungen entgegen zu wirken und als „Stimmungsaufheller“ aus natürlichen Bestandteilen zur Entspannung und Ausgeglichenheit beizutragen. Dies wird typischerweise durch die Erhöhung des natürlichen Serotoninspiegels erreicht. Hierzu wird auf den pharmakologischen Wirksamkeiten dieser optimierten Komposition von pflanzlichen Einzelwirkstoffen in der gewählten Zusammensetzung aufgebaut.

Tabelle 4: Übersicht der enthaltenen Einzelpflanzen von „Serofive“.

Pflanzenextrakt		Lateinische Bezeichnung	wirksame Hauptbestandteile der Pflanzen
1	Grüner Tee	<i>Camellia sinensis</i>	Catechine, Koffein; Polyphenole
2	Kolanuss	<i>Cola acuminata</i>	Koffein, Theobromin
3	Goji-Beere	<i>Lycii barbarum</i>	Polysaccharide, Taurin Carotinoide, Gamma Aminobuttersäure (GABA)
4	Guaranasamen	<i>Guarana paullinia cupana</i>	Koffein, Theophyllin, Theobromin, Catechine
5	Feigenkaktus	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Betalaine, Taurin, Carotinoide, Flavonoide
6	Griffonia	<i>Griffonia simplicifolia</i>	5-HTP
7	Rosenwurz	<i>Rhodiola rosea</i>	Rosavine, Salidroside
8	Johanniskraut	<i>Hypericum perforatum</i>	Hypericin, Hyperforin

Tabelle 5: Übersicht der weiteren Bestandteile von „Serofive“.

ernährungsphysiologische Stoffe in „Serofive“		
1	Tryptophan	essentielle Aminosäure
2	Vitamin D	ergänzendes Vitamin
3	Selen	mineralisches Spurenelement

Das Produkt „Serofive“ wird nach unserer Einschätzung sowie nach europäischen Maßnahmen eindeutig als NEM angesehen. Dieses besteht aus klassischen pflanzlichen Anteilen von Lebensmitteln, Arzneimitteln sowie sonstigen pflanzlichen Bestandteilen und vor allem auch aus gesetzlich vorgegebenen Anteilen besonderer ernährungsphysiologischer Natur inklusive Mineralien und Vitaminen, wie die nachfolgende Abbildung 2 verdeutlicht.

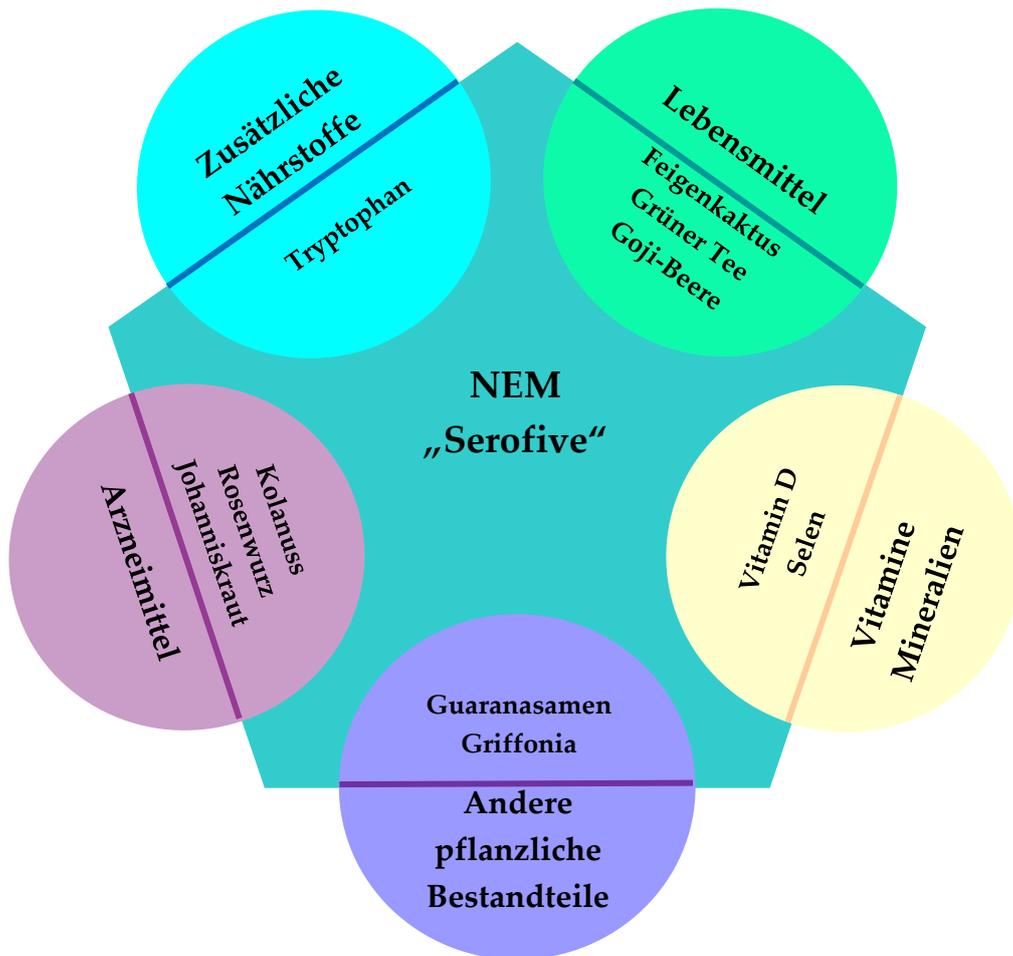


Abbildung 2: Einordnung der Einzelbestandteile von „Serofive“.

5.3.1 Pflanzliche Bestandteile von „Serofive“

1. Grüner Tee *Camellia sinensis*

Der grüne Tee wird ebenfalls wie der schwarze Tee aus den Blättern des Teestrauches *Camellia sinensis* (siehe Abbildung 3) hergestellt.¹¹ Im Gegensatz zur Produktion des schwarzen Tees, erfolgt beim grünen Tee keine Fermentierung (Umsetzung durch blatteigene Enzyme) der Blätter. Nach der japanischen Methode werden die Blätter des grünen Tees vor dem Rollen, Trocknen und Sieben mit Wasserdampf behandelt oder nach einer weiteren, chinesischen Methode, in einer eisernen Pfanne geröstet. Durch diese Art der Verarbeitung der Blätter des grünen Tees ist es möglich, dass die grüne Farbe der Blätter der Teepflanze auch nach der Trocknung erhalten bleibt.¹²



Abbildung 3: Teepflanze *Camellia sinensis*.¹³

Durch den Fermentierungsprozess beim schwarzen Tee wird ein Großteil der Catechine durch eine Oxidation zu Theaflavinen und Thearubiginen umgesetzt. Das bedeutet, dass der Gehalt an Catechinen im schwarzen Tee weitaus niedriger ist, als im grünen Tee.¹⁴

Ungefähr 30 % des Trockenproduktes von frischen Teeblättern machen phenolische Verbindungen aus. Im grünen Tee zählen 90 % dieser polyphenolischen Verbindungen zu den Catechinen (siehe Abbildung 4). Zu der Gruppe der Polyphenole gehört die Untergruppe der sogenannten Flavonoide, welche wiederum in Flavanole, Flavone und Catechine eingeteilt werden.¹⁵

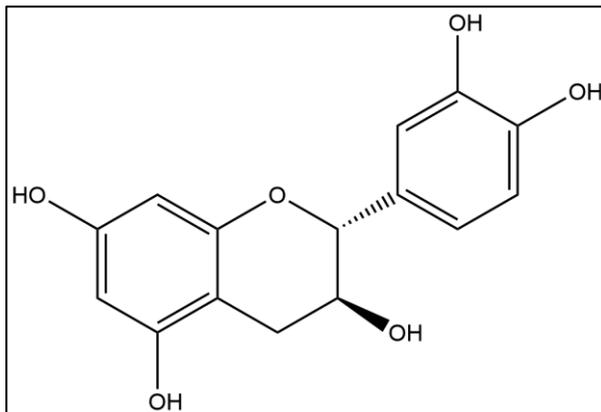


Abbildung 4: Strukturformel von Catechin.

Den Polyphenolen im grünen Tee wird ein großer physiologischer Nutzen (siehe Tabelle 6) zugesprochen. Die frischen Teeblätter bestehen hauptsächlich aus Catechinen, Proteinen, Kohlenhydraten, Kalium, Aminosäuren und **Koffein**.¹⁶

Tabelle 6: Übersicht über die Wirkung von Polyphenolen.¹⁷

Polyphenole	Wirkung
Catechine	Antikarieswirkung, antiviral, antioxidativ ¹⁷
Theaflavine	Antioxidative, antikanzerogene, kardioprotektive Wirkungen ^{18,19}
Flavanone	antioxidative Wirkungen, antikanzerogene Wirkungen ²⁰
Flavolone	kardioprotektive Wirkungen ^{11,12}

Koffein mit der Summenformel $C_8H_{10}N_4O_2$, wird auch als „1,3,7-Trimethylxanthin“ bezeichnet. (siehe Abbildung 5). Das Pflanzenalkaloid Koffein zählt zu den Purinen und findet sich gebunden an Chlorogensäure in Kaffeebohnen (1 % - 1,5 %).¹⁷

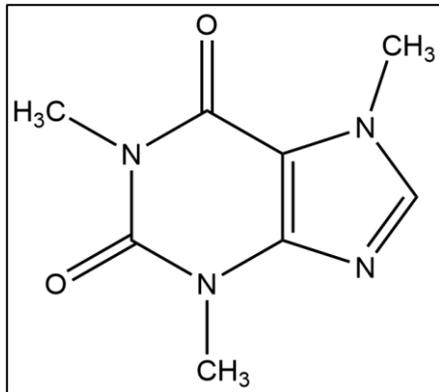


Abbildung 5: Strukturformel von Koffein.

Die pharmakologische Wirkung von Koffein auf den menschlichen Organismus ist dosisabhängig. Die Aufnahme einer ungefähren Menge von 50 mg - 200 mg Koffein führt beim Erwachsenen zu einer anregenden Wirkung und beseitigt Ermüdungserscheinungen. Des Weiteren hat es einen positiven Einfluss auf den Antrieb, die Stimmung und führt außerdem zu einer Erleichterung des Lernprozesses durch bessere Konzentrationsfähigkeit.¹⁷

Koffein wirkt auf alle Teile des zentralen Nervensystems (ZNS) erregend. Diese Wirkung ist auf die Eigenschaft von Koffein zurückzuführen, als kompetitiver Antagonist an Adenorezeptoren, die hemmende Wirkung des Adenosins zu vermindern. Dieser Effekt äußert sich durch die Steigerung der geistigen Aufnahmefähigkeit, Beseitigung von Müdigkeitserscheinungen sowie in einer gewissen Verbesserung der Stimmungslage. In psychomotorischen Tests wurde ebenfalls herausgefunden, dass sich durch die Einnahme von Koffein Lernprozesse und Gedächtnisleistungen verbesserten. Eine Verminderung von Fehlreaktionen sowie eine kürzere Reaktionsdauer wurden ebenso nachgewiesen.¹⁷

Koffein steigert die Herzleistung und führt bei den Blutgefäßen zu einer Erweiterung, genannt Vasodilatation und bei den Hirngefäßen zu einer Verengung bzw. Vasokonstriktion. Die erhöhte Herzleistung hat zur Folge, dass die Durchblutung in den meisten Organen zunimmt.

Die dadurch resultierende verbesserte Durchblutung des Großhirns ist auch ein Grund für die Verringerung von Müdigkeitserscheinungen, Steigerung der Arbeitsleistung und Anhebung der Stimmung.¹⁷

Ebenfalls wird die renale Ausscheidung (Diurese) von Flüssigkeiten und Elektrolyten durch Koffein gesteigert. Grund dafür sind die verbesserte Nierendurchblutung, eine erhöhte glomeruläre Filtrationsrate, sowie die Hemmung der Rückresorption von Kochsalz durch Koffein.¹⁷

Entscheidend für die Aufnahme und die anhaltende Wirkungsdauer von Koffein ist, in welcher Form es vom Organismus resorbiert wird. Laut Literatur soll Koffein im Tee, anders als z. B. beim Kaffee, in einer nicht freien Form, sondern gebunden an Aminosäuren und Gerbstoffen (Polyphenolen) vorkommen. Dies führt zu einer unterschiedlichen Resorption und Wirkung der beiden Formen des Koffeins. Es wird behauptet, dass beim Kaffee das Koffein direkt über die Blutbahn in die Nebennierenrinde gelangt und zur Ausschüttung des Neurotransmitters, auch bekannt als Stresshormon Adrenalin, führt. Diese Anregung wird durch die Ausschüttung des Gegenspielers Noradrenalin rasch wieder gedämpft.¹⁷

Bei der gebundenen Form von Koffein in der Teepflanze kommt es zu einer kontinuierlichen Anregung bzw. Freisetzung von Adrenalin durch Stimulation des vegetativen Nervensystems. Dadurch hält die Wirkung des Koffeins länger an, da der Körper zu keinem raschen Abbau des Neurotransmitters Adrenalin veranlasst wird.¹⁷

2. Kolanuss *Colae acuminata*

Der Extrakt aus der Kolanuss, (Abbildung 6), wird hauptsächlich aus den Samen der Schoten aus den zwei tropischen Cola-Arten „*Cola nitida*“ und „*Cola acuminata*“ hergestellt. Koffein und Theobromin (Abbildung 7) gelten als die zwei wichtigsten Inhaltsstoffe der Kolanuss.²¹



Abbildung 6: Kolanuss *Colae acuminata*.²²

Der Gehalt an Methylxanthinen, **Koffein** und **Theobromin**, beträgt ungefähr 1,5 % - 2,5 %. Der Koffeingehalt kann jedoch, abhängig von der jeweiligen *Cola*-Art sowie der Behandlung der Kolanuss, zwischen 1,5 % - 3,8 % variieren.²¹

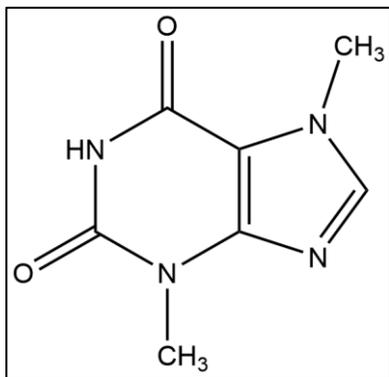


Abbildung 7: Strukturformel von Theobromin.

In der Lebensmittelindustrie findet der Kolanuss-Extrakt als natürlicher Aromastoff Anwendung. Zur Behandlung von geistiger und körperlicher Müdigkeit wird die Kolanuss aufgrund des Koffeingehalts als natürliches, pflanzliches Präparat verwendet.²¹

3. Goji-Beere *Lycii barbarum*

Die reife Frucht von *Lycium barbarum* L. (siehe Abbildung 8) findet in asiatischen Ländern Anwendung in der traditionellen, pflanzlichen Medizin und wird aufgrund der langen und sicheren Verwendung der Goji-Beere in der traditionellen chinesischen Medizin (TCM) als Nahrungsergänzungsmittel verkauft bzw. als Lebensmittel klassifiziert.²³



Abbildung 8: *Lycium barbarum* Frucht.²³

Neue Studien weisen darauf hin, dass Extrakte aus *Lycium* Früchten aufgrund ihrer aktiven Verbindungen, den Polysacchariden, auch *Lycium barbarum polysaccharides* (LBP) genannt, eine Reihe von biologischen Aktivitäten besitzen, einschließlich Wirkungen auf den Alterungsprozess. Außerdem gelten die Neuroprotektion, Wirkungen gegen Müdigkeit, also eine erhöhte Ausdauer, Erhöhung des Stoffwechsels, eine Glukosekontrolle bei Diabetikern, Wirkungen bei Glaukomen, antioxidative Eigenschaften, eine Immunmodulation, sowie Anti-Tumor-Aktivitäten und Zytoprotektion als weitere Charakteristika dieser Inhaltsstoffe.²³

Unter den chemischen Bestandteilen der *Lycium* Frucht ist die Gruppe wasserlöslicher Polyzucker, LBP, die ungefähr 5 % - 8 % der getrockneten Früchte ausmachen, am besten untersucht.²³

In China wird der Gehalt an LBP in *Lycium*-Extrakten für die Wirksamkeit verantwortlich gemacht. In der TCM werden bioaktive Polysaccharide aus den unterschiedlichsten Pflanzen

und Pilzen mit einem breiten Spektrum an immunmodulatorischen Aktivitäten in Verbindung gebracht. Deswegen stellt in China ein hoher Gehalt an Polysacchariden einen Indikator für den medizinischen Status dieser Naturprodukte dar.^{24, 25}

Die orange-rote Farbe der ellipsenförmigen *Lycium barbarum* Früchten (siehe Abbildung 8) ist auf die in der Goji-Beere enthaltene Inhaltsstoffgruppe der Carotinoide zurückzuführen. Diese machen ungefähr 0,03 % - 0,5 % der getrockneten Früchte aus.²³

Von den insgesamt elf freien Carotinoiden und sieben Carotinoid-Estern aus den *Lycium* Extrakten kommt dem Carotinoid Zeaxanthin, hauptsächlich vorliegend als Dipalmitat, die größte Bedeutung zu. Dieses Carotinoid macht etwa ein Drittel bis die Hälfte der gesamten Carotinoide aus.²³

Zeaxanthin, ein Isomer von Lutein, ist ein gelber Farbstoff und ein Derivat von β -Carotin. Das Carotinoid reichert sich im Fettgewebe, insbesondere in der Region der Netzhaut (Makula), an. Dadurch trägt Zeaxanthin zum Schutz vor einer Degeneration der Makula bei, welche durch eine übermäßige Sonneneinstrahlung (UV-Licht) und andere oxidative Prozesse induziert werden kann.^{26, 27, 28}

Weitere Inhaltsstoffe der Goji-Beere sind der Neurotransmitter **GABA** und die Aminosäure **Taurin**.²³ GABA (siehe Abbildung 9) ist eine in Pflanzen, Bakterien und Wirbeltieren weit verbreitete freie Aminosäure.²⁹

Diese entsteht durch die irreversible α -Decarboxylierungsreaktion von L-Glutaminsäure oder ihrer Salze, katalysiert durch das Enzym Glutaminsäure-Decarboxylase.³⁰

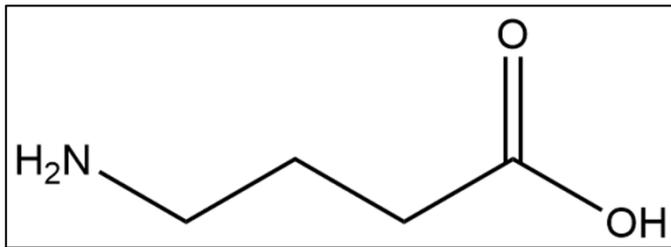


Abbildung 9: Strukturformel von GABA.

GABA wird erfolgreich gegen Schlaflosigkeit und Depressionen eingesetzt.²⁹

Der Neurotransmitter GABA führt zur Aktivierung der Leber- und Nierenfunktion und dient der Vorbeugung und Behandlung von Diabetes. Außerdem wirkt GABA stabilisierend auf den Blutdruck, den Hormonhaushalt und besitzt entzündungshemmende Eigenschaften.^{29, 31, 32}

Taurin (2-Aminoethansulfonsäure) ist eine einfache schwefelhaltige Aminosäure (siehe Abbildung 10), welche praktisch in allen tierischen Zellen vorkommt. Insbesondere ist sie in elektrisch erregbaren Geweben wie Gehirn, Netzhaut, Herz und Skelettmuskeln angereichert.²⁹

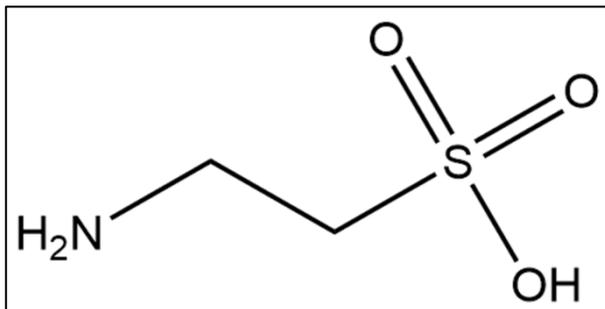


Abbildung 10: Strukturformel von Taurin.

Im ZNS ist Taurin an wichtigen Prozessen, wie der Regulation des Zellvolumens und der hemmenden Neurotransmission beteiligt.^{33, 34, 35, 36}

Taurin verstärkt, als GABA-Mimetikum, die Wirkung von GABA, indem es an den gleichen GABA-Rezeptoren angreift.^{35, 36}

Eine weitere wichtige Eigenschaft dieser Aminosäure ist die neuroprotektive Wirkung, die zum Teil auf die antioxidative Wirkung von Taurin zurückzuführen ist.³⁶

4. Guaranasamen *Guarana paullinia cupana*

Guarana paullinia cupana ist eine brasilianische Pflanze (siehe Abbildung 11), deren Samen als einziger Bestandteil dieser Pflanze für den menschlichen Verzehr geeignet ist. Die Guaranasamen enthalten neben **Koffein** außerdem **Theophyllin**, **Theobromin**, Xanthin-Derivate, Gerbstoffe und Catechine. In geringen Mengen kommen auch Saponine, Stärke, Fette, Cholin und Pigmente in den Guaranasamen vor.³⁷



Abbildung 11: *Guarana paullinia cupana* Pflanze.³⁸

Guarana wird in anderen Kulturen auch therapeutisch eingesetzt, beispielsweise als Diuretikum, Antineuralgikum, Schmerzmittel, Fiebermittel und zur Behandlung von Migräne.³⁷

Untersuchungen zeigten, dass Guaranasamenextrakte sowohl antioxidative als auch antimikrobielle Eigenschaften aufweisen.³⁷

Der Gesamtgehalt an phenolischen Verbindungen der im Guaranasamen vorkommenden Verbindungen wie Proanthocyanidine und Catechine konnte in einer Reihe von Studien mit den antimikrobiellen und antioxidativen Aktivitäten in Verbindungen gebracht werden.³⁷

5. Feigenkaktus *Opuntia ficus-indica*

Aufgrund der zahlreichen gesundheitsfördernden Eigenschaften der essbaren Früchte von *Opuntia ficus-indica* (siehe Abbildung 12) ist die Verwendung als NEM von besonderem Interesse. Es wurde wissenschaftlich in einer Reihe von Studien nachgewiesen, dass *Opuntia ficus-indica* entzündungshemmend, antiviral, antioxidativ und präventiv gegen Krebs und Diabetes Typ II schützen soll.³⁹



Abbildung 12: Kaktusfeige *Opuntia ficus-indica*.⁴⁰

Das auffälligste Merkmal der *Opuntia ficus-indica* sind die gelben (Betaxanthine) und roten (Betacyanine) Betalaine in den Früchten. Bei diesen bioaktiven Komponenten handelt es sich um stickstoffhaltige, vakuoläre Pigmente, die in den meisten Pflanzenfamilien der Caryophyllales die Anthocyane ersetzen. Die Moleküle werden in den Vakuolen der Pflanzen der Ordnung der Korbblütler synthetisiert und gespeichert. Zwei dieser Verbindungen sind Betanin und Indicaxanthin, welche charakteristisch für die Früchte von Kaktusarten wie *Opuntia ficus-indica* sind. Die beiden Verbindungen besitzen antioxidative Eigenschaften. Das Vorhandensein weiterer Antioxidantien wie z. B. Ascorbinsäure, Carotinoide, Glutathion, Cystein, **Taurin** und Flavonoiden wurde in den Früchten der Kaktusfeige nachgewiesen.^{39, 41}

6. Griffonia *Griffonia simplicifolia*

Die westafrikanische Hülsenfrucht *Griffonia simplicifolia* (siehe Abbildung 13) ist ein tropischer Strauch, der in westafrikanischen Ländern wie Ghana, Togo und an der Elfenbeinküste wächst. Dieser Strauch wird circa drei Meter hoch und trägt grüne Blüten, gefolgt von schwarzen Schoten, die im Zeitraum zwischen Dezember und Februar reifen. Nach der Freisetzung der Samen von den reifen Früchten, werden diese geerntet und anschließend getrocknet. In der afrikanischen Volksmedizin werden die Blätter von *Griffonia simplicifolia* zur Behandlung von Wunden und der Saft aus den Blättern des Strauchs bei Blasen- und Nierenleiden eingesetzt. Die Samen weisen antibiotische und aphrodisierende Wirkungen auf und werden außerdem als Mittel gegen Übelkeit, Erbrechen und Magenschmerzen eingesetzt. Besondere Bedeutung kommt dem Einsatz der Samen bei der Behandlung von Angstzuständen, Depressionen, Müdigkeitserscheinungen, Migräne und Kopfschmerzen zu.⁴²

Eine hohe Konzentration an **5-HTP** (siehe Abbildung 14) wird in den reifen Samen von *Griffonia simplicifolia* gefunden. Andere Teile wie z. B. die Blätter der Griffonia Pflanze weisen niedrigere Konzentrationen an 5-HTP auf.⁴³



Abbildung 13: *Griffonia simplicifolia* Pflanze.⁴⁴

5-HTP ist normalerweise in geringen Mengen im ZNS vorhanden. Mittels des Enzyms Tryptophanhydroxylase wird aus der Aminosäure L-Tryptophan das 5-HTP synthetisiert, das wiederum effektiv in Serotonin (5-Hydroxytryptamin) durch das Enzym Aminosäure-Decarboxylase (AADC) umgewandelt wird.⁴²

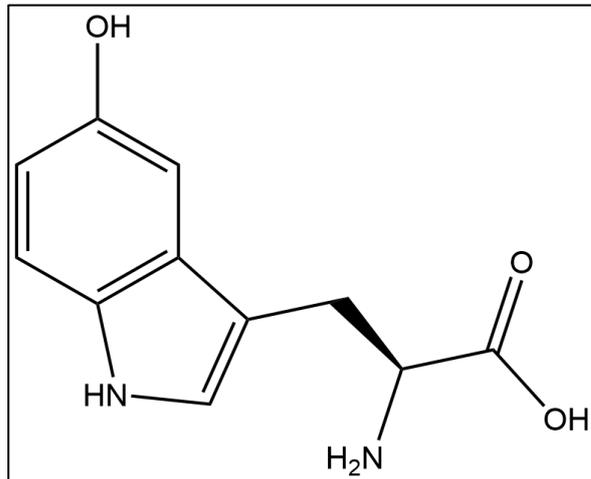


Abbildung 14: Strukturformel von 5-Hydroxy-L-Tryptophan.

5-Hydroxytryptamin (5-HT), also Serotonin, ist ein Monoamin-Neurotransmitter im ZNS, der eine wichtige Rolle bei der Regulierung von Stimmung, Gedächtnis und vielen anderen Funktionen spielt.⁴²

Serotonin ist ein peripheres Hormon, das hauptsächlich von enterochromaffinen Zellen im Darm produziert und in den Blutplättchen gespeichert wird. Dadurch ist 5-HT an der Vasokonstriktion, der Hämostase und der Steuerung von Immunreaktionen beteiligt. Außerdem ist Serotonin eine Vorstufe für das Schlafhormon Melatonin und wird daher in der Zirbeldrüse (Epiphyse), einem Teil des Zwischenhirns, in großen Mengen synthetisiert. Der Botenstoff Melatonin wirkt schlaffördernd und steuert zudem den Tag-Nacht-Rhythmus⁴⁵

Ein Mangel dieses Neurotransmitters wird als Ursache für verschiedene Störungen wie z. B. Angstzuständen, Depressionen, Schizophrenie, Fettleibigkeit und Drogenabhängigkeit beschrieben. Es wurde wiederholt in mehreren Studien gezeigt, dass die Verabreichung von 5-HTP bei Tieren den 5-HT-Spiegel im ZNS erhöht. Deshalb könnte *Griffonia simplicifolia* eine

neue therapeutische Strategie für die Behandlung von Serotonin-bezogenen Störungen bzw. Krankheiten darstellen. In den *United States of America* (USA) wird diese Intervention seit Jahren effektiv angewandt, während in Europa 5-HTP als Antimalaria Wirkstoff eingesetzt wird.⁴²

7. Rosenwurz *Rhodiola rosea*

Rhodiola rosea (siehe Abbildung 15) ist eine zweijährig blühende Pflanzenart aus der Gattung *Rhodiola* innerhalb der Familie der Dickblattgewächse und wird in den hohen Bergregionen angebaut. Sie wächst in kühleren Regionen Europas, Asien und Nordamerika.⁴⁶



Abbildung 15: Pflanze *Rhodiola rosea*.⁴⁷

Rhodiola rosea kann aufgrund der adaptogenen Wirkung die körperliche Fitness, geistige Wachheit, die Linderung von Depressionssymptomen und die neuromotorische Koordinationsfähigkeit signifikant verbessern. Adaptogene beschreiben in der Regel natürliche pflanzliche Produkte, die bei normaler Dosierung keine Toxizität aufweisen.^{46, 48, 49, 50}

Zu den biologisch aktiven Bestandteilen von *Rhodiola rosea* gehören Rosavine, Salidroside und **Kaffeensäure-Derivate**. Dabei liegt das Verhältnis von Rosavinen zu Salidrosiden ungefähr bei 3 zu 1.⁴⁶

Die adaptogene Wirkung wird aufgrund ihrer Widerstandsfähigkeit gegen ein sehr breites Spektrum von schädlichen Faktoren, auch „Stressoren“ genannt, unterschiedlicher physikalischer, chemischer und biologischer Natur als unspezifisch definiert.^{48, 49, 50}

Adaptogene wirken normalisierend, indem es potentiellen, durch „Stressoren“ hervorgerufenen, Störungen entgegenwirkt oder sie gänzlich verhindert. Die therapeutischen Wirksamkeiten der Adaptogene dürfen dabei jedoch keinen schädlichen Einfluss auf die normale Funktion des menschlichen Organismus aufweisen. Definitionsgemäß stellen Adaptogene eine neue Klasse von Stoffwechselregulatoren natürlichen Ursprungs dar, die nachweislich die Anpassungsfähigkeit des Organismus erhöhen, indem diese sich an Umweltfaktoren anpassen und Schädigungen derartiger Einflussfaktoren verhindern. Das Konzept der Adaptogene wird seit zehn Jahren allgemein anerkannt und findet seit kurzem Anwendung als funktioneller Begriff von Gesundheitsbehörden.^{48, 49, 50}

Die neueste Entwicklung besteht darin, die adaptogene Wirkung als eine Erhöhung des basalen Niveaus des dynamischen Gleichgewichts (Homöostase) von "Einschalt"- und "Ausschalt"-Systemen zu sehen. Man kann sich also ein erhöhtes, aber ausgeglichenes Basalniveau der wichtigsten Botenstoffe, wie z. B. Katecholamine oder Inhibitoren wie Cortisol, des Stresssystems vorstellen. Im Gegensatz zu bereits bekannten Stoffwechsel-Stimulanzien unterscheiden sich Adaptogene hinsichtlich der Pharmakodynamik während der „Erholungsphase“ nach einer intensiven physiologischen „Arbeitsphase“, also nach Situationen erzwungener Muskelarbeit. Stimulanzien wie Phenamin bewirken eine kurzfristige Steigerung der Arbeitskapazität. Doch nach dem anfänglichen Anstieg folgt jedoch eine Phase einer deutlichen Abnahme der Arbeitsleistung in Bezug auf ein durchschnittliches Leistungsniveau. Beim Menschen treten während dieses Zustands eine Reihe von unangenehmen Nebenwirkungen wie beispielsweise Herzrasen, Bluthochdruck oder Schweißausbrüche auf. Außerdem führt eine wiederholte Anwendung von Stimulanzien des Nervensystems, wie Phenamin etc., zu einer Abnahme der konditionierten Reflexe, was zum Teil bedingt durch eine vorangegangene Ausschüttung der Katecholamine im Gehirn ist. In einer Reihe von Studien zeigten Extrakte und Glykoside der Adaptogene von *Rhodiola*, im

Gegensatz zu den pharmakologischen Wirkungen von ZNS-Stimulanzien wie Phenamin, eine unterschiedliche Form der pharmakodynamischen Wirkung. Hier folgt nach Erreichen des maximalen Leistungsniveaus kein entsprechendes Minimum der durchschnittlichen Arbeitskapazität. In der Abbildung 16 wird ersichtlich, dass Adaptogene ohne Nebenwirkungen die Funktion der Regulierung unterstützen, während bei einer ZNS-Stimulation bzw. Doping eine vorübergehende Überbeanspruchung der Energieressourcen stattfindet, die dann ein Maximum des Leistungsniveaus erreicht. In diesem Fall können eine Reihe von unerwünschten Nebenwirkungen auftreten. Dagegen verursachen auch bei langfristiger Anwendung Adaptogene keine stimulanzen-ähnliche Nebenwirkungen, da sie lediglich einen Stressschutz-Effekt besitzen und somit die Stressantwort vorübergehend unterbinden können. Dennoch weisen Adaptogene eine messbar kräftige Wirkung sowohl bei Einmaldosen, als auch bei längerem Gebrauch auf, die sich in einer erhöhten geistigen und körperlichen Leistungsfähigkeit, besonders vor dem Hintergrund von Müdigkeit und Stress, zeigt. Die allgemein angenommene Hypothese hinter den Erkenntnissen ist, dass die adaptogene Wirkung von der zellulären Synthese von Nukleinsäuren abhängt, einem Effekt, der in scharfem Kontrast zu den ZNS-Stimulanzien stehen würde.^{48, 49, 50}

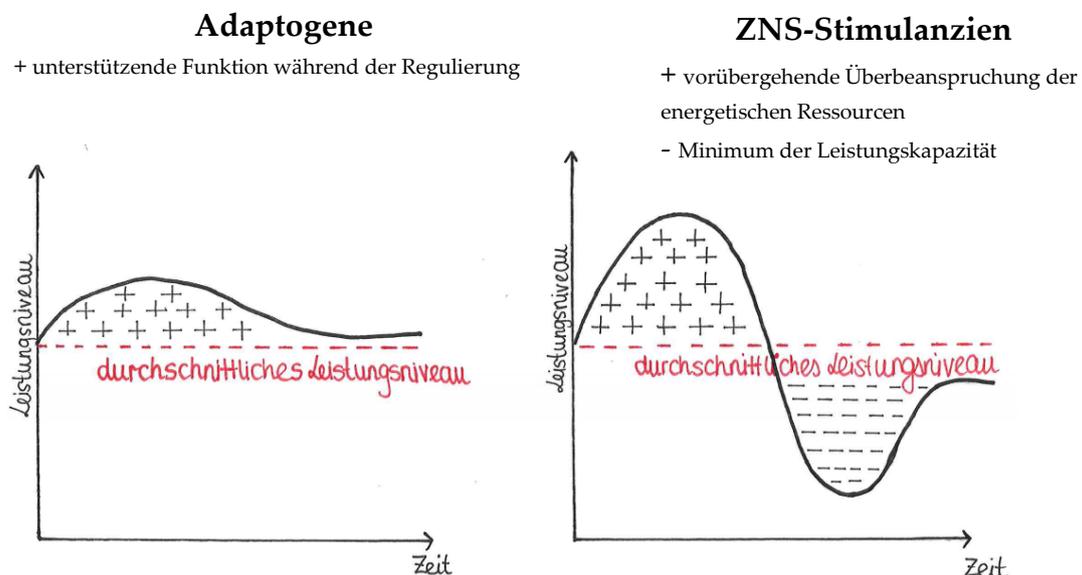


Abbildung 16: Unterschied zwischen Adaptogene und Stimulanzien.⁴⁸

8. Johanniskraut *Hypericum perforatum*

Hypericum perforatum L. ist ein mehrjähriges Kraut, das allgemein als Johanniskraut bekannt ist. Basierend auf den pharmakologischen und chemischen Eigenschaften wird dieses Kraut als wirksames adaptogenes pflanzliches Heilmittel eingesetzt. Im Vordergrund steht die antidepressive Wirkung des Johanniskrauts, ferner die antivirale und antimikrobielle Aktivität gegen eine Reihe von Bakterien- und Pilzstämmen.⁵¹



Abbildung 17: Johanniskraut *Hypericum perforatum*.⁴⁹

Johanniskraut wird zur Behandlung von Wunden, Ekzemen, Verbrennungen, Erkrankungen des Verdauungstraktes und psychischen Störungen eingesetzt.⁵¹

Alkoholisch-wässrige Auszüge aus den oberirdischen Teilen der Pflanze enthalten ein breites Spektrum an Naturprodukten, wie Naphthodianthronen, Phloroglucinole, Flavonoide, Biflavone, Phenylpropane und Proanthocyanidine. Zusätzlich sind geringere Mengen an Gerbstoffen, Xanthonen, ätherischen Ölen und Aminosäuren vorhanden. Alle diese genannten Verbindungen stellen die Hauptbestandteile im trockenen rohen *Hypericum perforatum* Kraut dar.⁵²

Naphthodianthrone sind typisch für die Gattung *Hypericum* mit einer intensiven roten Farbe und weisen photosensibilisierende Eigenschaften auf. Das bedeutet, dass diese Verbindungen

im menschlichen Organismus unter Einfluss der natürlichen oder künstlichen ultravioletten Strahlung (UV-Strahlung) eine gewisse Übersensibilität der Haut erzeugen. Zwei sogenannte Protoderivate, Protohypericin und Pseudoprotoshypericin sind Stoffe, die theoretisch aus der Pflanze isoliert werden können, aber aufgrund ihrer natürlichen Instabilität effektiv in die beiden Verbindungen Hypericin und in das Pseudohypericin umgewandelt werden (siehe Abbildung 18). Bei Pseudohypericin handelt es sich um das Hauptnaphthodianthron, welches in zweifach bis vierfach höherer Menge in der Pflanze als Hypericin enthalten ist. Diese beiden Verbindungen kommen in den Blüten und Blättern des rohen Pflanzenmaterials in Konzentrationen von 0,03 % – 0,3 % des Trockengewichtes vor. Dabei variieren die Konzentrationen dieser Verbindungen je nach Entwicklungsstadium und Wachstumsbedingungen der Pflanze sehr stark. Cyclopseudohypericin, ein Oxidationsprodukt von Pseudohypericin, ist teilweise mit verantwortlich für die rote Farbe von *Hypericum perforatum*-Extrakten. Die Hypericine sind die wichtigsten Bestandteile von *Hypericum perforatum*-Extrakten. Viele pharmakologische Wirksamkeiten werden für diese Verbindungsklasse beschrieben. Zum Beispiel die Hemmung bei einer viralen Infektion der Phosphorylierung durch die Proteinkinase C. Dadurch lässt sich die antiretrovirale Aktivität erklären. Hypericin ist der photosensible Bestandteil der Pflanze und wird deshalb als Photosensibilisator für die photodynamische Krebstherapie vorgeschlagen und eingesetzt.^{51, 52, 53}

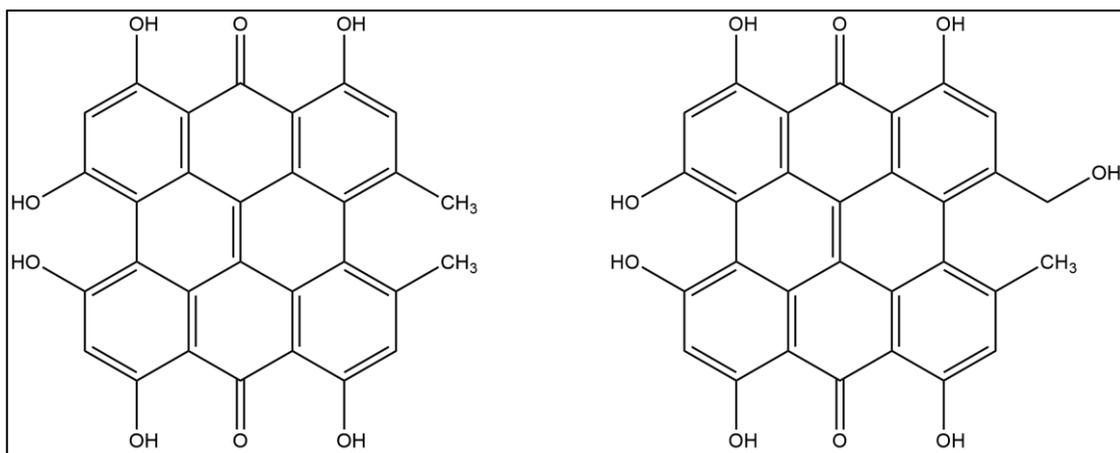


Abbildung 18: Strukturformel von Hypericin (links) und Pseudohypericin (rechts).

Tabelle 7: Übersicht der pharmakologischen Wirksamkeiten der Leitkomponenten von *Hypericum perforatum*.⁵²

Inhaltsstoffe des Krauts		Gruppe	Wirksamkeiten der Inhaltsstoffe,
I	Amentoflavone (Abb. 19)	Biflavone	entzündungshemmend, gefäßerweiternd, Antioxidationsmittel
II	Hyperforine (Abb. 20)	Phloroglucinole	antibakteriell gegen grampositive Bakterien, Antidepressivum, kanzerogen Antimalariamittel, Neurotransmitter-Hemmer
III	Hypericin (Abb. 18), Proanthocyanidine	Naphthodianthrone	antidepressive Aktivität, antiviral, entzündungshemmend
IV	Procyanidin B2 (Abb. 21)	Proanthocyanidine	Antioxidativ, antimikrobiell, antiviral, gefäßerweiternd
V	Chlorogensäure (Abb. 22)	Phenylpropane	die pharmakologische Wirkung bei <i>H. perforatum</i> ist unbekannt
VI	Hyperin (Abb. 23), Rutin, Quercitrin	Flavonoide	Antidepressivum, Monoaminoxidase-(MAO)- Hemmer
VII	1,3,5,8- Tetrahydroxyxanthon (Abb. 24)	Xanthone	Antidepressivum, antimikrobiell, antiviral, harntreibend, kardiotonisch, MAOA-Hemmer

Die Pflanze enthält ein breites Spektrum an biologisch aktiven Substanzen (siehe Tabelle 7). Die pharmakologischen Eigenschaften, die aus verschiedenen Extrakten der Pflanze gewonnen werden, variieren erheblich abhängig von der spezifischen chemischen Zusammensetzung der einzelnen Extrakte. Es ist aber anzumerken, dass die Löslichkeit dieser Komponenten extrem niedrig ist. So ist z. B. 1 mg Hypericin in 1 Liter Aceton löslich, in Wasser jedoch nicht. Es gibt umfangreiche Studien über die Wirkung des Krauts gegen Depressionen, die deutlich machen, dass Johanniskraut eine sichere und wirksame Behandlung von leichten bis mittelschweren depressiven Zuständen darstellt. Dies manifestiert sich auch in der Tatsache, dass derartige Produkte als einzige pflanzliche Produkte im deutschen Gesundheitssystem von der gesetzlichen Krankenkasse übernommen werden.^{52, 54}

I

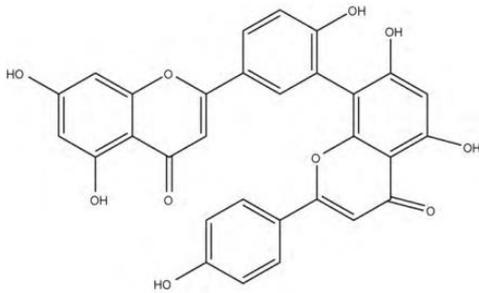


Abbildung 19: Strukturformel von Amentoflavone.

II

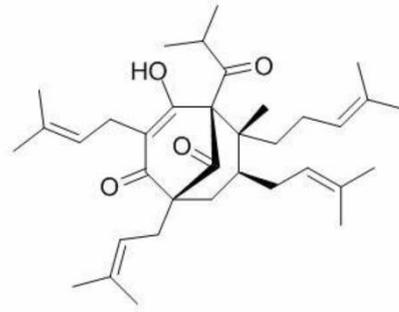


Abbildung 20: Strukturformel von Hyperforin.

IV

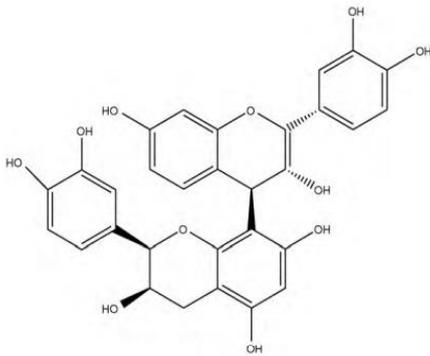


Abbildung 21: Strukturformel von Procyanidin B2.

V

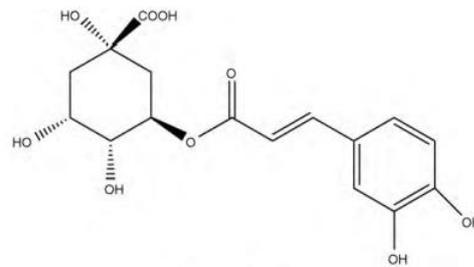


Abbildung 22: Strukturformel von Chlorogensäure.

VI

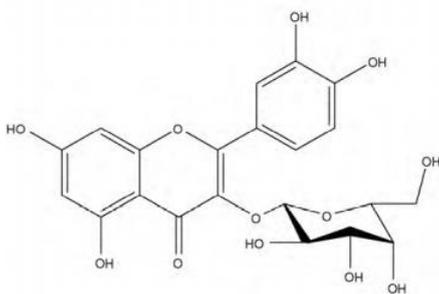


Abbildung 23: Strukturformel von Hyperin.

VII

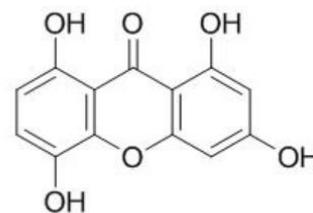
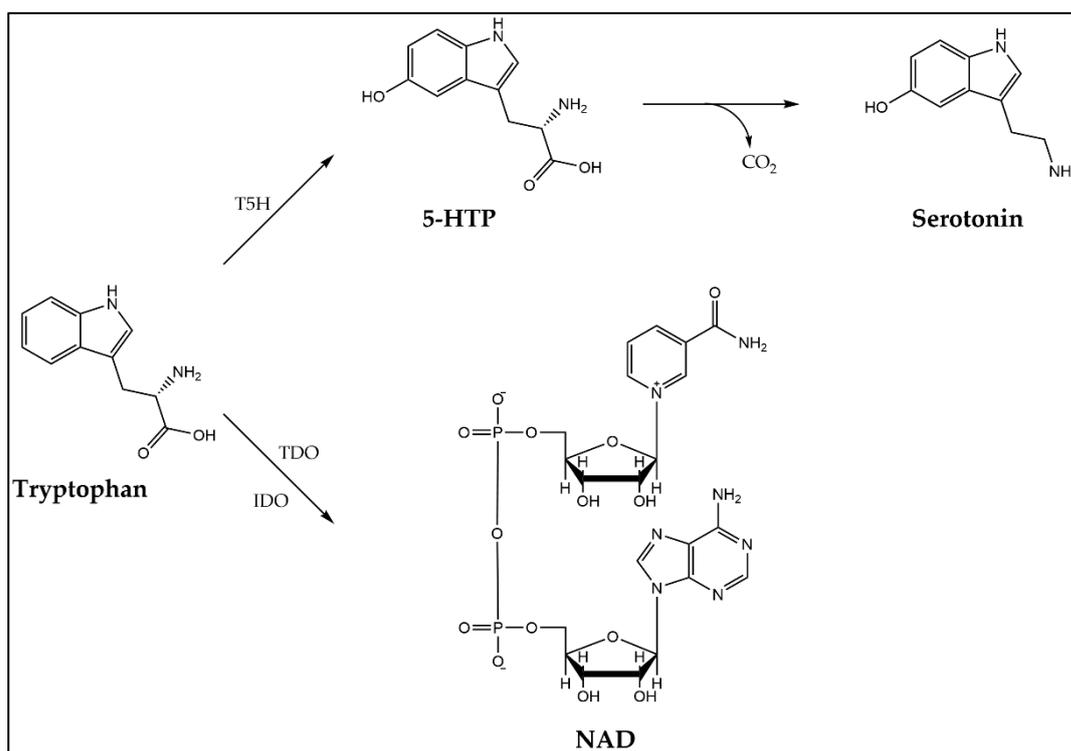


Abbildung 24: Strukturformel von 1,3,5,8-Tetrahydroxyxanthone.

5.3.2 Weitere Stoffe in „Serofive“ mit ernährungsphysiologischen Wirkungen

1. Tryptophan

Die Aminosäure Tryptophan, unter anderem auch als Vorstufe von 5-HTP, kann vom Körper selbst nicht hergestellt werden und ist somit essentiell. Diese Aminosäure ist Bestandteil von Proteinen und außerdem ein Substrat für zwei wichtige Biosynthesewege (Abbildung 25). Zum einen katalysiert das Enzym Tryptophan-5-Hydroxylase (T5H) die Bildung des Neurotransmitters 5-HTP, der dann im nächsten Schritt durch Decarboxylierung zum Endprodukt Serotonin umgesetzt wird. Der zweite Biosyntheseweg ist die Bildung von Kynurenin-Derivaten und Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD). Hier sind die Enzyme Tryptophan-2,3-Dioxygenase (TDO) und Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) daran beteiligt. TDO ist in den Leberzellen lokalisiert, während IDO in vielen Zellen, beispielsweise den dendritischen Zellen, exprimiert wird.^{53, 54}

Abbildung 25: Biosyntheseweg von Tryptophan.⁵⁴

Niedrige Serum/Plasma-Konzentrationen von Tryptophan werden bei Infektions-, Autoimmun- und malignen Erkrankungen sowie bei Störungen beobachtet, die bei der Immunaktivierung beteiligt sind. Auch während der Schwangerschaft wird dieses Phänomen, aufgrund der beschleunigten Tryptophanumwandlung, beobachtet. Daher kann eine niedrige Tryptophankonzentration zu einer Immunschwäche beitragen. Ein niedriger Gehalt von Tryptophan im Serum kann auch die Serotoninbiosynthese negativ beeinflussen und damit zu einer verminderten Lebensqualität führen und Depressionen fördern. Die Zugabe von Tryptophan als Bestandteil in „Serofive“ bewirkt eine Verschiebung des Gleichgewichts zu 5-HTP und damit eine erhöhte Zufuhr von 5-HTP über die Blut-Hirn-Schranke (BHS) in das ZNS.^{53, 54}

2. Das Spurenelement Selen – eine Stimmungs-Stimulanz

Die Behauptung, dass das essentielle Spurenelement Selen die Stimmung hebt, ist inzwischen sowohl in der wissenschaftlichen Literatur als auch in der populären Presse häufig anzutreffen. Es gibt eine Reihe von Hinweisen und Studien, dass Selen wichtig für unser Gehirn ist. Wissenschaftliche Erkenntnisse sind beispielsweise, dass bei einem vorliegenden Selenmangel das Gehirn vorrangig versorgt wird, die Neurotransmitter-Umsatzrate bei einem Selendefizit verändert vorliegt und dass hartnäckige epileptische Anfälle durch eine entsprechende Selen-Supplementierung vermieden werden könnten. Bei Alzheimer-Patienten werden häufig sehr niedrige Selenkonzentrationen im Gehirn nachgewiesen. Weitere positive Eigenschaften von Selen sind die antioxidative Wirkung, die positiven Auswirkungen auf die Stimmung und der Einsatz zur Prävention und Behandlung der Parkinson-Krankheit. Die Zugabe des Spurenelements Selen in der „Serofive“-Rezeptur soll die Stimmung positiv beeinflussen.^{57, 58}

3. Cholecalciferol (Vitamin D3)

Vitamin D (Abbildung 26) hat wichtige Funktionen im menschlichen Gehirn und spielt möglicherweise eine Rolle bei affektiven Störungen. Vitamin D-Rezeptoren werden in mehreren Gehirnregionen exprimiert, die mit depressiven Störungen in Verbindung gebracht werden. Bei den affektiven Krankheiten handelt es sich um weltweit verbreitete psychische Störungen wie z. B. Depressionen und Angststörungen. In einer Reihe von Studien konnte die positive Wirkung von Cholecalciferol bei depressiven Zuständen bestätigt werden. Auch bei anderen neurologischen Erkrankungen wie Schizophrenie oder Multiple Sklerose zeigt die Gabe von Vitamin D positive Auswirkungen. Durch die Zugabe von Vitamin D in der Rezeptur von „Serofive“ soll das Lebensgefühl gesteigert werden, indem latente Ängste und depressive Stimmungen abgebaut werden.⁵⁹

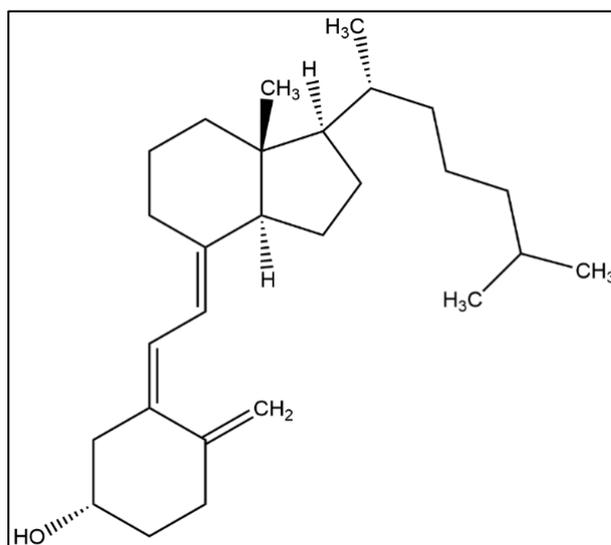
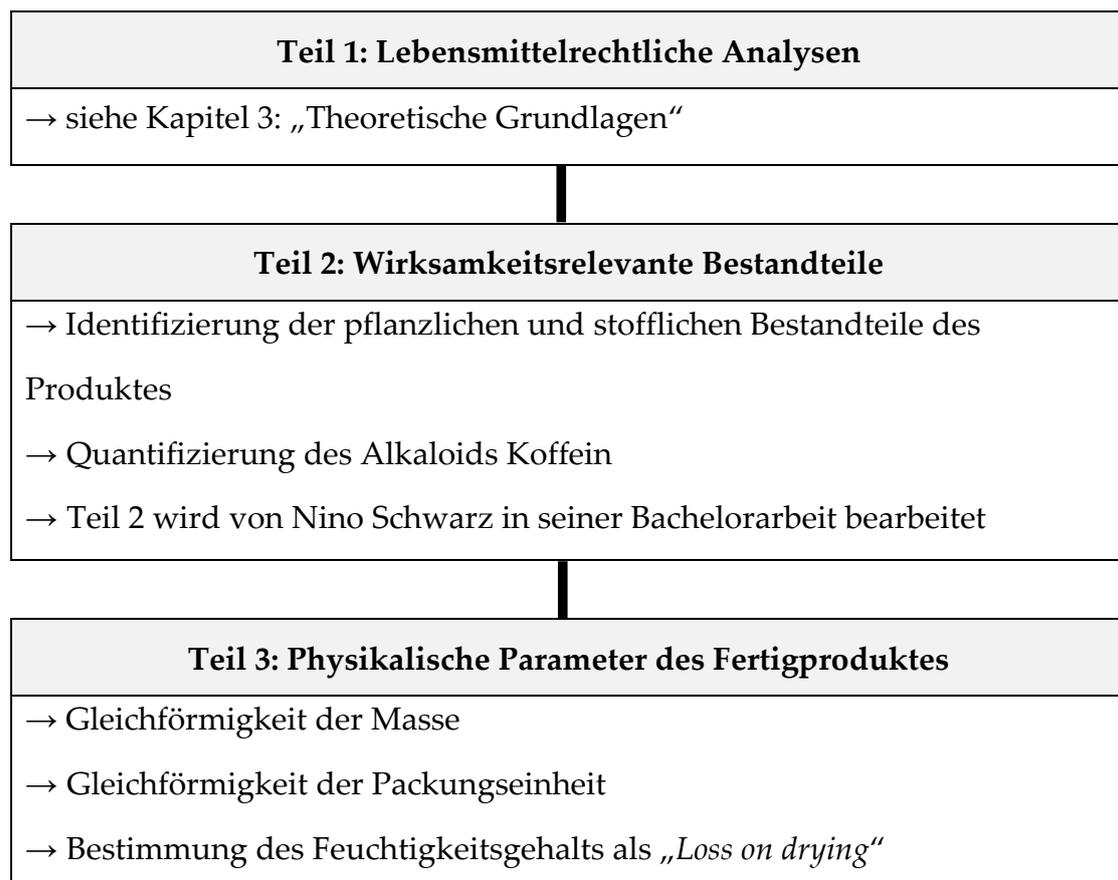


Abbildung 26: Strukturformel von Cholecalciferol.

5.3.3 Charakterisierung im Rahmen eines Prüfzertifikats

Um die gesetzlichen Anforderungen, sowie darüberhinausgehende Anforderungen an hochwertige Produkte hinreichend erfüllen zu können, wird die Analytik in drei generelle Bereiche unterteilt. Teil 1: LM-rechtliche Analysen. Diese müssen gemäß den EU-Vorgaben einmal jährlich an einer vom Hersteller festgelegten repräsentativen Charge durchgeführt werden. Teil 2: Wirksamkeitsrelevante Bestandteile. Diese Analysen sind nicht reglementiert und werden gemäß betriebsinternen Festlegungen regelmäßig durchgeführt. Teil 3: Physikalische Parameter des Fertigprodukts. Diese Untersuchungen betreffen die jeweiligen Produktionschargen und werden ebenfalls regelmäßig durchgeführt und reglementiert.

Hinsichtlich der Charakterisierung im Rahmen eines Prüfzertifikats sollten zwingend 3 Teilbereiche betrachtet werden.



5.4 Koffein – ein Risikofaktor?

Aufgrund rechtlicher Beurteilungen gilt für sogenannte „Energydrinks“ eine Höchstmengenverordnung hinsichtlich einer entsprechenden Gehaltsdosierung für den „Muntermacher“ Koffein. Abhängig vom jeweiligen Land variieren die Regulierungen hinsichtlich des maximalen Koffeingehalts bis hin zu entsprechenden Gesundheitswarnungen. Dieser Bereich reicht von 50 mg Koffein pro Liter bis hin zu Dosen von 500 mg pro Liter. In Deutschland gilt für Energydrinks eine national festgelegte Höchstmenge von **320 mg** Koffein pro Liter, die auch als Maximalwert für das neuartige Produkt „Serofive“ herangezogen wurde.⁶⁰

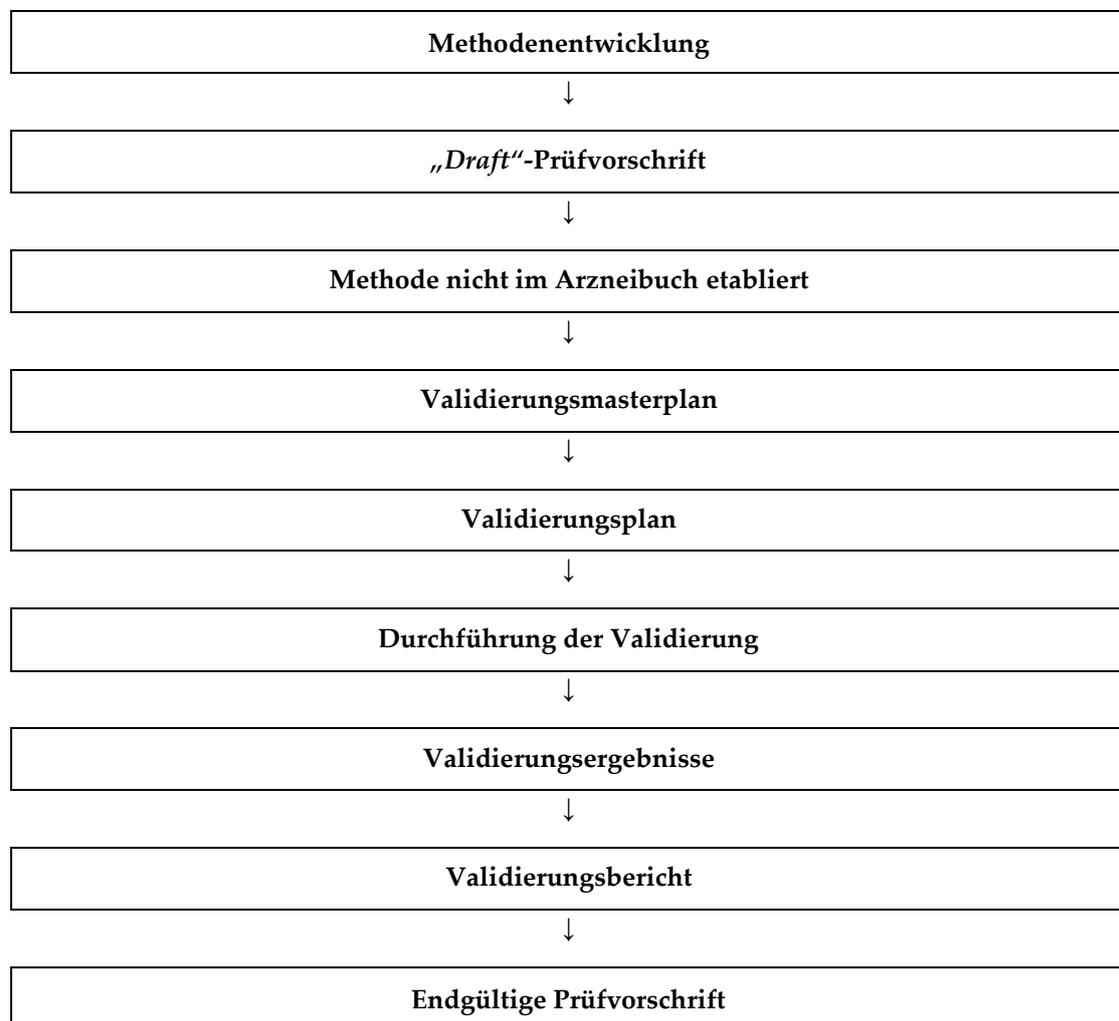
Derzeit gibt es rechtlich keine Festlegung für andere Nahrungsergänzungsmittel außer bei Getränken. Zur Vorbeugung einer möglichen Rechtsänderung oder aber um Interpretationen durch Aufsichtsbehörden entgegen zu wirken, wurde intern festgelegt, den Gesamtgehalt an Koffein, der sich im vorliegenden Produkt aus mehreren pflanzlichen Quellen speist, quantitativ zu bestimmen, um eine Überschreitung der maximalen täglichen Zufuhrmenge begrenzen zu können.

5.4.1 Valide Analytik

Zur quantitativen Bestimmung von Koffein wird ein validiertes, quantitatives Prüfverfahren eingesetzt. Könnte hierbei auf ein Prüfverfahren des europäischen Arzneibuches zurückgegriffen werden, gilt dieses Verfahren dann zwar als valide, wobei die Systemanalyse hinsichtlich des Einflusses der Produktmatrix auch im Rahmen einer Teilvalidierung belegt werden muss. Dies kann durch eine sogenannte „Standardadditionsmethode“ mit reinem Wirkstoff realisiert werden. Sollte keine entsprechende Arzneibuchmethode vorliegen, ist eine Kompletvalidierung für die neue Gehaltsbestimmung („Assay“) gemäß ICH-Guidelines (*International Conference on Harmonisation*) durchzuführen.

5.4.2 Validierung in der Analytik

Für die Durchführung einer Validierung muss im Vorfeld ein Validierungsmasterplan erstellt sein, indem alle entsprechenden Anforderungen definiert werden. Anschließend wird, darauf basierend, ein auf das Produkt abgestimmter Validierungsplan erstellt, der vor allem alle Werte der Akzeptanz-Kriterien im Vorfeld definiert. Nach der Durchführung der Validierung wird basierend auf den Prüfergebnissen ein entsprechender Validierungsbericht erstellt, der die Validität durch die Einhaltung der Akzeptanz-Kriterien belegt.



5.5 Mögliche, rechtlich zulässige Werbeaussagen

Werbeaussagen sind zielmarktspezifisch und unterliegen somit den verbindlich festgelegten Richtlinien des jeweiligen Zielmarkts. Dieser rechtliche Rahmen schützt die Verbraucher vor Irreführung und falschen Wirkversprechen. In Europa sind gesundheitsbezogene und implizierende Aussagen hierzu für NEM's nicht legal und müssten zugelassen werden. Für die Zulassung ist ein eindeutiger wissenschaftlicher Nachweis der Wirkung erforderlich. Kreative Umschreibungen, wie z. B. „Dieses Produkt dient der Entspannung“ sind daher marktüblich (siehe Tabelle 8).

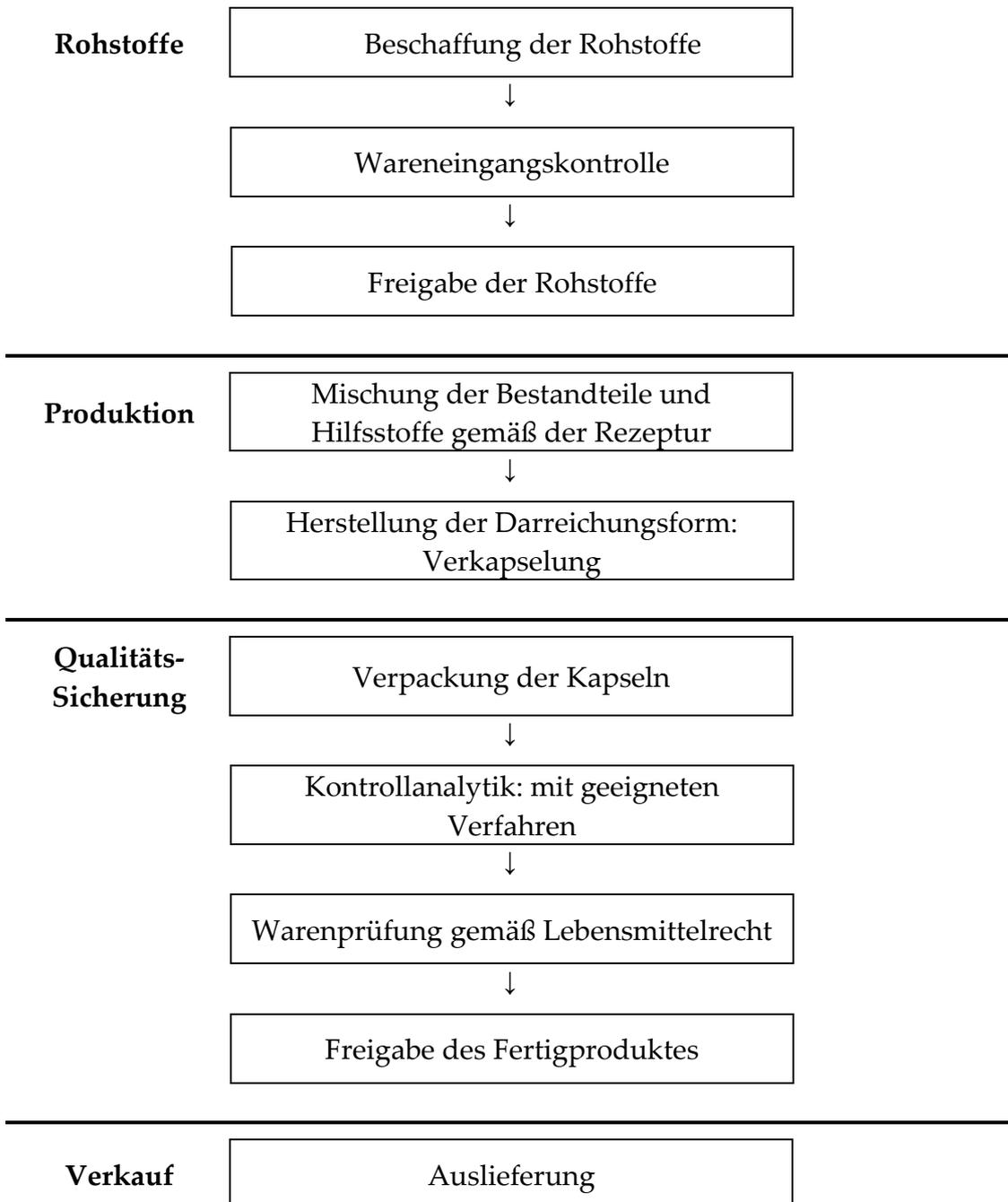
Tabelle 8: Übersicht über Beispiele von Werbeaussagen hinsichtlich des rechtlichen Rahmens.

	Werbeaussagen „Claims“	Einhaltung von Rechtsvorschriften „Legal Compliance“
✓	„...steigert den Wohlfühlfaktor“	keine gesundheitsbezogene Werbeaussage
✓	„...dient der Entspannung“	keine gesundheitsbezogene Werbeaussage
✓	„...hebt die Stimmung“	keine gesundheitsbezogene Werbeaussage
✓	„...fördert die gute Laune“	keine gesundheitsbezogene Werbeaussage
-	„...kann Magen-Darm-Erkrankungen lindern“	krankheitsbezogene Werbeaussage
-	„... hilft bei Diabetes“	krankheitsbezogene Werbeaussage
-	„...für gesunde Knochen und Gelenke“	gesundheitsbezogene Werbeaussage
-	„...zur Stärkung der Blasengesundheit“	gesundheitsbezogene Werbeaussage

Im Folgenden werden die hierzu umzusetzenden Konsequenzen aller beschriebenen rechtlichen Rahmenbedingungen detailliert umgesetzt.

6. Praktischer Teil

6.1 Übersicht über das Ablaufschema zur Produktion von „Serofive“-Kapseln



6.2 Möglichkeiten von Darreichungsformen

Im europäischen bzw. auch deutschen Arzneibuch werden Kapseln als feste Darreichungsform beschrieben. Es wird zwischen Hart- und Weichgelatine-Kapseln, sowie in Anlehnung an die Tablettenmonographie zwischen normalen, sowie magensaftresistenten Kapseln und Kapseln mit modifizierter Wirkstoff-Freisetzung (Retard), unterschieden. Häufig bestehen die Hüllen der Kapseln aus Gelatine. Aufgrund von vegetarischer bzw. veganer Ernährung, religiösen Ansichten oder ethischen Gründen werden vermehrt gelatinefreie Kapseln eingesetzt. Die Grundmasse dieser Kapseln besteht aus Stärke, Carrageenan oder Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), aus der transparente bzw. gefärbte Kapselhüllen geformt werden können.⁶¹

Hartgelatine-Kapseln, auch Hartkapseln oder Steckkapseln genannt, bestehen aus zwei zusammensteckbaren Teilen, nämlich dem Kapselboden und der Kapselkappe. Hartgelatine-Kapseln gibt es in unterschiedlichen Formen und mit unterschiedlichem Fassungsvermögen, die durch unterschiedliche Zahlen und Buchstaben gekennzeichnet sind. Hartgelatine-Kapseln sind mit Feststoffmaterial, wie zum Beispiel Granulaten, Pellets, Minitabletten oder Pulvern gefüllt. Weitere Arten von Hartgelatine-Kapseln sind Snap-Fit Kapseln, bei denen keine leichte Öffnung möglich ist, da das Ober- und Unterteil der Kapsel einrasten. Stärke-Kapseln, bevorzugt für Vegetarier und „*elongated*“-Kapseln, eine verlängerte Kapselform, sind weitere Formen von Hartgelatine-Kapseln. Weichkapseln oder auch Weichgelatine-Kapseln genannt, haben dickere Hüllen als Hartgelatine-Kapseln und enthalten in den Kapselhüllen zusätzlich als Weichmacher noch Glycerol, Sorbitol und/oder Propylenglykol. Dies ist auch der Grund für die Benennung. Weichgelatine-Kapseln müssen nicht „weicher“ sein als Hartkapseln. Des Weiteren werden Weichkapseln im Gegensatz zu den Hartkapseln in einem Arbeitsgang geformt, aufgefüllt und wieder verschlossen. Diese werden meist mit Flüssig-Extrakten befüllt, dürfen jedoch aufgrund der Löslichkeit kein Wasser enthalten. Da die Rezeptur der „Serofive“-Kapseln durchgängig nur feste Bestandteile enthält, wurde als Darreichungsform die Hartgelatine-Kapsel gewählt.⁶¹

6.3 Vorproduktion von „Serofive“-Kapseln im Kleinmaßstab für die Produktentwicklung

Bei den Kapseln des NEM's „Serofive“ handelt es sich um Hartgelatinekapseln, deren Hüllen aus HPMC bestehen. Diese sind in einfacher Weise rezepturmäßig zu füllen. Dabei werden die leeren Kapseln per Hand mit dem Kapselboden nach unten in die Lochplatten des Abfüllgerätes eingesteckt und durch leichtes Verschieben der beiden unteren Lochplatten die Kapselböden fixiert (siehe Abbildung 27).⁶¹



Abbildung 27: Deckelplatte zum Abheben der Kapseloberteile.

Nach dem Abhebevorgang der Kapselkappen mit der Deckelplatte (siehe Abbildung 28), wird das Füllgut gleichmäßig in die Kapselböden eingestrichen (siehe Abbildung 29).⁶¹ Die festgelegten Mengen sind in den Tabellen 10 und 11 dokumentiert.

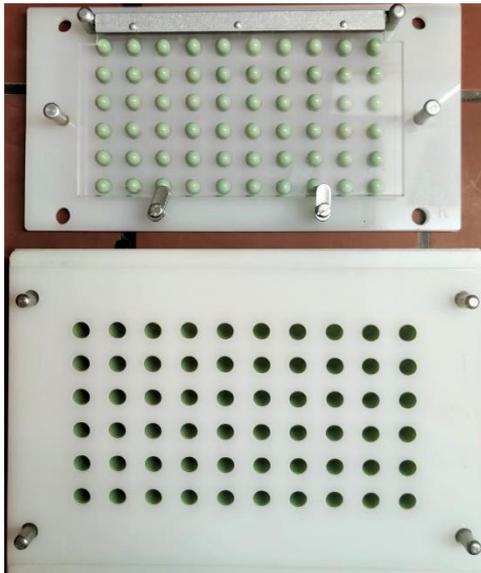


Abbildung 28: Abhebevorgang der Kapselkappen mit Hilfe der Deckelplatte.

Beim Befüllen der Kapselböden (siehe Abbildung 29) muss auf das Stampfvolumen geachtet werden, indem durch mehrmaliges Klopfen auf die Lochplatte die Zwischenräume in den Kapselböden hinreichend homogen aufgefüllt werden. Angestrebt wird eine möglichst lückenlose „dichteste Kugelpackung“.⁶¹



Abbildung 29: Kapselböden beim Abfüllvorgang.

Im letzten Schritt wird die Deckelplatte mit den Kapselkappen auf die zuvor befüllten Kapselböden (siehe Abbildung 29) aufgesetzt und mit Hilfe der Druckplatte bis zum Einrasten der Verriegelung über die gefüllten Kapselböden gedrückt. Somit erhält man die fertig verkapselten „Serofive“-Kapseln (siehe Abbildung 30).⁶¹



Abbildung 30: „Serofive“-Kapseln nach Kapselvorgang.

Beim Mischprozess zweier unterschiedlicher Pulver handelt es sich meistens nicht um monodisperse, kugelförmige Partikel. Abhängig vom Herstellungs- und Zerkleinerungsverfahren liegen stattdessen polydisperse, anisometrische Pulverpartikel vor, die sich ebenfalls in ihrer mittleren Korngröße und in der Masse der einzelnen Partikel unterscheiden.⁶¹

Zur Herstellung von pulverförmigen Zubereitungen finden Verfahren wie Zerkleinern, Mischen, Sieben und Trocknen Anwendung. Aufgrund der unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften der Pulver sind folgende Parameter (siehe Tabelle 9) für die Beurteilung der pharmazeutisch-technologischen Effizienz und des biopharmazeutischen Verhaltens bedeutsam.⁶¹

Tabelle 9: Parameter für die Herstellung von Pulverzubereitungen.⁶¹

1	Fließverhalten
2	Partikelgrößen, Partikelformen
3	Hohlräume, Schütt- und Stampfvolumen bzw. Schütt- und Stampfdichten
4	Oberflächeneigenschaften z. B. Benetzbarkeit
5	Löslichkeit

Pulver mit einer kleineren Korngröße fließen aufgrund der stärker ausgeprägten Adhäsionskräfte schlechter als grobkörnige Pulver. Das bedeutet, dass je stärker Pulverpartikel aneinanderhaften, desto schlechter ist die Fließmitteleigenschaft der Pulverpartikel. Das Fließverhalten von Pulvern lässt sich beispielsweise durch den Schüttwinkel, die Durchflussrate durch eine Düse, durch die horizontale Scherung oder durch den Kompressibilitätsindex charakterisieren.⁶¹

Die Schüttdichte erreicht man dadurch, dass loses Pulver in einen Behälter eingefüllt wird. Diese ist abhängig vom Ausgangszustand, einer eventuell vorausgegangenen Erschütterung oder Bewegung, des Pulvers. Sie ist definiert als das Verhältnis der Masse einer unverdichteten Probe des Pulvers zu ihrem Volumen, wobei im Volumen auch das Leervolumen der Hohlräume zwischen den Teilchen enthalten ist. Die Stampfdichte ist definiert als die Dichte eines Pulvers, die nach mechanischen Erschütterungen durch mehrmaliges mechanisches Aufstampfen des Behältnisses entsteht. Je poröser und unebener die Partikel sind, desto besser ist ihre Anheftung. Im Gegensatz zu den amorphen Substanzen ist die Oberflächenbeschaffenheit der kristallinen Substanzen glatt, weshalb diese eine schlechtere Anheftung besitzen.⁶¹

Der Wassergehalt des Pulvers ist ebenfalls für die technologischen Eigenschaften von großer Bedeutung. Stoffe, die polare funktionelle Gruppen besitzen, neigen zu einer sogenannten Wasserdampfsorption. Das bedeutet, dass Wasser aus der gasförmigen Phase von den polaren Substanzen aufgenommen wird. Dadurch kommt es zu einer Adsorption, indem der

Wasserdampf an die Oberfläche, bzw. im Fall von Stärke oder Hydratbildnern ins Innere der einzelnen Partikel gelangt. In diesem Fall geht dann die Adsorption in eine Absorption über. Die Menge des sorbierbaren Wasserdampfes ist weniger stark temperaturabhängig, sondern hängt von der jeweiligen Art der Substanz, von dem Wasserdampfpartialdruck bzw. der relativen Feuchtigkeit ab. Aus diesen Gründen ist Stärke sehr von dem Prozess des „Gelatinierens“ gefährdet und wird somit seltener eingesetzt.⁶¹

In den folgenden Tabellen 10 und 11 ist die experimentell ermittelte Zusammensetzung basierend auf der Wirksamkeit zusammengefasst.

Tabelle 10: Einwaagen der Pflanzenextrakte zur Vorproduktion von „Serofive“.

Name des Pflanzenextraktes	Lateinischer Name	Theoretische Einwaage pro Kapsel
Grüner Tee Gun Powder	<i>Camellia sinensis</i>	0,013 g
Rosenwurz Wurzel gemahlen	<i>Rhodiola rosea</i>	0,007 g
Goji-Beere	<i>Lycii barbarum</i>	0,157 g
Guaranasamen	<i>Guaranae paullinia cupana</i>	0,010 g
Kolanuss gemahlen	<i>Colae Nuces</i>	0,013 g
Feigenkaktus gemahlen	<i>Opuntia ficus-indica</i>	0,057 g
Johanniskraut-Extrakt	<i>Hypericum perforatum</i>	0,0017 g
Griffonia 98%	<i>Griffonia simplicifolia</i>	0,0133 g
Griffonia 20%	<i>Griffonia simplicifolia</i>	0,00026667 g

Tabelle 11: Einwaagen der aktiven Inhaltsstoffe zur Vorproduktion von „Serofive“.

Inhaltsstoff	Theoretische Einwaage pro Kapsel
L-Tryptophan 100% Pulver	0,120 g
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,000005 µg
Natrium Selenit	0,000015 µg

Die hergestellten Kapseln werden in Dosen mit je 90 Kapseln abgefüllt und die relevanten physikalischen Prüfparameter analysiert.

6.4 Prüfung physikalischer Anforderungen analog dem Arzneimittel-Recht

6.4.1 *European Pharmacopoeia* 2.9.5 Gleichförmigkeit der Masse bei Fertigpräparaten

Es werden 20 Einheiten stichprobenartig entnommen und gewogen sowie die Durchschnittsmasse bestimmt. Bei Einzeldosis-Präparaten, die in Einzelbehältnissen dargeboten werden, wird der Inhalt von 20 Einheiten entsprechend gewogen und ebenfalls die Durchschnittsmasse bestimmt. Nicht mehr als zwei der Einzelmassen dürfen von der Durchschnittsmasse um mehr als die in der Tabelle 2.9.5-1 angegebene prozentuale Abweichung differieren und kein einzelner Wert darf um mehr als das Doppelte dieses Prozentsatzes abweichen. (siehe Abbildung 31).⁶²

2.9.5. UNIFORMITY OF MASS OF SINGLE-DOSE PREPARATIONS

Weigh individually 20 units taken at random or, for single-dose preparations presented in individual containers, the contents of 20 units, and determine the average mass. Not more than 2 of the individual masses deviate from the average mass by more than the percentage deviation shown in Table 2.9.5.-1 and none deviates by more than twice that percentage.

Abbildung 31: Auszug aus der *European Pharmacopoeia Online (EPO)* 2.9.5.⁶²

Tabelle 13: Ausschnitt aus der *European Pharmacopoeia Online 2.9.5.-1*.⁶²

Pharmaceutical Form	Average Mass	Percentage deviation
Tablets (uncoated and film-coated)	80 mg or less	10
	More than 80 mg and less than 250 mg	7.5
	250 mg or more	5
Capsules, granules (uncoated, single-dose) and powders (single-dose)	Less than 300 mg	10
	300 mg or more	7.5
Powders for parenteral administration* (single-dose)	More than 40 mg	10
Suppositories and pessaries	All masses	5
Powders for eye-drops and powders for eye lotions (single-dose)	Less than 300 mg	10
	300 mg or more	7.5

* When the average mass is equal to or below 40 mg, the preparation is not submitted to the test for uniformity of mass but to the test for uniformity of content of single-dose preparations (2.9.6).



Für die Darreichungsform „Hartgelatinekapselfn“ von „Serofive“ gilt damit eine Abweichung von 7,5 %, da die Durchschnittsmasse mehr als 300 mg beträgt. Grundlegend gilt, je schwerer die Masse der Arzneiform, desto geringer ist die erlaubte Toleranz der Abweichung.⁶²

Entsprechend den Vorgaben nach der *European Pharmacopoeia* (EP, Ph. Eur.) wurde ein Formblatt „Gleichförmigkeit der Masse bei Fertigpräparaten“ für die physikalische Prüfung einzeldosierter Arzneiformen mit den relevanten Eingabefenstern (siehe Punkt 6.4.1.1 „Formblatt zur Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten“) erstellt. Das ausgefüllte Formblatt zu der physikalischen Prüfung „Gleichförmigkeit der Masse bei Fertigpräparaten“ befindet sich beispielhaft im Anhang 11.1 Abbildung 41.⁶²

6.4.1.1 Formblatt zur Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 01 gültig ab: 01.09.2020	Formblatt zur SOP – AU 016	Ersetzt Version - vom -
---	--	---	--

Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten

Analysen-Nummer	F&E		
Prüfobjekt			
Spezifizierung	Tablette	Kapsel	
Charge			

Gültige Prüfvorschrift

Pharmakopoeia	EP	ISO 19609 Part 1
SOP		Vorschrift als Anlage

Es werden 20 Einzeldosierungen (Tabletten/Kapseln* etc.) statistisch entnommen, einzeln gewogen und der Mittelwert und die jeweilige Abweichung davon bestimmt. *Füllmasse = Kapselmasse minus Masse der Hülle

No.	Gesamtmasse [mg]	Abweichung [%]	No.	Gesamtmasse [mg]	Abweichung [%]
1			11		
2			12		
3			13		
4			14		
5			15		
6			16		
7			17		
8			18		
9			19		
10			20		
Gesamtmasse		[mg]	Durchschnittsmasse		[mg]
Größte Abweichung		[%]	Kapselhüllmasse		[mg]

Die erforderliche Spezifikation bezieht sich auf die pharmazeutische Darreichungsform und die Einzelmasse.

Ergebnis

Parameter	Ergebnis	Spezifikation	Produktklasse
Gleichförmigkeit der Masse	≤ %	≤ %	Für mg

Das Ergebnis der GMP-Prüfung "Gleichförmigkeit der Masse" entspricht nicht den Anforderungen der zugrundeliegenden Prüfvorschrift

Neu-Ulm, den	Unterschrift Labormitarbeiter
--------------	-------------------------------

Plausibilität und Richtigkeit der Ergebnisse geprüft	
Neu-Ulm, den	Unterschrift Laborleitung/ Qualitätskontrolle (QC)

Abbildung 32: Formblatt zur Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten.

Neben der für die Dosierung wichtige Bestimmung der Einzelmassen ist es aber auch erforderlich, die Menge an Einzeldosierungen in einem Gebinde (keine Blister, sondern beispielsweise Dosen oder Boxen) zu überwachen. Hierzu hat das europäische Arzneibuch unter „2.9.40. *Uniformity of dosage units*“ ebenfalls eine Regelung getroffen.

6.4.2 *European Pharmacopoeia* 2.9.40. Gleichförmigkeit der Gebinde-Einheiten

Bei der Bestimmung „*Uniformity of dosage units*“ werden die jeweiligen Einzeldosierungen in 20 statistisch gezogenen, abgabefähigen Behältern vollständig entnommen, abgezählt und dokumentiert. Anschließend wird die Abweichung von der Sollzahl ermittelt. Dies kann auch über eine Wägung erfolgen.⁶³

Es ist erforderlich, die Anzahl an Abweichungen in Prozent zu ermitteln, die mehr als 10 % bzw. 20 % ausmachen. Als erlaubte Abweichungen sind in der EP folgende Grenzen festgelegt:⁶³

Es dürfen bei allen 20 Testuntersuchungen nicht mehr als zwei Gebinde eine Abweichung von über 10 % aufweisen und keine einzige darf eine prozentuale Abweichung über 20 % besitzen.⁶³

Ein entsprechendes Formblatt, siehe Punkt 6.4.2.1 Formblatt zur Gleichheit der Gebinde-Masse von Fertigpräparaten, wurde hierfür ebenfalls erstellt.

6.4.2.1 Formblatt zur Gleichheit der Gebinde-Masse von Fertigpräparaten

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 01 gültig ab:	Formblatt zur SOP – AU 016	Ersetzt Version - vom -
---	---	---	--

Gleichheit der Gebinde-Masse bei Fertigpräparaten

Analysen-Nummer	
------------------------	--

Prüfobjekt			
Spezifizierung	Dose	Flasche	
Charge			

Gültige Prüfvorschrift			
Pharmakopoeia	EP	ISO 19609 Part 1	
SOP		Vorschrift als Anlage	

Es werden 20 Gebinde (Dosen, Flaschen etc.) statistisch entnommen, einzeln gewogen und der Mittelwert und die jeweilige Abweichung davon bestimmt

No.	Gewicht [mg]	Abweichung [%]	No.	Gewicht [mg]	Abweichung [%]
1			11		
2			12		
3			13		
4			14		
5			15		
6			16		
7			17		
8			18		
9			19		
10			20		

Gesamtmasse der Gebinde		Durchschnittsmasse Gebinde	[mg]
Anzahl mit Abweichung >10%		Anzahl mit Abweichung >20%	

Spezifikation:

Akzeptierte Anzahl mit Abweichung: > 10%	≤ 2	Akzeptierte Anzahl mit Abweichung: > 20%	0
--	-----	--	---

Ergebnis

Parameter	Ergebnis		
Gleichförmigkeit der Masse	Anzahl Abweichungen > 10%	Anzahl Abweichungen > 20%	

Das Ergebnis der GMP-Prüfung "Gleichförmigkeit der Gebinde-Masse bei Mehrfach-Gebinden" entspricht nicht den Anforderungen der zugrundeliegenden Prüfvorschrift

Neu-Ulm, den	Unterschrift Labormitarbeiter
--------------	-------------------------------

Plausibilität und Richtigkeit der Ergebnisse geprüft	
Neu-Ulm, den	Unterschrift Laborleitung/ Qualitätskontrolle (QC)

Abbildung 33: Formblatt zur Gleichheit der Gebinde-Masse bei Fertigpräparaten.

6.5 Bereitstellung von Dokumentationsvorlagen

Zur Prozessoptimierung unter GMP-Bedingungen sind zwei konträre Grundprozesse zu betrachten.

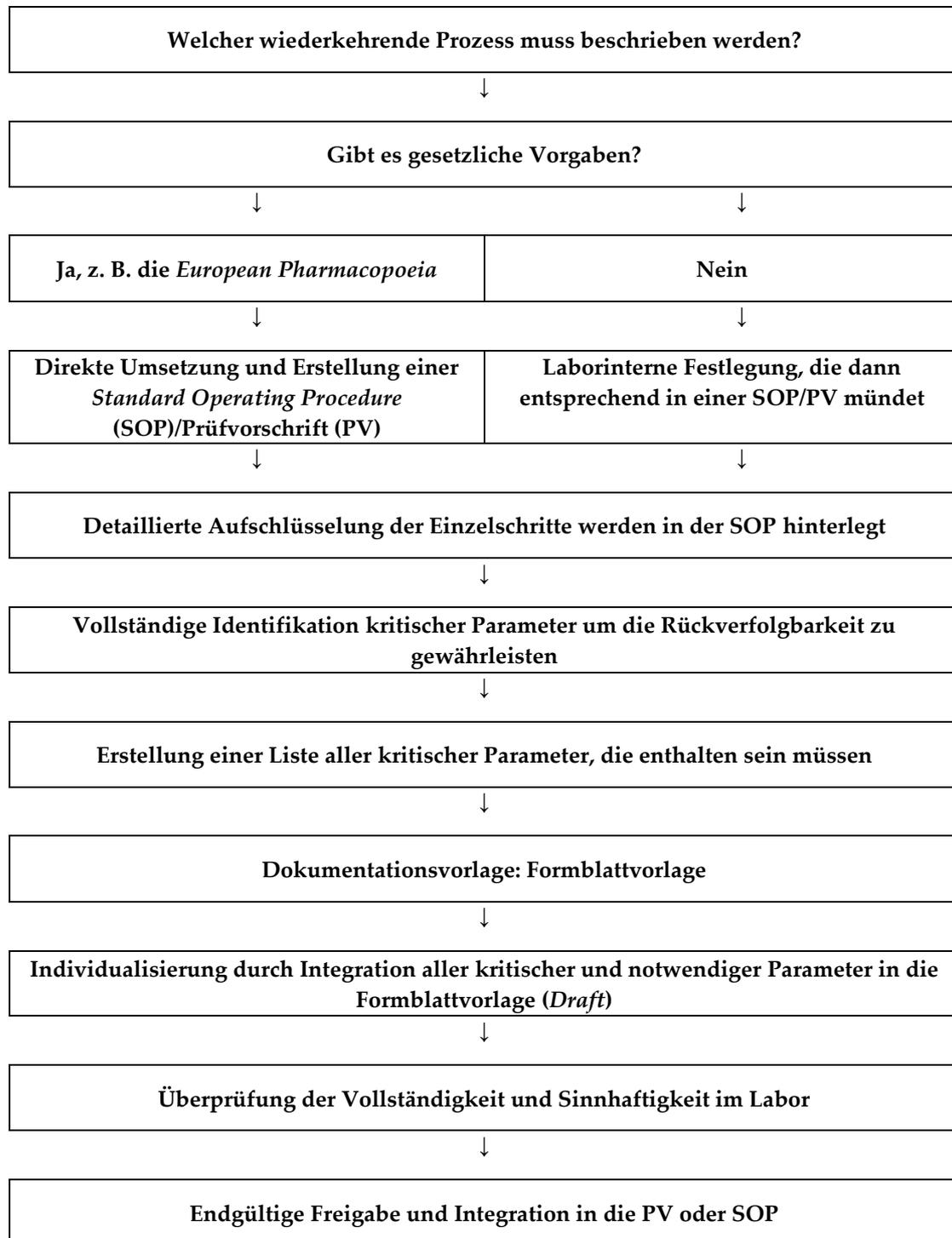
1. Zur Fehlervermeidung und Realisierung höchstmöglicher Transparenz aller Prozess-Schritte im GMP-Umfeld pharmazeutischer Produktion und Analytik ist ein möglichst umfangreiches Dokumentieren aller Teilprozesse durch den jeweiligen Mitarbeiter erforderlich.

Aufgrund hoher Problemanfälligkeiten, vor allem im Umfeld der von der *US Food and Drug Administration* (FDA) überwachten pharmazeutischen Unternehmen nach Integration digitaler Dokumente (Stichwort „*copy and paste*“), wurde weltweit wieder auf althergebrachte handschriftliche Dokumente umgestellt. Die europäischen Behörden akzeptieren davon unabhängig trotzdem noch elektronische Dokumentationen mit ihren bekannten Risiken.

2. Aus wirtschaftlicher Sicht ist der ständig größer werdende Anteil an Dokumentationspflichten neben der wirklichen Tätigkeit zwischenzeitlich zu einem massiven Kostenfaktor geworden und hemmt somit die Produktivität.

Um nun einerseits eine möglichst lückenlose Dokumentation gemäß GMP-Erfordernissen zu realisieren, ohne gleichzeitig andererseits die Produktivität erheblich zu vermindern, wurde bei der Firma Phytochem® Referenzsubstanzen GbRmbH ein umfangreiches Dokumentationssystem mit gut strukturierten und allen relevanten Informationen enthaltenen Formblättern etabliert.

Vorgehensweise zur Erstellung eines Formblatts



Qualitätssicherung beinhaltet die Gesamtheit aller Maßnahmen, die festgelegt werden, um sicherzustellen, dass die Arzneimittel für die beabsichtigte Anwendung die erforderliche Qualität aufweisen. Dabei ist die Qualität von Beginn an zu planen und durch wiederkehrende Kontrollen in allen Einzelschritten des Herstellungsprozesses durch eine einwandfreie Dokumentation abzusichern. Qualitätssicherungssysteme sind dazu da, Fehler zu vermeiden und zu verhindern, dass notwendige Informationen verloren gehen und somit die Qualität des Produktes oder der Dienstleistung auf höchstem Niveau zu gewährleisten. Ein Formblatt ist ein vereinfachtes Dokumentationsformat für den Mitarbeiter bei der Durchführung eines wiederkehrenden Prozesses wobei alle qualitätsrelevanten Informationen hinterlegt werden sollen. Nach dem Procedere einer Erstellung eines Formblatts, siehe Vorgehensweise im Flussdiagramm, wird diese Testversion des Formblatts, auch bekannt als *draft version*, im Laboralltag getestet. Das Gleiche gilt auch für die erstellte *SOP-draft version* bzw. *PV-draft version*, die ebenfalls auf Praktikabilität geprüft wird. Bei der Verbesserungsphase werden die Anregungen aus der Praxis umgehend in die ursprüngliche *draft version* integriert. Diese wird entweder nochmals im Labor geprüft, oder alternativ, wenn keine oder geringere Veränderungen vorgenommen wurden, freigegeben. Somit ist das Formblatt als Bestandteil der zugehörigen SOP bzw. PV gemäß den betriebsinternen Vorgaben für die Standardarbeitsanweisungen freigegeben. Die neu erstellte SOP wird im Betrieb verteilt und alle betroffenen Mitarbeiter werden hinsichtlich der Inhalte der SOP und der zugehörigen Formblätter gemäß den betriebsinternen Festlegungen für Schulungen (Schulungsstandardarbeitsanweisung) geschult. Ab diesem Zeitpunkt wird die jeweilige Durchführung nur anhand dieses Verfahrens von der Laborleitung und die generierten Daten von der Qualitätssicherung bzw. dem Qualitätsmanagement (QM) als Grundlage für die Bericht an den Kunden akzeptiert. [betriebsinterne Festlegung bei der Firma Phytochem]

Qualitätssicherungssysteme bzw. Qualitätsmanagementsysteme (QMS) sind Systeme, welche die QS, die „Gute Herstellungspraxis“ bzw. die gute fachliche Praxis einschließlich der Qualitätskontrolle und der wiederkehrenden Produktqualitätsüberprüfungen, beinhalten.

Für die analytische Bewertung pflanzlicher Extrakte hinsichtlich der Identität wird typischerweise auf die beiden chromatographischen Verfahren *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) und Dünnschichtchromatographie (DC) zurückgegriffen. Um die Analysen durchführen zu können, müssen vorher entsprechende Prüflösungen hergestellt und dokumentiert werden. Zur Absicherung der Identität werden entsprechende Referenzlösungen benötigt, die aus authentifiziertem Referenzmaterial bedarfsgerecht hergestellt werden müssen. Aus den erwähnten Prozess-Schritten ergibt sich folglich, dass somit vier Einzelteilprozesse hinreichend von dem jeweiligen durchführenden Mitarbeiter zu dokumentieren sind.

Der erste relevante Schritt betrifft die Bereitstellung eines Prüfextraktes, was wiederum im Formblatt „Probenvorbereitung“ in der Abbildung 34 realisiert ist. Hier werden die typischerweise notwendigen Einzelschritte abgefragt und der Mitarbeiter kann somit sehr einfach und zeiteffizient eine hinreichend umfangreiche Dokumentation neben seiner Labortätigkeit bewältigen.

Als nächster Schritt sind die zugehörigen HPLC-chromatographischen Bedingungen umfänglich und zeitnah zu dokumentieren. Hierbei werden die verwendete Anlage, die eingesetzten mobilen und stationären Phasen, die verwendeten Gradienten und Trennparameter sowie die auswertungsrelevanten Informationen auf dem Formblatt „HPLC-Bedingungen“ hinterlegt (siehe Abbildung 35).

Der dritte Schritt dokumentiert die dünnschichtchromatographische Untersuchung im Formblatt „Dünnschichtchromatographische Qualitätsprüfung“ in der Abbildung 36, wobei alle relevanten Parameter wie auch bei der HPLC hinsichtlich stationärer und mobiler Phase, den jeweiligen Auftragsmengen und Konzentrationen, auch die jeweilige Detektion vor und bei Bedarf nach Derivatisierung dokumentiert sind. Beim letzten Schritt werden die zugrundeliegenden Referenzlösungen und deren genaue Herstellung, sowie Lagerung aber auch Gefahrstoffeinordnung festgelegt. Hierfür wird das Formblatt „Kontrollblatt Referenzlösung“ verwendet. (siehe Abbildung 37). Die folgenden Formblätter wurden gemäß dieser Vorgehensweise hergestellt und freigegeben.

6.5.1 Protokollformat zur Herstellung von standardisierten Prüfextrakten

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Formblatt zur SOP – AP 009	Ersetzt Version vom
---	--------------------------------------	---	--------------------------------------

Probenvorbereitung

Analysen-Nummer	F&E
Prüfobjekt	
Spezifizierung	
Charge	
Prüfvorschrift	

Verwendung	HPLC	GC	DC		
Probenmaterial zerkleinern					
Material sieben					
Genaue Einwaage	g Waage				
Extraktionsmittel					
Extraktionsmethode	Ultraschall	Soxhlet	°C	min	X
Extraktgewinnung	Dekantieren				
	Filtration				
Extraktmenge					ml
Weitere spezifische Schritte					
Volumenfestlegung					

Neu-Ulm, den	Unterschrift Labormitarbeiter
--------------	-------------------------------

Abbildung 34: Formblatt zur Herstellung von standardisierten Prüfextrakten.

6.5.2 Protokollformat für die HPLC-Bedingungen

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH		Version: gültig ab:		Formblatt zur SOP – AU 010		Ersetzt Version vom	
HPLC-Bedingungen							
Prüfobjekt			Analysen-Nummer			F&E	
Spezifizierung			Charge				
Prüfvorschrift							
Probenvorbereitung		Siehe Formblatt		Methanol. Std-Auszug (PC)			
Anlage		HPLC Nr.:		Agilent 1100		Mit PDA	
				Merck Hitachi 6000		Mit DAD	
				Jasco 800		Mit PDA	
				2000		Mit UV/Vis	
Säule		Nr.:		Merck Lichrospher 100 RP 18 5 µm 250 x 4,0 mm			
Vorsäule		selber Säulentyp wie oben				mm	
						mm	
Laufmittel		A		Acetonitril		Methanol	
		B		0,05 % H ₃ PO ₄		Wasser	
		C				Solvent A siehe Rückseite	
						Solvent B siehe Rückseite	
Gradient		Zeit [min]		A [%]		B [%]	
						C [%]	
Detektion		feste Wellenlänge:		210/220 nm		nm	
		Scan Bereich:		195-650 nm		nm	
Parameter		Flußrate:		1.0 ml/min		ml/min	
		Säulentemperatur:		23°C +/- 1°C		°C	
		Record Interval:		min		Injection volume: µl (mg/ ml)	
Probe		Marker 1		Marker 2		Marker 3	
Prüfmuster Fingerprint							
Referenzdroge Fingerprint							
Referenzsubstanz Rt							
Selektivität		Blank vom Lösungsmittel		Kein Störpeak bei Rt _{Analyt}			
Spezifität über den Peak Purity Index		Agilent PDA					
		Merck Hitachi DAD					
		Jasco PDA		Front		Tail	
Neu-Ulm, den				Unterschrift Labormitarbeiter			
Plausibilität und Richtigkeit der Ergebnisse geprüft							
Neu-Ulm, den				Unterschrift Laborleitung/ Qualitätskontrolle (QC)			

Abbildung 35: Formblatt für die HPLC-Bedingungen.

6.5.3 Protokollformat für die DC-Bedingungen

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Formblatt zur SOP – AU 009	Ersetzt Version vom
---	--------------------------------------	---	--------------------------------------

Dünnschichtchromatographische Qualitätsprüfung

Prüfobjekt		Analysen-Nummer	F&E
Spezifizierung		Charge	
Prüfvorschrift			
Probenvorbereitung	Siehe Formblatt	Methanol. Std-Auszug (PC)	
Trennsystem	Apparatur	X Camag Chromatographie Tanksystem	Entwicklung vertikal
	Bedingungen	X Kammersättigung	X geschützt vor direktem Sonnenlicht
		X 20-25 °C	X Trocknung min 2 min im Luftstrom
	Trennstrecke	min. 80 mm	
Applikation	manuell (Glaskapil.)		Mit Auftragegerät
Stationäre Phase	DC-Platte	Si 60 F 254	
Mobile Phase			
Probe	Spezifikation		Auftragemenge[µl]
Prüfmuster			
Referenzdroge			
Referenzsubstanz			
Detektion	254 nm (unteres UV)	365/366 nm (oberes UV)	vis
Derivatisierung	mit Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz		Jod-Sublimat
Rf-Werte	254 nm	365 nm	vis
Prüfmuster Fingerprint			
Referenzdroge Fingerprint			
Referenzsubstanz Rf			
Rf-Werte	Gruppenspez.Reagenz	Anisaldehyd-Schwefelsäure	Jod-Sublimat
Prüfmuster Fingerprint			
Referenzdroge Fingerprint			
Referenzsubstanz Rf			
Bemerkungen:			
Neu-Ulm, den	Unterschrift Labormitarbeiter		
Plausibilität und Richtigkeit der Ergebnisse geprüft			
Neu-Ulm, den	Unterschrift Laborleitung/ Qualitätskontrolle (QC)		

Abbildung 36: Formblatt für die DC-Bedingungen.

6.5.4 Kontrollblatt für Referenzlösungen

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Formblatt zur SOP – AG 008	Ersetzt Version vom
---	-------------------------------	---	-------------------------------

Kontrollblatt Referenzlösung

Bezeichnung der Referenzlösung			
Konzentration		Lösungsmittel	
Chargen-Nummer	PC		
Herstell-Datum		Namenskürzel	

Genauere Einwaage			
Zugabe von	Methanol		ml
Ultraschallextraktion	25-30°C	5 min	
Prüfung auf vollständige Auflösung			
Alternative Weiterbehandlung bei Ausfällung			

Details			
---------	--	--	--

Lagerung	Raumtemperatur	Kühlschrank (+4 °C bis +8 °C)	
	Gefrierschrank (-20 °C)		
	dunkel	Tageslicht	
Verwendbarkeit/MHD	6 Monate		
Gefahrensymbole	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Neu-Ulm, den	Unterschrift Labormitarbeit
--------------	-----------------------------

Abbildung 37: Kontrollblatt für Referenzlösungen.

6.6 Festlegung von Kriterien zur Wareneingangskontrolle

Im Rahmen der Wareneingangskontrolle werden die Ausgangsstoffe auf ihre Identität, Reinheit und einwandfreie Beschaffenheit gemäß den betriebsinternen Anforderungen bzw. einer Monographie geprüft. Bei Wirkstoffen erfolgt bei Bedarf zudem eine quantitative Bestimmung des Gehalts z. B. gemäß EP.

Bei dem Produkt „Serofive“ handelt es sich um ein NEM und unterliegt somit nicht den gesetzlichen Regularien nach Ph. Eur. Für NEM gilt typischerweise eine formale Überprüfung der Lieferdokumente des Herstellers oder des Händlers wie im kompletten LM-Segment üblich.

Alternativ kann eine organoleptische Prüfung durchgeführt werden. Dabei werden Prüfparameter wie der Geschmack, das Aussehen und der Geruch des jeweiligen Vorproduktes geprüft. Eine weitere Möglichkeit ist die Anwendung analytischer Verfahren gemäß betriebsinternen Vorgaben zur Sicherstellung der Qualität des Produkts.

6.7 Etikettierungsverordnung/ Deklarationspflichten bei Nahrungsergänzungsmitteln

NEM sind wie oben erwähnt im rechtlichen Sinne Lebensmittel. Aus diesem Grund sind die gesetzlichen Regelungen innerhalb Europas hinsichtlich des europäischen Lebensmittelrechts bzw. bei Produkten für andere Zielmärkte die jeweiligen dort gültigen Regularien einzuhalten.

6.7.1 Anforderungen des Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz

Die Anforderungen des LMBG wurden bereits im „Abschnitt 5.1.2“ behandelt und sind derzeit aus Marketinggründen noch nicht relevant.

6.7.2 Anforderungen des Zielmarktes USA

Das Produkt „Serofive“ ist primär für den US-amerikanischen Markt vorgesehen, weshalb vorrangig zwingend die Anforderungen der *US-Food and Drug Administration* (FDA) hinsichtlich pflanzenbasierter NEM zu erfüllen sind. Hierzu sind in sehr umfangreichen Dokumenten eine fast unüberschaubare Vielzahl an Regelungen für vielfältige Produktkompositionen festgelegt. Zusammenfassend können neben den Positionierungsvorschriften und Schriftgrößenvorgaben folgende generelle Aussagen getroffen werden: Es muss eine eindeutige Produktbezeichnung (englischer Name) vorhanden sein, sowie ein vom Hersteller zu definierender Anwendungsbereich, der allerdings keine gesundheitsbezogenen Anwendungen enthalten darf (analog den europäischen Regularien). Weiterhin muss auf dem Etikett die genaue mengenmäßige Zusammensetzung der Einzelbestandteile deklariert sein (abweichend zu Europa). Wenn das Etikett eine ausreichende Größe besitzt, müssen auch die von europäischen Produkten bekannten nährwertrelevanten Produktinformationen nach den formalen Kriterien der FDA ergänzend aufgeführt werden. Alternativ ist es aber auch möglich, bei einem vorliegenden Platzmangel des Etiketts die nährwertbezogenen Angaben auf der Website des Herstellers oder Inverkehrbringers zentral zu dokumentieren, sodass der Anwender trotz mangelnder direkter Angabe einen freien Zugang zu diesem Datensatz hat.

Supplement Facts
Amount of Extract: 1 Capsule - 392 mg
Serving Size: 3 Capsules / Servings per box: 30

	Amount per Capsule	Amount (mg)	% Daily Value
L-Tryptophan	30.61 %	120.0 mg	†
GABA	25.51 %	100.0 mg	†
Lycii fructus (from fruit)	14.54 %	57.0 mg	†
Opuntia indica pulp, (from fruit)	14.54 %	20.0 mg	†
Grittonia simplicifolia (from herb)	3.39 %	13.3 mg	†
Coleae nucis (from nut)	3.31 %	13.0 mg	†
Camellia sinensis (from herb)	3.31 %	13.0 mg	†
Guaranae sem. pulp, (from fruit)	2.55 %	10.0 mg	†
Rhodiola rosea (from root)	1.79 %	7.0 mg	†
Hypericum perforatum (from herb)	0.43 %	1.7 mg	†

† Daily Value not established.
Ingredients: Maltodextrin and magnesium stearate.
Capsule shell: hydroxypropyl methylcellulose.
Suggested Use: Take 3 capsules per day orally. Recommended to take after meals. Keep out of reach of children. Store in a cool, dry and dark place.
Nutritional Supplement: Recommended daily intake should not be exceeded. Not a substitute for a balanced and varied diet. This product is intended for intermittent or supplement feeding daily.

Produced for
Plantoo GmbH + Co. KG, Reuttierstrasse 56
89231 Neu-Ulm, Germany
Distributor: Oasis Therapeutics LLC
2964 & 1/2 Hyperion Avenue
Los Angeles, CA 90027

SEROFIVE
the better you feel

Premium Herbal.
100% Nature.
Highest Purity.
Senso Checked.
VEGAN.

Content: 90 capsules

Abbildung 38: „Supplement Facts“ von „Serofive“.

Das auf der vorherigen Seite unter Abbildung 38 abgebildete Etikett wurde von mir im Rahmen dieser Arbeit hinsichtlich des formalen Inhalts mitgestaltet.

6.8 Trocknungsverlust „Loss on drying“

6.8.1 Feuchtigkeit in Fertigprodukten

Risikobetrachtung hinsichtlich mikrobieller bzw. pilzlicher Kontaminationen

In pflanzlichen Rohstoffen sind neben den pharmakologisch- und physiologisch-relevanten Sekundärstoffen eine nicht unerhebliche Menge an Kohlenhydraten, aber auch Fette und Eiweiße enthalten. Diese primären Pflanzenstoffe stellen eine sehr gute Nahrungsgrundlage für diverse Mikroorganismen dar.

Beträgt die verbliebene Restfeuchtigkeit nach der Trocknung mehr als circa 10 % besteht ein nicht zu vernachlässigendes Risiko einer mikrobiellen Kontamination. Das Wachstum von Bakterien aber auch Pilzen wird nur noch über die Temperatur beeinflusst. Somit ist für die Sicherstellung einer gewissen mikrobiellen Reinheit die Überwachung der verbliebenen Restfeuchtigkeit unabdingbar. Das Risiko für den Verbraucher besteht einerseits darin, dass entsprechende Bakterien den menschlichen Organismus direkt schädigen bzw. wie bei gewissen Pilzen toxische Stoffwechselprodukte entstehen. Als Beispiel gilt hier der Aspergillus, der unter derartigen Bedingungen die hoch lebertoxischen Aflatoxine produzieren kann. Eine Verhinderung mikrobieller Kontamination schützt somit den Verbraucher.

Feuchtigkeit als Reaktionsmatrix bzw. Reaktant für biochemische Umbau- bzw. Abbaureaktionen in komplexen Naturstoffgemischen

Bei den eingesetzten Naturstoffen in Form von Extrakten sind eine Vielzahl hochkomplexer pflanzlicher Sekundärstoffe enthalten, die auch vielfachen, chemischen Reaktionen unterliegen. Im menschlichen Körper laufen die gesamten biochemischen Prozesse unter der

Anwesenheit von Wasser ab. Dieses kann einerseits als Lösungsmittel angesehen werden, dient andererseits bei einer Vielzahl von biochemischen Prozessen auch als Reaktant.

Typische Beispiele derartiger Reaktionen sind z. B. hydrolytische Vorgänge, also Spaltungsreaktionen unter Wasserzufuhr, z. B. Deglykolysierungen. Als weitere Beispiele können die Spaltung von Ester-, Ether- und Peptidbindungen angesehen werden. Die Abwesenheit von Wasser/Feuchtigkeit schützt somit das Produkt vor unerwünschten biochemischen Reaktionen. Radikalische Reaktionen, Polymerisationen und oxidative Prozesse sind oftmals wasserabhängig.

Der Gehalt an Restfeuchtigkeit hat auch Auswirkungen auf die Verarbeitbarkeit der Rohstoffe und sollte deshalb auf ein produktspezifisches Maß eingestellt werden.

Ist ein Granulat zu trocken, zerfällt es.

Ist ein Produkt hingegen zu feucht, verklumpt es, zersetzt sich oder wird durch biologischen Verderb zerstört.

6.8.2 Analytische Bestimmung der Feuchtigkeit

Um einerseits die reale Konzentration eines wirksamen Anteils im Fertigprodukt neben der Validierung hinreichend zu quantifizieren und andererseits die Risiken hinsichtlich einer mikrobiellen Kontamination beurteilen zu können, wird auf den in der EP definierten Prüfparameter „2.2.32. Loss on drying“ zurückgegriffen. Hierzu wurde im Rahmen dieser Arbeit ein Formblatt gemäß den Vorgaben der EP erstellt (siehe Abbildung 39).

Da es sich hierbei um einen wiederkehrenden Prozess im Sinne der Qualitätsmanagement-Regularien, das heißt im Pharma-Umfeld, GMP handelt, musste hier auch eine betriebsinterne SOP entwickelt und beide Dokumente hinsichtlich ihrer Praxistauglichkeit im Laboralltag geprüft („Draft“) und nach Optimierung freigegeben werden. Neben den gesamtwirtschaftlich typischen Qualitätsmanagementsystemen der internationalen ISO 9000er Serie, typischerweise

ISO 9001: 2015 wurden speziell im globalen Pharmabereich entsprechende GMP-Systeme (Euro-GMP, US-GMP, China-GMP, etc.) etabliert, deren Einhaltung von den zuständigen Behörden strengstens überwacht werden. In diesen Regularien sind vielfältige, generelle Festlegungen hinsichtlich Personal, Räumlichkeiten, Roh- und Hilfsmaterialien, Produktionsanlagen sowie Analytik und vielen weiteren kritischen Parametern geregelt, die vor allem zur Transparenz jeglicher Prozesse führen sollen und aufgrund der Nachverfolgbarkeit aller Einzelschritte die Sicherheit und Qualität der erzeugten Produkte, hier Arzneimittel und Medizinprodukte, sicherstellen sollen.

6.8.3 Konzeptionierung eines geeigneten Formblatts zur Bestimmung des Trocknungsverlusts

Am Beispiel dieser Prüfung gemäß EP soll nach den bereits behandelten Kriterien (siehe nachfolgende Punkte) ein praktikables Formblatt (siehe Abbildung 39) erstellt werden. Als Basis hierzu wird auf die originale Prüfvorschrift des europäischen Arzneibuchs zurückgegriffen, die auf der nächsten Seite ausschnittsweise dargestellt ist.

Generelle Kriterien für Formblätter

- Vollständigkeit aller benötigten Daten
- einfach und organisch-strukturiertes Dokumentationsformat
- schnell neben der Labortätigkeit ausfüllbar

„PRINCIPLE

Loss on drying is the loss of mass after drying under specified conditions, calculated as a percentage (m/m).

Drying to constant mass means that 2 consecutive weighings do not differ by more than 0.5 mg, the 2nd weighing following an additional period of at least 30 min of drying under the conditions prescribed for the substance to be examined.

EQUIPMENT

The equipment typically consists of:

- weighing bottles that are made of suitable inert material and can easily be dried to constant mass; their diameter is large enough so that the layer of the substance to be examined does not exceed about 5 mm;*
 - an analytical balance by which it is possible to determine a change in mass of 0.1 mg;*
 - depending on the procedure to be applied, a desiccator, a vacuum cabinet, a vacuum oven or an ordinary laboratory oven; in any case, the temperature of ovens is adjustable to the specified temperature ± 2 °C*
- [...]*

PROCEDURE

It is recommended to perform the test in an environment that has minimal impact on sample measurement (e.g. humidity).

Weigh an empty weighing bottle that has been previously dried under the conditions prescribed for the substance to be examined for at least 30 min, then weigh the weighing bottle filled with the prescribed quantity of substance to be examined. Dry to constant mass or for the prescribed time. Where the drying temperature is indicated by a single value rather than a range, drying is carried out at the prescribed temperature ± 2 °C. Use one of the following procedures, unless otherwise prescribed in the monograph.

a) In a desiccator [...]

b) In vacuo [...]

c) In an oven [...] *The mass of the sample is the difference between the mass of the filled weighing bottle and the mass of the dried empty weighing bottle. The loss on drying is the difference in the mass of the sample before and after drying, expressed as a percentage, m/m being implicit.* ⁶⁴

Vorgehensweise

Als Erstes wird die für derartige Produkte relevante Methodik festgelegt, da die EP gemäß amtlicher Definition nur für pharmazeutische Roh- und Wirkstoffe, nicht aber ohne Adaptierung auf Fertigprodukte übertragen werden darf. Um aber die Vielfalt unterschiedlicher Analyten bearbeiten zu können, ermöglicht die EP mehrere unterschiedliche Bestimmungsverfahren aufgrund entsprechender Erfahrungswerte in der Produktentwicklung. Im Labor der Firma Phytochem kann somit eine entsprechende Einschränkung getroffen werden. Als gängigste Variante hat sich die Bestimmung des Trocknungsverlusts „bis zur Massenkonstanz“ erwiesen. Die Durchführung erfolgt somit gemäß den Vorgaben der EP in einem Exsikkator über einem geeigneten Trocknungsmittel (z. B. Phosphorpentoxid) unter Vakuum bei Raumtemperatur. Typischerweise wird in der Regel der Analyt über Nacht getrocknet und die Masse anschließend bestimmt. Nach mindestens einer weiteren zeitlich versetzten Wägung kann dann beim Erreichen des Gleichgewichtszustandes die Bestimmung vorgenommen werden. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass weitere unter diesen Bedingungen flüchtige Bestandteile quantitativ miterfasst werden (z. B. Reste von Lösungsmitteln aus der Extrakterstellung, die im LM-Bereich nicht wie bei Pharmaprodukten qualitativ und quantitativ bestimmt werden müssen. Die in der Abbildung 39 dargestellte Dokumentation ermöglicht es somit dem Labormitarbeiter schnell und effizient alle relevanten Daten für die Bestimmung des Trocknungsverlusts auf dem vorliegenden Formblatt dokumentieren und auch das GMP-erforderliche „Vier-Augen-Prinzip“ durch die nächste Qualitätsinstanz sicherstellen zu können. Wie bereits erwähnt, stellt dieses Dokumentationsformat einen geeigneten Kompromiss hinsichtlich Einfachheit, vor allem aber Dokumentationssicherheit dar, da der Mitarbeiter hierbei gezwungen ist, seine Messdaten individuell schriftlich zu dokumentieren und nicht digital über Kopierprozesse fehlerhafte und unvollständige Datensätze zu generieren.

6.8.4 Protokollformat „Loss on drying“

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Formblatt zur SOP – AU 012	Ersetzt Version vom
---	--------------------------------------	---	--------------------------------------

Loss on drying

Analysen-Nummer	
------------------------	--

Prüfobjekt	
Spezifizierung	
Charge	

Test Method according to EUROPEAN PHARMACOPOEIA 2.2.32	
Loss on Drying	Loss of mass expressed as per cent m/m

Weighing bottle	Previously dried under same conditions like test sample		
	tara		g
Weight of test sample	g	Start weight total*	g
Dry the substance	to constant mass		

"in vacuo"	apparatus	X	desiccator	-	oven
	adsorbent	diphosphorus pentoxide R			
	air-pressure	1.5-2.5 kPa (= 15 – 25 mbar)			
	temperature	room temperature			

* start weight total: Σ weight test sample + bottle

time	weight	time	weight	time	weight

Result:

Start weight total*	End weight total	Difference weight	Loss on drying [%]

Das Ergebnis der GMP-Prüfung zur Bestimmung des "Loss on drying" entspricht den Anforderungen der zugrundeliegenden Prüfvorschrift

Neu-Ulm, den	Unterschrift Labormitarbeiter
--------------	-------------------------------

Plausibilität und Richtigkeit der Ergebnisse geprüft	
Neu-Ulm, den	Unterschrift Laborleitung/ Qualitätskontrolle (QC)

Trocknungsverlust_Loss_on_drying_

Abbildung 39: Protokollformat für den Trocknungsverlust „Loss on drying“.

6.9 Validierung als wichtigstes qualitätssicherndes Element in der Analytik

In den im Vorkapitel „6.8“ erwähnten GMP-Anforderungen gilt die Validierung von Prozessen, der Reinigung und der Analytik als primäre Grundlage. Im Folgenden geht es ausschließlich um die Validierung analytischer Prüfverfahren, fokussiert auf das bearbeitete Produkt „Serofive“. Ergänzend zu den GMP-Regularien, die eher als regional zu betrachten sind, hat sich über eine lange Phase eine internationale Harmonisierungskommission mit derartigen Fragestellungen als internationalen Konsens beschäftigt und entsprechende Regeln analog wie ISO-Normen für das pharmazeutisch/chemische Umfeld formuliert. Diese wurden zwischenzeitlich auch von der europäischen Pharmaüberwachungsbehörde EMA als verbindliche Regelungen übernommen.

6.9.1 Validierungsanforderungen für Prüfverfahren und Dokumentation gemäß ICH-Guidelines

Grundsätzlich gilt für alle analytischen Verfahren, die in der Entwicklung, Herstellung und Freigabe eingesetzt werden, die Maßgabe der Validität. Als Grundlage für die Standardisierung der Begriffe und Definitionen sowie für die Festlegung der grundsätzlichen Anforderungen an die analytische Validierung diente hierfür, die im Jahre 1995 ursprünglich veröffentlichte ICH-Guideline, heute als Q2(R1) bekannt, mit dem Titel „Validierung von Prüfverfahren“. In den ICH-Guidelines sind verbindliche Standards für den Validierungsumfang international festgelegt. Die folgende Tabelle 14 zeigt eine Übersicht, der nach ICH erforderlichen Validierungselemente für Prüfverfahren hinsichtlich unterschiedlicher Applikationen.^{65, 66}

Tabelle 14: Validierungselemente im Überblick nach ICH Q2(R1).⁶⁶

Erforderliche ICH-Validierungselemente						
Validierungselement			Prüfverfahren für			
Deutsche Bezeichnung		Englische Bezeichnung	Identität	Nebenprodukte		Gehalt
				Quantitativ	Grenztest	
1	Spezifität/ Selektivität	<i>specificity</i>	+	+	+	+
2	Linearität	<i>linearity</i>	-	+	-	+
3	Arbeitsbereich	<i>range</i>	-	+	-	+
4	Richtigkeit	<i>accuracy</i>	-	+	-	+
5	Präzision	<i>precision</i>	-	+	-	+
6	Laborpräzision	<i>intermediate precision</i>	-	+	-	+
7	Nachweisgrenze	<i>detection limit</i>	-	-	+	-
8	Bestimmungsgrenze	<i>quantitation limit</i>	-	-	+	-
9	Robustheit	<i>robustness</i>	-	+	-	-

- bedeutet, dass dieses Validierungselement normalerweise nicht ausgewertet wird

+ bedeutet, dass dieses Validierungselement normalerweise ausgewertet wird

6.9.2 „Standard Operating Procedure“ zur betriebsinternen Vereinheitlichung von Validierungen

Die gesetzlichen Anforderungen nach ICH Q2 für die in der Tabelle 14 aufgelisteten Validierungselemente können in Form einer Arbeitsanweisung, also einer sogenannten SOP, als Lösung zur technischen Umsetzung für den jeweiligen Betrieb herangezogen werden. Eine Standardarbeitsanweisung SOP beschreibt eine schriftliche Anweisung, die der Beschreibung der einzelnen Schritte wiederkehrender Arbeitsgänge (Standardarbeitsverfahren) dient. In dieser speziellen Standardarbeitsanweisung sind ebenfalls die zu verwendenden Methoden

und Materialien zu erfassen. Eine Validierung ist das Erbringen eines dokumentierten Nachweises, der mit hoher Sicherheit belegt, dass die Herstellung eines Produktes sowie im vorliegenden Fall die Analytik eines Produktes durch eine spezifische Prozessabwicklung oder ein Standardarbeitsverfahren, die den festgelegten Spezifikationen und Qualitätsmerkmalen entsprechen, erfolgt. Spezifikationen sind Festlegungen und Anforderungen, denen unter anderem Ausgangsstoffe oder Zwischenprodukte für die Produktherstellung entsprechen müssen. Darin sollen die relevanten Validierungsparameter erfasst sein.⁶¹

Im klassischen analytischen Umfeld ergibt sich aus den Anforderungen von GMP, dass pharmazeutische Unternehmen bzw. Prüflaboratorien entsprechende betriebsinterne Festlegungen in Form eines Validierungsmasterplans besitzen sollten.

Der Validierungsmasterplan stellt die betriebsinterne Umsetzung der ICH-Regularien für den Prüfbereich dar und umfasst die folgenden Validierungselemente aus der Tabelle 14.

1. „Specificity“

Für die Validierung von Identifikationsverfahren aber auch anderen Prüfverfahren fordert die ICH Q2 den Parameter „Specificity“, der dann typischerweise durch die folgenden zwei Teilparameter, der Spezifität und der Selektivität, umgesetzt wird. Der Selektionskoeffizient α für die HPLC z. B. ist ein Maß für die Selektivität einer Trennung, der mit Hilfe der Peakreinheit „Peak Purity“ bestimmt wird und somit sicherstellt, dass mehrere Komponenten einer Mischung nebeneinander störungsfrei bestimmt werden können. Der zweite Teilparameter Spezifität wird durch den Probenblindwert, auch „Blank“ genannt, charakterisiert. Es wird hierbei geprüft, ob im Retentionszeit-Bereich des Analyten keine Störsignale aus dem Lösungsmittel bzw. der Säule (stationäre Phase) vorhanden sind, die die Analytik stören würden. „Specificity“ (siehe Tabelle 14) ist laut ICH Q2 (R1) die Fähigkeit einer Methode, den Analyten eindeutig in Anwesenheit anderer zu erwartenden Komponenten, zu bestimmen. Dies schließt unter anderem Verunreinigungen, Neben- und Abbauprodukte, Hilfsstoffe und die Matrix ein. Fehlt es dem analytischen Verfahren an Spezifität, kann es durch ein weiteres

unabhängiges Prüfverfahren ergänzt werden. Bei den beiden Teilparametern Spezifität und Selektivität wird am Beispiel der HPLC als Erstes durch die Aufarbeitung eines Probenblindwertes „Blanc“, also nur reines Lösungsmittel, die Abwesenheit von Störsignalen bei der Retentionszeit der Zielsubstanz geprüft. Zweiter Prüfpunkt der HPLC ist die sogenannte Peakreinheit. Hier werden in Intervallen von mehreren Millisekunden alle UV-Spektren eines Peaks mittels einem DAD (*Diode Array Detector*), je nach Hersteller auch alternativ PDA (*Photo diode detektor*) genannt, aufgezeichnet und untereinander verglichen. Die daraus resultierende, spektrale Übereinstimmung bzw. Abweichung der einzelnen Teilspektren wird als Zahlenwert ausgegeben. Liegt eine Verunreinigung vor und somit keine exakte Übereinstimmung der Spektren, so sinkt der *Peak Purity Index* und somit ist der Zahlenwert niedriger als der Idealwert, der je nach Hersteller und des jeweiligen Auswerteprogramms unterschiedlich ausfällt (z. B. Merck Hitachi 1.0, Jasco-Borwin 1000, Agilent 1000).⁶⁶

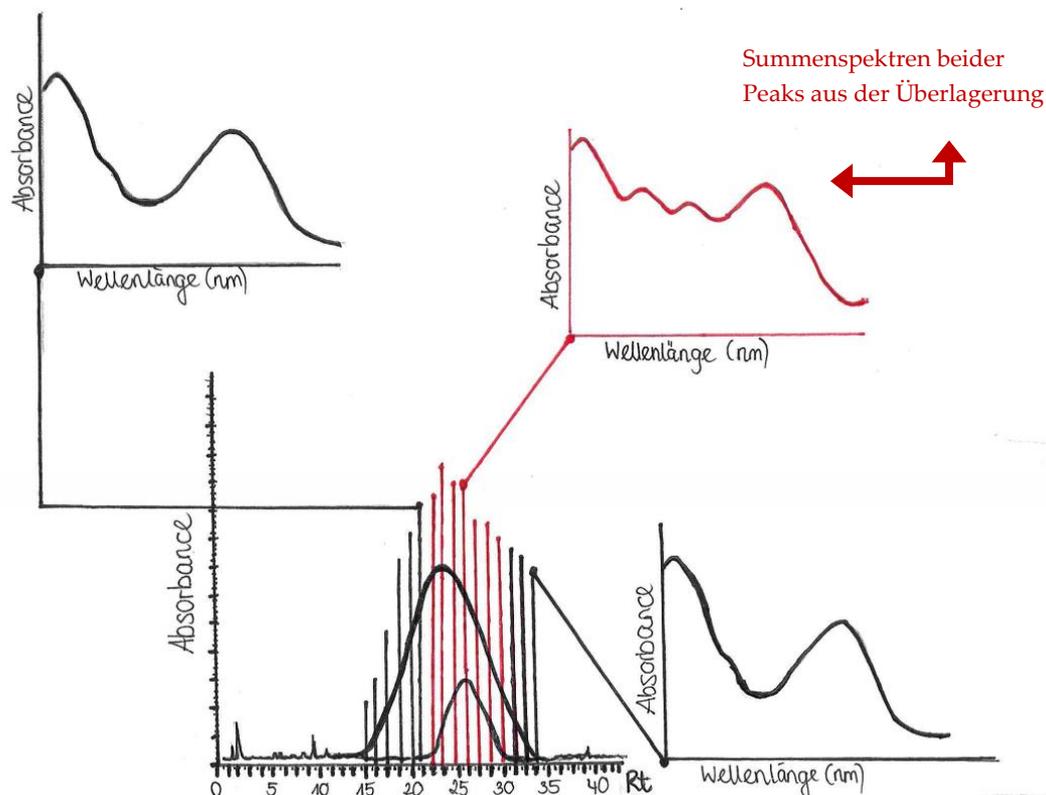


Abbildung 40: Skizze einer Abweichung einzelner Teilspektren eines Peaks bei Überlagerung, Rt = Retentionszeit.

Im virtuellen Chromatogramm der Abbildung 40 links unten sind zwei überlagerte Peaks zu sehen, wobei typischerweise nur der große Hauptpeak als einziger Summenpeak dargestellt wird. Durch Vergleich der im Peak vorliegenden einzelnen UV/VIS-Spektren zeigt sich eine schlechte „*peak purity*“, da sich die einzelnen Teilspektren im Peak erheblich unterscheiden. Dies zeigt dem Analytiker, dass sein Trennsystem somit nicht spezifisch genug arbeitet, da mindestens eine weitere Verbindung mit abweichendem Spektrum unter dem chromatographisch erfasstem Gesamtsignal versteckt liegt (siehe kleiner Peak in der Abbildung 40). Somit kann der Analytiker aus der errechneten Kenngröße „Peakreinheit“ des Chromatogramms erkennen, ob das gewählte Trennsystem für seine Fragestellung geeignet ist und damit den Validierungsparameter „*specificity*“ hinreichend erfüllt.

In der Firma „Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH“ ist dieses Konzept zur technischen Umsetzung in der SOP – AR 012 im Punkt „C.2.2. Spezifität/ Selektivität“ zu finden (siehe Anhang 11.2).

Bei Gehaltsbestimmungen im pharmazeutischen Umfeld ist generell von einem Messbereich von 95 % - 105 %, also ± 5 % des Sollwertes auszugehen. Diese Werte sind zwingend einzuhalten und Abweichungen davon können nur unter behördlichen Festlegungen im Rahmen von Stabilitätsuntersuchungen toleriert werden. Daher ist es zwingend, dass die „*specificity*“ erfüllt sein muss, um eine sichere quantitative Analytik gewährleisten zu können.⁶⁶

2. Linearität „Linearity“

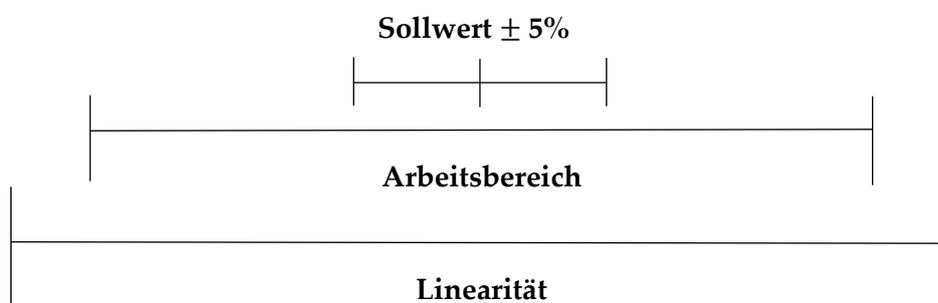
Der zweite darüberhinausgehende erforderliche Parameter nach ICH Q2 (R1) für Validierung von Gehaltsbestimmungsverfahren ist die Linearität „Linearity“, die die Fähigkeit eines Analysenverfahrens beschreibt, innerhalb eines festgelegten Bereiches Testergebnisse zu liefern, die der Konzentration des Analyten in der Probe direkt proportional sind. Dies wird entweder durch eine Verdünnung des Analyten, durch die Herstellung einer Serie von Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen aus einer Stammlösung, oder durch die Anwendung eines Standard-Additionsverfahrens, bei dem jeder Probe mehrmals eine

bestimmte Menge an Analyten hinzugegeben wird, nachgewiesen. Für die Bestimmung der Linearität sind in der Regel mindestens fünf Konzentrationen, zum Teil über den Arbeitsbereich „*range*“ (siehe Punkt 3 Arbeitsbereich) hinaus, erforderlich. Die Linearität wird bei der quantitativen Gehaltsbestimmung angewendet, indem mindestens fünf Lösungen im Konzentrationsbereich von üblicherweise 50 % - 150 % des Analyten im Produkt analysiert werden. Die graphisch-statistische Auswertung erfolgt durch die Darstellung der Linearität in einem Diagramm im Verhältnis der Peakfläche zur eingesetzten Konzentration der Lösung.⁶⁶

Die Durchführung zur technischen Umsetzung im Betrieb der folgenden Validierungselemente Linearität „*linearity*“, Arbeitsbereich „*range*“ und die Richtigkeit „*accuracy*“ (Punkt 4) sind in der SOP – AR 012 der Firma Phytochem im Punkt „C.2.3. Linearität“ aufgeführt und beschrieben. Die Dokumentation der Linearität erfolgt durch die Festlegung der Kurvenfunktion sowie die prozentuale Übereinstimmung der einzelnen Messwerte mit den Kurvenwerten (Korrelationskoeffizient).

3. Arbeitsbereich „*Range*“

Beim dritten Validierungselement handelt es sich um den Arbeitsbereich „*range*“, der nach ICH Q2 (R1) das Intervall zwischen der unteren und oberen zuverlässig messbaren Konzentration des Analyten in einer Probe bezeichnet, für die entsprechend nachgewiesen wurde, dass das Analysenverfahren eine ausreichende Linearität „*linearity*“ gewährleistet. Typischerweise liegt der angegebene „*range*“ innerhalb der unteren und oberen geprüften Konzentration im Bereich der Linearität, die den Gehaltssollwert großzügig umschließt.⁶⁶



4. Richtigkeit „Accuracy“

In der ICH-Guideline ist das Validierungselement „Richtigkeit“ als Grad der Übereinstimmung zwischen dem ermittelten Wert und einem als wahr angenommenen Ist-Wert oder einem akzeptierten Referenzwert definiert. Diese Differenz kann ferner als systematischer Fehler bezeichnet werden. Die Prüfung auf einen potentiell systematischen Fehler durch den Vergleich mit einer zertifizierten Referenz oder dem Mittelwert eines unabhängigen Vergleichsverfahrens ist die einzige sinnvolle Möglichkeit, eine Validierung hinsichtlich der Richtigkeit einer quantitativen Gehaltsbestimmung im Wirkstoff durchzuführen. Ziel einer Validierung hinsichtlich der Richtigkeit ist die Abwesenheit bzw. die „Nicht-Nachweisbarkeit“ eines systematischen Fehlers.⁶⁶

In der ICH Q2-Guideline werden folgende experimentelle Ansätze zur Überprüfung der Richtigkeit aufgelistet:

- Ableitung durch die Feststellung von Präzision, Linearität und Spezifität (Dies wird typischerweise bei komplexen Mischungen favorisiert)
- Vergleich der Ergebnisse (Mittelwerte) mit denen eines charakterisierten unabhängigen Verfahrens, dessen Genauigkeit definiert ist
- In aller Regel aber die Anwendung des Prüfverfahrens auf einen entsprechenden Analyten mit bekannter Reinheit (Referenzmaterial)

5. Präzision/Wiederfindung „Precision“

Die Präzision ist ein Maß für die Streuung innerhalb einer Serie von wiederholten Messungen an der gleichen homogenen Probe unter den jeweils vorgeschriebenen Bedingungen. Durch die Präzision werden zufällige Fehler bzw. die Variabilität erfasst.⁶⁶

Als Mindestanforderung werden typischerweise sechs entsprechende Aufarbeitungen hergestellt, die anschließend in Serie analysiert werden. Die Messergebnisse werden dann statistischen Verfahren unterworfen, um daraus den Mittelwert und die Standardabweichung

zu bestimmen. Im Validierungsplan wird hierzu ein tolerierbarer Abweichungsbereich definiert.

6. Laborpräzision „*intermediate precision*“

Die Laborpräzision „*intermediate precision*“ wird angewendet, um die Übertragbarkeit einer Methode in ein weiteres Labor zu gewährleisten.

Bei der Laborpräzision „*intermediate precision*“ werden beispielsweise analytische Verfahren wie z. B. Gehaltsbestimmungen zur Erfassung der Variabilität an unterschiedlichen Tagen, von verschiedenen Labormitarbeitern, unter Verwendung unterschiedlicher Laborgeräte, Säulen und Lösungsmittel durchgeführt. Es wird jedoch mit der gleichen Charge des Prüfmusters wie bei Punkt 5: Präzision gearbeitet.⁶⁶

In der SOP- AR 012 sind die Grundlagen der Präzision und Laborpräzision zur Durchführung im Betrieb in den folgenden Punkten „C.2.4.Präzision“ und „C.2.4.2. Intermediate Präzision“ zu finden (siehe Anhang 11.2).

Hier werden ebenfalls die Messungen statistisch an mindestens sechs Proben realisiert und anschließend statistisch erfasst (siehe Punkt 5: Präzision).⁶⁶

Durch einen weiteren statistischen Vergleich der Varianzen (F-Test) sowie dem Vergleich der Mittelwerte (t-Test) erhält der Analytiker ein Maß der Verlässlichkeit und Übertragbarkeit des Prüfverfahrens auf ein anderes Labor. Hierzu sollen beide Tests (F- und t-Test) bestanden sein.⁶⁶

Die ICH-Richtlinie erfordert für Spurenverunreinigungen hinsichtlich der Validierung die weiteren Parameter der Nachweis- und Bestimmungsgrenze und sind somit für das Produkt „Serofive“ nicht weiter relevant.⁶⁶

Die Ermittlung dieser Grenzen erfolgt z. B. durch die Berechnung aus dem Signal-Rausch-Verhältnis (S/N) als Konvention (siehe Tabelle 15).⁶⁶

Tabelle 15: Formeln zur Berechnung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze.⁶⁶

Nachweisgrenze (NG)	Bestimmungsgrenze (BG)
$NG = 3 \times S/N$	$BG = 10 \times S/N$

7. Nachweisgrenze „*detection limit*“

Die Nachweisgrenze entspricht nach ICH Q2 der geringsten, noch detektierbaren Analytenkonzentration in einer Probe. Sie findet Anwendung bei sogenannten „*Limit Tests*“.⁶⁶

Die NG erfolgt durch das Vermessen einer Blindprobe, indem z. B. reines Lösungsmittel, zur Ermittlung der Basislinie, mittels HPLC chromatographiert wird. Alternativ kann auch ein Placebo Anwendung finden. Durch die Signalwerte wird die auftretende Streuung dieser Blindprobe aus dem Nullwert berechnet. Dieser Punkt ist in der SOP AR 012 im Punkt „C.2.5. Nachweisgrenze“ definiert und aufgeführt (siehe Anhang 11.2).

8. Bestimmungsgrenze „*quantitation limit*“

Die Bestimmungsgrenze beschreibt die Quantifizierbarkeit der geringsten Konzentration in einer Probe, mit Hilfe einer geeigneten Präzision und Richtigkeit. Diese wird ebenfalls bei Limit-Tests ermittelt und liegt 3,3-mal höher als die Nachweisgrenze.⁶⁶

In der SOP AR 012 unter „C.2.6. Bestimmungsgrenze“ ist dies ausführlich erläutert (siehe Anhang 11.2).

9. Robustheit „robustness“

Die Robustheit ist nach ICH Q2 als Kapazität eines analytischen Prüfverfahrens definiert, von geringen, aber zielgerichteten Variationen der Methodenparameter unbeeinflusst zu bleiben. Die gezielte Variation von Methodenparametern wie: Zusammensetzung der mobilen Phase, Flussrate, Temperatur, pH-Wert usw. zielt darauf ab, den Robustheitsbereich dieser Parameter, auch als *Method Design Space* oder *Method Operable Design Region* bezeichnet, zu definieren. Eine gründliche Untersuchung der Robustheit erhöht die Zuverlässigkeit des Prüfverfahrens, minimiert Fehler und Risiken bei zukünftigem Gebrauch des Verfahrens und erleichtert den Transfer. Es ist bei der Entwicklung darauf zu achten, dass neue Methoden eine gewisse Robustheit hinsichtlich dieser potentiellen Störungen besitzen.⁶⁶

Zusammenfassung

Ziel einer Validierung ist das Erbringen eines dokumentierten Nachweises, der mit hoher Sicherheit gewährleistet, dass durch einen spezifischen Prozess oder ein Standardarbeitsverfahren hergestelltes Produkt, den zuvor festgelegten Spezifikationen und Qualitätsmerkmalen entspricht. Dabei werden Leistungsparameter einer Methode etabliert, um einzuschätzen zu können, ob diese den beabsichtigten Gebrauch richtig und zuverlässig erfüllt. Gleiches gilt natürlich auch für analytische Verfahren.⁶¹

Hinsichtlich der Relevanz des Validierungsumfangs nach ICH Q2 für das Produkt „Serofive“ ist hier für den Identitätsnachweis nur der Prüfparameter „*Specificity*“, genauer die Spezifität und Selektivität, relevant. Für alle Bestandteile, bis auf Koffein, gilt für den qualitativen Nachweis, dass der selektive Fingerprint der spezifischen Einzeldrogen einen Identitätsbeleg im Produkt darstellt. Das bedeutet, wenn in dem Gesamtprodukt wenigstens eine der Leitverbindungen jedes Bestandteils wiederzufinden ist, gilt die Identität als hinreichend belegt, sofern die Validierungsparameter erfüllt sind. Grundsätzlich gelten Arzneibuchmethoden als valide. Die Validität gilt jedoch nur für eine in der Monographie beschriebene Pflanzendroge und nicht für ein daraus hergestelltes Fertigprodukt. Aufgrund dieser Einschränkung ergibt

sich, dass eine Arzneibuchmethode, die auf ein Fertigprodukt angewandt wird, validiert werden muss. Dadurch kann der unbekannte Einfluss von eventuellen Matrixeffekten durch die übrigen Bestandteile im Produkt (hier „Serofive“) kompensiert werden.

6.9.3 Adaptierung der individuellen Validierungspläne für das Produkt „Serofive“

Das Verfassen eines Validierungsplanes unterstützt die zielgerichtete Planung und Durchführung der experimentellen Untersuchungen, die Identifizierung aller relevanten Leistungsparameter und Akzeptanzkriterien. Um die Nachvollziehbarkeit vollständig gewährleisten zu können, sollten die Leistungsparameter, Akzeptanzkriterien und experimentelle Untersuchungen umfangreich beschrieben werden. Die allgemeinen Inhalte des Prüfverfahrens müssen vor der Durchführung der Validierung festgelegt sein. Dabei werden alle notwendigen Methodenparameter wie beispielsweise die Flussrate, Säulendimensionen, Gradientenbedingungen, Detektionswellenlängen oder Angaben zur Vorbereitung der Proben erfasst. Die Grundlage für einen individuellen Validierungsplan stellt ein sogenannter Validierungsmasterplan des Unternehmens dar. Es wurden jeweils individuelle Validierungspläne für das Produkt „Serofive“ adaptiert. Mit Hilfe der betriebsinternen Festlegungen des Validierungsmasterplans der Firma Phytochem, wurden jeweils für die qualitativen und quantitativen Bestimmungsverfahren Validierungspläne erarbeitet. Im „Validierungsplan zur qualitativen Bestimmung von ‘Serofive’“ sind alle notwendigen Methodenparameter definiert (siehe 6.9.4), die für die Bestimmung der Identität eines der Inhaltsstoffe des Produkts „Serofive“ erforderlich sind. Dagegen sind im „Validierungsplan für die quantitative Bestimmung von Koffein in ‘Serofive’“ (siehe Anhang 11.3) alle notwendigen Validierungsanforderungen für die quantitative Bestimmung des Inhaltsstoffes Koffein im Produkt aufgeführt. Im Folgenden ist der erste generelle Validierungsplan zur Identitätsprüfung eines verarbeiteten Rohstoffs in „Serofive“ beigefügt. Gemäß den ICH-Guidelines ist nur der Parameter „*specificity*“ für die jeweiligen Analyten und Testverfahren zu prüfen.

6.9.4 Validierungsplan zur qualitativen Bestimmung von „Serofive“

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 1 von 4
--	------------------------	--------------------------------------	---------------

Validierungsplan für die Bestimmung der Identität aller Inhaltsstoffe von „Serofive“

Identität der verarbeiteten Rohstoffe
in
„Serofive“

		Name, Abteilung, Funktion	Datum	Unterschrift
1	Verfasser	Sina Strobl		
2	Überprüft von	N.Huppmann Leitung QC		
3	Genehmigt von	H.Rausch Leitung QM		
4	Freigegeben von	G.Steinmann-Möller Leitung QS		
5	Verteiler	Original:	Phytochem	
		Originalkopien	Auftraggeber	
6	Archivierung	Archiv der Fa. Phytochem		

7	Anlass			Termin
		Neuentwicklung	X	
		Methoden-Transfer	-	
		Revalidierung	-	
		Verfahrensänderung	-	
	Sonstiges	-		

8	Bemerkungen	X	Keine amtlichen Methoden für Fertigarzneimittel verfügbar
			Die Arzneibuch-Methode: muss ersetzt werden wegen:
		X	Validierungsmerkmal: <i>Identification</i>
		-	Validierungsmerkmal: <i>Assay</i>
		-	Validierungsmerkmal: <i>Impurity</i>

9	Auftraggeber	/
10	Präparat	„Serofive“
11	Methode/Prüfvorschrift	Neu-Entwicklung
12	Probenmaterial	pflanzliche Bestandteile des Fertigarzneimittel
13	Untersuchungs-Parameter	/
14	Referenzsubstanzen	Taurin, Coffein, GABA, Tryptophan, 5-HTP, Selen, Vitamin D, Theophyllin, Theobromin, Kaffeesäure
15	Referenzdrogen	<i>Camellia sinensis</i> , <i>Cola acuminata</i> , <i>Lycii barbarum</i> , <i>Guarana paullinia cupana</i> , <i>Opuntia ficus-indica</i> , <i>Griffonia simplicifolia</i> , <i>Rhodiola rosea</i> , <i>Hypericum perforatum</i>

Validierungsplan für qualitative Bestimmungen in „Serofive“

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 2 von 4
---	--------------------------------------	--	----------------------

Inhaltsverzeichnis

1. Ziel
2. Mitgeltende Unterlagen
3. Validierungsumfang im Überblick
4. Geräte und Anlagen
5. Verwendete Materialien
6. Verfahrensbeschreibung
7. Akzeptanzkriterien
8. Durchführung der Validierung
9. Spezifität
10. Selektivität

1. Ziel

Mit Hilfe des vorliegenden Validierungsplans soll in Verbindung mit dem zugehörigen Validierungsbericht der dokumentierte Nachweis erbracht werden, dass das beschriebene analytische Verfahren gemäß der zugehörigen Prüfvorschrift zu verlässlichen und reproduzierbaren Ergebnissen im Sinne der entsprechenden CPMP/ICH-Leitlinien und der EG-GMP sowie des zugrunde liegenden Arznei-buches führt und es daher als valide gilt.

2. Mitgeltende Unterlagen

- 2.1. Validierungs-Masterplan (AR 011)
- 2.2. Prüfvorschrift:
- 2.3. SOP Durchführung von Validierungen (AR 012)
- 2.4. QS-Handbuch

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 3 von 4
---	--------------------------------------	--	----------------------

3. Validierungsumfang im Überblick

	Characteristics	Type of analytical procedure		
		Identification	Assay	Testing for Impurities
				Quantitative
1	Accuracy	-		
2	Precision	-		
	Intermediate Precision	-		
3	Specificity	+		
4	Detection Limit	-		
5	Quantitation Limit	-		
6	Linearity	-		
7	Range	-		
8	Robustness	-		
9	Stability of Test Solutions			

4. Geräte und Anlagen

	Gerät/Anlage	Spezifikationen
1	DC	spezielle Derivatisierungen und diverse Laufmittelsysteme

5. Verwendete Materialien

5.1. Probenmaterial

	Probenart	Bezeichnung	Charge
1	FAM	„Serofive“	
2	Placebo	/	
3	Referenz-Substanzen	Referenzdrogen bzw. Referenzsubstanzen der Einzelbestandteile	

5.2. Herstellung der Proben-Lösung

1 Kapsel (390 mg) wird in 5 ml Wasser bzw. Methanol im Ultraschallbad gelöst und filtriert.

5.3. Herstellung der Referenzsubstanzlösung

Die Reinsubstanz wird mit einer Konzentration von 1 mg/ml Methanol bzw. Wasser angesetzt.

5.4. Herstellung der Referenzdrogenlösungen

1 g Droge wird in 10 ml Methanol oder Wasser im Ultraschallbad extrahiert und die filtrierte Lösung eingesetzt.

Validierungsplan für qualitative Bestimmungen in „Serofive“

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 4 von 4
---	--------------------------------	--	----------------------

6. Verfahrensbeschreibung

In der Regel liegt zu Beginn der Validierung nur eine genehmigte „Draft“-Version der entsprechenden Prüfvorschrift vor, die dann nach erfolgreicher Validierung auf der Basis der erzielten Ergebnisse weiter konkretisiert wird.

Das analytische Verfahren wird in der mitgeltenden Prüfvorschrift beschrieben.

Prüfvorschrift:	noch nicht endgültig erstellt	Version: /
-----------------	-------------------------------	------------

7. Akzeptanzkriterien

	Parameter	Akzeptanzkriterien	Ziel
1	Spezifität	Keine Störbande bei reinem Lösungsmittel	Kein Störsignal
2	Systemeignung „system suitability“	Stationäre Phase von renommiertem Hersteller, geprüft gemäß EP	DC-Platten Merck Si60F ₂₅₄

8. Durchführung der Validierung

Die Validierung erfolgt in Anlehnung an die erwähnte Prüfvorschrift. Die genaue Durchführung der Einzelprüfungen wird im Speziellen spezifiziert (siehe Arbeit von Nino Schwarz). Darüber hinaus gehende relevante Erkenntnisse werden in der Labor-Dokumentation vermerkt, im Validierungsbericht dokumentiert und anschließend in die Prüfvorschrift bei Bedarf aufgenommen.

9. Spezifität

Die Spezifität wird durch den Kontrollversuch mit reinem Lösungsmittel geprüft.

10. Systemeignung

Die Systemeignung ist gemäß den Regularien der Fertigarzneimittel-Validierungsrichtlinien durch die Verwendung valider stationärer Phasen ohne Modifikation im Labor hinreichend erfüllt.

Vor der im Validierungsplan beschriebenen Validierung wird aus den Erfahrungsdaten aus dem Entwicklungsprozess eine vorläufige Prüfvorschrift erstellt, die alle relevanten Daten für die Validierung hinsichtlich der Parameter enthält. Im Folgenden ist beispielhaft eine vorläufige Prüfvorschrift am Beispiel von Johanniskraut „*Hypericum perforatum*“ dargestellt.

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	PV-Nr.: Naphtochinone	Seite 1 von 6
---	--------------------------------------	--	----------------------

Prüfvorschrift

interne PV	X	externe PV	-	externe modifizierte PV *	-
in Bearbeitung	-	als Draft freigegeben	X	entgültig freigegeben	-

Titel:
Prüfung von Naphtochinon-Verbindungen aus *Hypericum perforatum* im Produkt „Serofive“ mit Prüfmethdik DC

Status	validierte Prüfvorschrift	-	nicht validierte Prüfvorschrift	X	
Auftraggeber / Ansprechpartner	intern		Hans Rausch		
Präparat	„Serofive“ Hartgelatine kapseln				
Diese Prüfvorschrift gilt ab: 05.01.2021					
Diese Prüfvorschrift ersetzt die Version: -					
Änderungshinweise: --					
Verantwortlich für die Erstellung:			Verantwortlich für die Umsetzung:		
- Qualitätssicherung			- Laborleitung		
- Geschäftsleitung			- Labormitarbeiter		
- Qualitätskontrolle					
- Qualified Person/Sachkundige Person					
Herausgegeben am	Datum/Unterschrift				

Überprüft am	Qualitätssicherung				

	Laborleitung				

Genehmigt am	Geschäftsleitung				

Modifikation der externen PV	* gültig und erforderlich nur für externe modifizierte Prüfvorschriften				
Modifizierte Parameter	1				
	2				
Beurteilung	Details zur Modifikation und Beurteilung auf gesondertem Formblatt				
	-				
kritisch	-	Revalidierung durchgeführt	-	vom Auftraggeber/QP genehmigt	-
unkritisch	-	Labor-Umsetzung adaptiert	-	intern von QC/QM genehmigt	-

Prüfvorschrift

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	PV-Nr.: Naphtochinone	Seite 2 von 6
A. Anwendung und Zielsetzung			3
B. Definitionen und Abkürzungen			3
C. Referenzsubstanzen, Reagenzien und Geräte			3
1. Referenzsubstanzen/ Referenzdrogen			3
2. Reagenzien			3
3. Geräte und Verbrauchsmaterialien			4
D. Durchführung			4
1. Probenzug			4
2. Probenvorbereitung			4
3. Durchführung			4
4. Analytische Bedingungen			4
4.1. Qualitative test for compound purity with TLC			4
5. Auswertung			5
5.1 Bewertung			5
5.2 Formel			5
6. Ergebnisse			5
E. Archivierung			6
E.1. Elektronische Daten			6
E.2. Dokumente			6
F. Mitgeltende Unterlagen			6
F.1. Gesetze und Richtlinien			6
F.2. SOPs			6
F.3. Formblätter und Vorlagen			6

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	PV-Nr.: Naphtochinone	Seite 3 von 6
---	--------------------------------------	--	----------------------

A. Anwendung und Zielsetzung

Diese Prüfvorschrift beschreibt die Anwendung von Prüfungen für externe Proben auf Schadstoffe, Inhaltsstoffe ect..

Ziel der Prüfvorschrift ist die reproduzierbare Aufarbeitung von Proben zu gewährleisten.

Prüfvorschriften (PV) werden kunden-, projekt- sowie analyt-abhängig erstellt.

Als Grundlage dienen ähnliche Vorlagen für ähnliche Analyten bzw. Matrices, sowie Erfahrungswerte aus dem Prüflabor. Der formale Aufbau dieser PV ist in der SOP AG 010 (Prüfvorschriften) geregelt. Die allgemeinen Grundsätze des europäischen Arzneibuches und der Leitlinie der EU für GMP sind hierbei zu beachten. Darüberhinaus gelten die Vorschriften des LMBG und abgeleiteter Rechtsnormen.

Eine primäre PV wird erstellt und nach Fertigstellung als Draft-Version herausgegeben und ihre Umsetzbarkeit und Plausibilität im Labor geprüft, sowie anschließend in der Regel validiert.

Validierungen sind gemäß SOP AR 002 (Validierung) und SOP AR 012 (Validierung analytischer Prüfverfahren) sowie SOP AR 011 (Validierungs-Masterplan) durchzuführen und zu dokumentieren.

Nach bestandener Methoden-Validierung wird aus der Draft-PV durch Genehmigung durch die Geschäftsleitung eine gültige PV.

B. Definitionen und Abkürzungen

SOP:	Standard Operating Procedure – Standard-Arbeitsanweisung
GMP:	Good Manufacturing Practices
PV:	Prüfvorschriften
Std.:	Standard

C. Referenzsubstanzen, Reagenzien und Geräte

1. Referenzsubstanzen/ Referenzdrogen

Nr.	Referenzsubstanz/droge	Charge	Qualität	Hersteller
1	<i>Hypericum perforatum</i>	502	HERP®	PC

2. Reagenzien

Nr.	Reagenz	Qualität	Hersteller
1	Ethylacetat	p.a.	VWR
2	MEOH	p.a.	VWR
3	Wasser	ad iniectabilia	PC

Prüfvorschrift

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	PV-Nr.: Naphtochinone	Seite 4 von 6
---	--------------------------------------	--	----------------------

3. Geräte und Verbrauchsmaterialien

Gerät	Hersteller
Applikation manuell mit Glaskapillare	-
DC-Trog	CAMAG
Ultraschallbad	Bandelin
DC-Platte SiLG _{F254}	Merck

D. Durchführung

1. Probenzug

Kapseln werden statistisch entnommen und eine Mischprobe hergestellt.

2. Probenvorbereitung

a) Analyt

390 mg, eine typische Kapselmasse, wird aus der Mischprobe entnommen und in 5 ml Methanol suspendiert und im Ultraschallbad 15 min bei Raumtemperatur extrahiert. Der feste Rückstand an Hilfsstoffe bzw. nicht in Methanol löslichen Bestandteilen wird durch Filtration vom klaren Extrakt getrennt.

b) Referenzdroge

Analog dazu wird der Referenzdrogenextrakt HERP® direkt verwendet (1 g/10 ml).

3. Durchführung

Für DC wird analog der betriebsinternen SOP für DC chromatographische Trennungen durchgeführt.

4. Analytische Bedingungen

4.1. Qualitative test for compound purity with TLC

Test method according to EUROPEAN PHARMACOPOEIA 2.2.27

Apparatus	Camag Chromatographic Tank System
TLC-plate	Merck Si 60 F 254 precoated plates
Conditions	Protected from sunlight and with chamber saturation
Temperature	20 – 25 °C
Development:	Vertical development

Chromatographic conditions

Sample-solution	See HPLC-sample
Application	2 µl of this solution with calibrated disposable capillaries
Drying	Min. 2 minutes in an air-stream
Motion range	80 mm

Prüfvorschrift

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	PV-Nr.: Naphtochinone	Seite 5 von 6
---	--------------------------------------	--	----------------------

Mobile phase

Solvents	Ethylacetat	Methanol	Wasser	-
Mixture	100	13,5	10	-

Detection with UV-fluorescence and VIS

Fluorescence wavelength	254 nm	365 nm	VIS
Compound signal	-	rot	-
Impurities	No	No	No

Detection with visualisation reagents

Visible light	Group specific reagent	Anisaldehyde-Sul-furic acid reagent	Iodine
Compound signal	-	-	-
Impurities	No	No	No
Group specific reagent:			

Rf-value	ca. 0,75 for spot of Naphtochinons	
	Non specified impurities:	Not detected

Literature Value	Not available	data from	-
------------------	---------------	-----------	---

Target	Compound purity		One main spot in red
	Anisaldehyd-Sulfuric acid-reagent respectively Iodine as non-selective reagents for detection of non-specified impurities should show no greater impurities.		
	A relative retardation factor (Rf) of this compound according to the chemical skeleton under this described chromato-graphic conditions can be expected between		
	0,6	and	0,85

Result	Compound purity	One main red spot Impurities similar to HPLC
--------	-----------------	---

5. Auswertung

5.1 Bewertung

Wenn das typische Signal der Marker-Verbindungen (hier Naphtochinone) im Chromatogramm des Analyten und der Referenzdroge klar erkennbar ist, gibt die Anwesenheit des Ausgangsmaterials „*Hypericum perforatum* Trockenextrakt“ als belegt.

5.2 Formel

/

6. Ergebnisse

Die DC zeigt eindeutig, dass farbige Substanzsignal im Analyten „Serofive“ und Referenz in vergleichbarer Farbe und Rf-Wert. Damit ist die Prüfung auf Identität des analysierten

Prüfvorschrift

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	PV-Nr.: Naphtochinone	Seite 6 von 6
---	--------------------------------------	--	----------------------

Probenmaterials hier „Serofive“ -Kapseln eindeutig erfüllt.

E. Archivierung

Die Datensätze werden gemäß den gültigen gesetzlichen Grundlagen archiviert.

E.1. Elektronische Daten

Die elektronischen Daten werden derzeit an beiden Standorten unabhängig gesichert (Server, CD-ROM, Streamer).

E.2. Dokumente

Die Dokumente werden am Stammsitz der Firma Phytochem in Ichenhausen archiviert.

F. Mitgeltende Unterlagen

F.1. Gesetze und Richtlinien

GMP-Leitlinien

QM-Handbuch

F.2. SOPs

SOP_DG_001_Dienstleistung

F.3. Formblätter und Vorlagen

Analysenbericht_ausfuehrlich_Vorlage1

Der zuvor aufgeführte Validierungsplan zusammen mit der vorläufigen Prüfvorschrift stellt die Grundlage für die analytische Durchführung der Validierung dar. Aus den gewonnenen Messdaten und den Validierungsdaten wird anschließend ein zugehöriger Validierungsbericht erstellt. Auf den beiden nachfolgenden Seiten ist der zweiseitige Validierungsbericht dargestellt.

Überprüfung der „*Specificity*“ im Rahmen einer Methoden-Validierung

Prüf-Methodik: Dünnschichtchromatographie

1	Bezeichnung		Prüfverfahren zur Identitäts-Analyse von: Naphthochinon-Verbindungen aus <i>Hypericum perforatum</i> in „Serofive“
2	Prüfvorschrift		Zugrundeliegende Prüfvorschrift der Fa. Phytochem®

Selektivität des geprüften Analysenverfahrens

1	Prüfung	Das reine verwendete Lösungsmittel zur Herstellung des Prüf-Extraktes wird in identischer Menge statt der Probe chromatographiert	
2	Sollwert	Im Bereich der Prüfsignale in der Probe soll beim reinen Lösungsmittel kein Störsignal zu erkennen sein	
3	Istwert	Kein Störsignal	
4	Ergebnis	Das verwendete Analysenverfahren kann für die geforderte Prüfung als hinreichend selektiv betrachtet werden	

Spezifität des geprüften Analysenverfahrens

1	Prüfung	Ein geeigneter Prüf-Extrakt wird hinsichtlich der chromatographischen Auflösung über das gesamte Inhaltsstoffspektrum geprüft.	
2	Sollwert		Der Fingerprint soll das ganze Inhaltsstoff-Spektrum auflösen
		X	Die Markerverbindung/en soll/en präzise und möglichst von anderen Komponenten chromatographisch getrennt und eindeutig identifizierbar sein
		X	Das verwendete Detektionsverfahren soll ein charakteristisches Bandenmuster ergeben
3	Istwert	X	Gute Auflösung des gesamten Inhaltsstoff-Spektrums
		X	Markerverbindungen eindeutig und hinreichend abgetrennt
		X	Typische spezifische Bandenzonierung
4	Ergebnis	Das verwendete Analysenverfahren kann für die geforderte Prüfung als hinreichend spezifisch betrachtet werden	

Das beschriebene Prüfverfahren erfüllt die Kriterien der Selektivität und Spezifität und kann somit als hinreichend valide zur Identitätsprüfung betrachtet werden.

Überprüfung der „*Specificity*“ im Rahmen einer Methoden-Validierung

Prüf-Methodik: Dünnschichtchromatographie

1	Bezeichnung		Prüfverfahren zur Identitäts-Analyse von: Naphthochinon-Verbindungen aus <i>Hypericum perforatum</i> in „Serofive“
2	Prüfvorschrift		Zugrundeliegende Prüfvorschrift der Fa. Phytochem®

Selektivität des geprüften Analysenverfahrens

1	Prüfung	Das reine verwendete Lösungsmittel zur Herstellung des Prüf-Extraktes wird in identischer Menge statt der Probe chromatographiert	
2	Sollwert	Im Bereich der Prüfsignale in der Probe soll beim reinen Lösungsmittel kein Störsignal zu erkennen sein	
3	Istwert	Kein Störsignal	
4	Ergebnis	Das verwendete Analysenverfahren kann für die geforderte Prüfung als hinreichend selektiv betrachtet werden	

Spezifität des geprüften Analysenverfahrens

1	Prüfung	Ein geeigneter Prüf-Extrakt wird hinsichtlich der chromatographischen Auflösung über das gesamte Inhaltsstoffspektrum geprüft.	
2	Sollwert		Der Fingerprint soll das ganze Inhaltsstoff-Spektrum auflösen
		X	Die Markerverbindung/en soll/en präzise und möglichst von anderen Komponenten chromatographisch getrennt und eindeutig identifizierbar sein
		X	Das verwendete Detektionsverfahren soll ein charakteristisches Bandenmuster ergeben
3	Istwert	X	Gute Auflösung des gesamten Inhaltsstoff-Spektrums
		X	Markerverbindungen eindeutig und hinreichend abgetrennt
		X	Typische spezifische Bandenzonierung
4	Ergebnis	Das verwendete Analysenverfahren kann für die geforderte Prüfung als hinreichend spezifisch betrachtet werden	

Das beschriebene Prüfverfahren erfüllt die Kriterien der Selektivität und Spezifität und kann somit als hinreichend valide zur Identitätsprüfung betrachtet werden.

Validierungsbericht

Der Validierungsbericht stellt eine Zusammenfassung aller Untersuchungen und Ergebnisse dar und bewertet diese anschließend hinsichtlich der festgelegten Akzeptanzkriterien des Validierungsplans. Geringe sowie unkritische Abweichungen müssen diskutiert und begründet werden. Bei massiven Abweichungen ist eine Anpassung der Prüfvorschrift und des Validierungsplans und gegebenenfalls eine Wiederholung der Experimente erforderlich:

Die für die Validierung ermittelten Leistungsparameter dürfen dabei jedoch nicht beeinflusst werden. Der Bericht muss klar strukturiert sein, um die Bewertung zu erleichtern. Die identifizierten Akzeptanzkriterien und Parameter werden für eine gute Nachvollziehbarkeit genau dokumentiert und bei Bedarf Formeln zur Berechnung angegeben oder referenziert.⁶⁵

Endgültige Prüfvorschrift

Wenn die *Draft*-Prüfvorschrift keine Probleme bei der Anwendung aufzeigt und die Validierung erfolgreich abgeschlossen wurde, kann aus der *Draft*-Prüfvorschrift eine endgültige, valide Prüfvorschrift erstellt werden.

6.10 Durchführung der Freigabeanalytik basierend auf den Prüfvorschriften und dem Vergleich mit den Zielwerten (Erstellung der zugehörigen Dokumentation)

Die Analysen wurden basierend auf den hier beschriebenen formalen Vorgaben von Herrn Nino Schwarz durchgeführt und die zugehörigen Ergebnisse in seiner Bachelorarbeit dokumentiert.

6.11 Gesamtprüfvorschrift für das Produkt „Serofive“

Aus den einzelnen validierten Prüfvorschriften, die das oben beschriebene Procedere durchlaufen haben, wird anschließend eine zusammengefasste Prüfvorschrift für das Produkt hinsichtlich aller qualitätsrelevanten Bestandteile erstellt.

Mit Hilfe dieser Prüfvorschrift kann zukünftig die Qualität des neuen Produkts pharma-analog sichergestellt werden.

6.12 Analysenzertifikat für das Produkt „Serofive“

Aus den gesamten Einzelanalysen-Ergebnissen der Gesamtprüfvorschrift „Serofive“ wird für den Auftraggeber ein komprimiertes Analysenzertifikat *Certificate of Analysis (CoA)* in Kurzform erstellt, das alle relevanten Daten umfasst.

Auf den nachfolgenden Seiten ist dieses zweiseitige Dokument dargestellt.

Analytical services	Phytochem GbRmbH	Certificate of Analysis	Page 1 of 2
Serofive capsules 390 mg			Testlot 10320

Certificate of Analysis

Test sample		Serofive capsules 390 mg	
Lot		Testlot 10320	
Production	01.12.20	Expiry date	Unopened 12 months

Part 1 Testing of Nutrition Score			
Parameters	LFBG	Sub clause	Test results
Energy	§ 64 LFBG		338 KJ/100 g 81 kcal/100 g
Fat	§ 64 LFBG	L 17.00 - 4	3 g
Saturated Fatty acids	§ 64 LFBG	L 13.00 - 27	0,8 g
Carbohydrates	§ 64 LFBG	L 00.00 - 143	24 g
Sugar content	§ 64 LFBG	L 00.00 - 143	7 g
Proteins	§ 64 LFBG	L 17.00 - 15	47 g
Salt	§ 64 LFBG	L 00.00 - 144	2 g
Fibers	§ 64 LFBG	L 00.00 - 18	15 g
Humidity	§ 64 LFBG	L 17.00 - 1	8 %

Part 2 Testing of physical parameters of Serofive capsules			
Parameters	EP-Methods		Test results
Uniformity of mass	gravimetric	EP 10 - 2.9.5	conforms
Uniformity of dosage units	gravimetric	EP 10 - 2.9.40	conforms
Loss on drying	gravimetric	EP 10 - 2.2.32	8 %
Total mass/capsule	gravimetric	EP 10 - 2.9.5	390 mg

Part 3 Testing of the Identity and Authenticity of the constituents of Serofive				
Constituent	Marker	Specific PC Methods		Test results
Guarana seed spec. extract	Caffeine	TLC	valid method	conforms
Cola nut spec. extract	Caffeine/ Theobromine	TLC	valid method	conforms
Green tea spec. extract	Caffeine	TLC	valid method	conforms
Rhodiola rosea spec. extract	Caffeic acids	TLC	valid method	conforms
St.John's Wort spec. extract	Naphtochinons	TLC	valid method	conforms
Griffonia spec. extract	5-HTP	HPLC	valid method	conforms

CoA_Serofive_Muster_

Analytical services	Phytochem GbRmbH	Certificate of Analysis	Page 2 of 2
Serofive capsules 390 mg			Testlot 10320

Opuntia spec. extract	Taurin	TLC	valid method	conforms
Lycii spec. extract	GABA	TLC	valid method	conforms
Tryptophan	Tryptophan	HPLC	valid method	conforms
Vitamin D/Cholecalciferol	Vitamin D	TLC	valid method	conforms
Selen	Selen	chem. test	valid method	conforms

Part 4 Testing of limit concentration of Caffeine in Serofive capsules				
Constituent	Limit	Specific PC Method		Test result
Caffeine daily uptake	320 mg/l in energy drinks	HPLC	valid method	200 mg/ 3 cap conforms

The reported Tests above confirm the Identity, Authenticity and Quality regarding to the analysed product Serofive capsules 390 mg

The test results relate only to the items tested.

The testing laboratory is periodically inspected by EQM – ZERT according ISO 9001/2015 and GMP.

1. The tested material above is confirmed as a food supplement and produced under HACCP conditions.
2. The producer of this tested material is qualified as an european food producer and inspected periodically.

Neu-Ulm, 2021-01-29

Dr. Norbert Huppmann, Chemist
(chief laboratory officer)

Neu-Ulm, 2021-01-29

Hans Rausch, Biologist and Chemist
(Qualified Person acc. § 65 AMG)

Valid from: 2021-01-29	signature managing director	signature head of laboratory	signature QS client
---------------------------	--------------------------------	---------------------------------	------------------------

CoA_Serofive_Muster_

7. Ergebnisse und Ausblick

Ausgangspunkt der Arbeit war ein wirksames und funktionsfähiges Labormuster eines neuartigen, nicht psychotropen „Stimmungsaufhellers“ auf der Basis mehrerer Naturstoffe. Basierend auf der festgelegten Rezeptur aus der Entwicklungsphase wurden mehrere „*pilot-scale*“-Chargen semimanuell hergestellt, um die produktionstechnische Adaptierung überprüfen bzw. optimieren zu können. Für die geforderten pharmazeutisch rechtlichen Voraussetzungen zur Prüfung der „*Uniformity*“ sowie der Restfeuchtigkeit in Form von „*Loss on drying*“ wurden im Rahmen dieser Arbeit entsprechende qualitätssichernde Elemente etabliert und in Form von praxisnahen Formblättern versucht, alle Anforderungen des gültigen Arzneibuches umzusetzen. Die hierfür relevanten Messungen wurden entsprechend durchgeführt.

Etablierung qualitätssichernder Instrumente

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die formalen Rahmenbedingungen der Umsetzung europäischer Richtlinien hinsichtlich der Analytik realisiert, die im Rahmen einer zweiten parallellaufenden Bachelorarbeit von Herrn Nino Schwarz auf ihre Praxistauglichkeit hin angepasst und eingesetzt wurden.

In diesem Zusammenhang wurden auch die rechtlichen Rahmenvoraussetzungen einer legalen Etablierung neuer Prüfverfahren hinsichtlich ihrer Validierung formal begleitet. Dies manifestiert sich in der Erstellung entsprechender Validierungspläne, basierend auf dem betriebsinternen Masterplan, der Erstellung zugehöriger formaler Prüfvorschriften („*Drafts*“) für die Einzelanalysen, die formale Auswertung der Prüfungen aus der parallellaufenden Bachelorarbeit (siehe oben) und deren abschließende Umsetzung in entsprechenden Validierungsberichten, die dann letztendlich in betriebsinternen validierten Prüfvorschriften mündeten.

Somit konnte das vollständige, formale Qualitätssicherungskonzept, speziell für dieses Produkt mit seiner Zusammensetzung aus acht Pflanzen, einem Mineralstoff, einem Vitamin und einer essentiellen Aminosäure, umfänglich realisiert werden. Aus den einzelnen validierten Teilschritten konnte damit eine Gesamtprüfvorschrift für das innovative Produkt „Serofive“ erstellt werden. Die Messergebnisse aus der begleitenden analytischen Arbeit von Herrn Nino Schwarz wurden abschließend in einem Analysezertifikat zusammengefasst.

Die Umsetzung formaler Kriterien aus dem europäischen GMP und anderen Qualitätsmanagementsystemen erfordern ein hohes Maß an bürokratischen Dokumentationspflichten um von einem Rohkonzept sowie einem darauf aufbauenden Labormuster zu einem rechtlich sicheren Handelsprodukt zu gelangen. Der komplette formale Vorgehensablauf wurde in dieser Arbeit exemplarisch aufgezeigt und schafft somit ein Ablaufschema für weitere Produktinnovationen und deren Etablierung.

Das im Rahmen dieser beiden Bachelorarbeiten bearbeitete Produkt eröffnet in dem geplanten Anwendungsgebiet vielfältige neue Möglichkeiten. Zu wenig Schlaf, eine Abnahme des sozialen Umfelds, Einsamkeit sowie Unsicherheit sind Mediatoren eines depressionsfördernden sozialen Milieus. Vor allem aber trug, die durch COVID-19 bedingte soziale Isolierung enorm zu einer Verschlechterung des psychischen und physischen Zustands der Menschheit bei. In zahlreichen Studien wurden Metaanalysen durchgeführt, um eine systematische Überprüfung des direkten Zusammenhangs von COVID-19 und dem Anstieg von Krankheiten wie Depressionen, Angststörungen, posttraumatischen Belastungsstörungen und Schlaflosigkeit signifikant belegen zu können. Das bearbeitete Produkt stellt eine einfache Interventions- bzw. vor allem aber auch eine Präventions-Möglichkeit zur Reduzierung bzw. Verhinderung psychischer Störungen dar. Hierbei liegt der Focus vor allem auf umweltbedingten Auslösefaktoren und nicht auf krankhaften Ursachen. Die Ergebnisse der Studien deuten darauf hin, dass die Kurzzeitfolgen von COVID-19 Auswirkungen auf die psychische Gesundheit in allen betroffenen Ländern, unabhängig des Geschlechts, verursachen.^{67,68,69}

Die Implementierung des neuartigen Produkts „Serofive“ könnte hierbei eine wichtige Interventionsoption pandemiebedingter psychischer Probleme auf reiner Naturbasis darstellen. Die Studien zeigen, dass vor allem junge Erwachsene durch erstmalige Konfrontationen mit mentalen Schwierigkeiten von den Folgen der Pandemie betroffen sind. Aufgrund dieser Tatsache sind Präventionsmaßnahmen von großer Bedeutung. Hier könnte das neue Produkt „Serofive“ einen wirkvollen Beitrag leisten.^{67,68,69}

8. Literaturverzeichnis

- [1] Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz - AMG) §2 Arzneimittelbegriff, 1978. Website des Arzneimittelgesetzes. http://www.gesetze-im-internet.de/amg_1976/__2.html (abgerufen am 23. Januar 2021).
- [2] Präsentationsarzneimittel, 2013. Website des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte. <https://www.bfarm.de/SharedDocs/Glossareintraege/DE/P/Pr%C3%A4sentationsarzneimittel.html> (abgerufen am 11. Januar 2021).
- [3] § 2 Arzneimittelbegriff. § 2 Arzneimittelgesetz (AMG), 2005. Buzer. <https://www.buzer.de/gesetz/7031/a140047.htm> (abgerufen am 11. Januar 2021).
- [4] Abgrenzung, 2013. Website des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte. https://www.bfarm.de/DE/Arzneimittel/Arzneimittelzulassung/ZulassungsrelevanteThemen/Abgrenzung/_node.html (abgerufen am 23. Januar 2021).
- [5] Praxiskommentar, Health & Nutrition Claims, A. Meisterernst/ B. Haber (Hrsg.), Behr's Verlag, Seite 4, Absatz II.2.6 Nahrungsergänzungsmittel.
- [6] Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch - LFGB) § 2 Begriffsbestimmungen, 2014. Website des Bundesministeriums der Justiz und des Verbraucherschutzes. https://www.gesetze-im-internet.de/lfgb/__2.html (abgerufen am 23. Januar 2021).
- [7] Allgemeine Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur

- Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit. Artikel 2, Amtsblatt Nummer: L 031, 2002, 1-24. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=CELEX:32002R0178> (abgerufen am 2. Februar 2021).
- [8] *unpublished results* Hans Rausch 2020.
- [9] Ryback, S; Bericht: ALVA – Jahrestagung, 2005. ALVA. https://www.alva.at/images/Publikationen/Tagungsband/Tagungsband_2005.pdf#page=38 (abgerufen am 28. Dezember 2020).
- [10] Praxiskommentar, Health & Nutrition Claims, A. Meisterernst/ B. Haber (Hrsg.), Behr's Verlag, Seite 5, Absatz II.2.7.1 Nährwertkennzeichnung.
- [11] Wolf A, Bray G A, Popkin B M (2008): A short history of beverages and how our body treats them. *Obes Rev* 9(2): 151–164.
- [12] Deutscher Teeverband e.V. (2021): Alles über Tee. www.teeverband.de. (abgerufen am 04.01.20219).
- [13] *Camellia sinensis var assamica*. The Natural World. <https://naturalworld.nl/product/camellia-sinensis-var-assamica/> (abgerufen am 23. Januar 2021).
- [14] Vanessa Crespy G W (2004): A Review of the Health Effects of Green Tea Catechins in Vivo Animal Models. *Journal of Nutrition* (0022-3166/04): 3431–3440.
- [15] Belitz H-D, Grosch W, Schieberle P (2008): Lehrbuch der Lebensmittelchemie, 6. Aufl. Springer Medizin Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [16] Deutscher Tee & Kräuterteeverband, Publikationen, Sonstige Inhaltsstoffe. <https://www.teeverband.de/publikationen/sonstige-inhaltsstoffe/> (abgerufen am 24. Januar 2021).

- [17] Schröder, E. Die Wirkungen von Koffein im Tee **1999**, Deutscher Tee & KräuterteeVerband.
https://www.teeverband.de/files/bilder/Publikationen/Koffein/4_wit2-99-3.pdf (abgerufen am 05.01.2021).
- [18] BLOT, W.J., MCLAUGHLIN, J.K. (1997) Cancer rates among drinkers of black tea. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 37 (8) S. 739-760.
- [19] HOLLMAN, P.C.H., TIJBURG L.B.M., YANG, C.S. (1997) Bioavailability of flavonoids from tea. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 37 (8) S. 719-738.
- [20] TIJBURG, L.B.M., MATTERN, T., FOLTS, J.D., WEISGERBER, U.M., KATAN, M.B. (1997): Tea flavonoids and cardiovascular diseases - A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 37(8) S. 693-704.
- [21] Burdock, G. A.; Carabin, I.G.; Crincoli, C. M. Safety assessment of Kola nut extract as a food ingredient. *Food Chem. Toxicol.* **2009**, 47, 1725-1732.
- [22] Health Benefits times, Health Benefits of Kola Nut.
<https://www.healthbenefitstimes.com/health-benefits-of-kola-nut/> (abgerufen am 21. Januar 2021).
- [23] Amagase H.; Farnsworth N. R. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of Lycium barbarum fruit (Goji). *Food Res. Int.* **2011**, 44, 1702-1717.
- [24] Chang, R. (2002). Bioactive polysaccharides from traditional Chinese medicine herbs as anticancer adjuvants. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 8(5), 559–565.
- [25] Wong, C. K., Leung, K. N., Fung, K. P., & Choy, Y. M. (1994). Immunomodulatory and antitumour polysaccharides from medicinal plants. *Journal of International Medical Research*, 22(6), 299–312.

- [26] Cheng, C. Y., Chung, W. Y., Szeto, Y. T., & Benzie, I. F. (2005). Fasting plasma zeaxanthin response to *Fructus barbarum* L. (wolfberry; Kei Tze) in a food-based human supplementation trial. *Br. J. Nutr.*, 93(1), 123–130.
- [27] Rosenthal, J. M., Kim, J., de Monasterio, F., Thompson, D. J., Bone, R. A., Landrum, J. T., et al. (2006). Dose-ranging study of lutein supplementation in persons aged 60 years or older. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 47(12), 5227–5233.
- [28] Trieschmann, M., Beatty, S., Nolan, J. M., Hense, H. W., Heimes, B., Austermann, U., et al. (2007). Changes in macular pigment optical density and serum concentrations of its constituent carotenoids following supplemental lutein and zeaxanthin. *Exp. Eye Res.*, 84(4), 718–728.
- [29] Diana M.; Quílez J.; Rafecas M. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. *J. Funct. Foods* **2014**, 10, 407-420.
- [30] Narayan V. S.; Nair P. M. Metabolism, enzymology and possible roles of 4-aminobutyrate in higher plants. *Phytochem Lett.* **1990**, 29, 367-375.
- [31] Adeghate E.; Ponery A. S. GABA in the endocrine pancreas: cellular localization and function in normal and diabetic rats. *Tissue Cell.* **2002**, 34, 1-6.
- [32] Parkash J.; Kaur G. Potential of PSA-NCAM in neuron-glia plasticity in the adult hypothalamus: Role of noradrenergic and GABAergic neurotransmitters. *Brain Res. Bull.* **2007**, 74, 317-328.
- [33] Oja S. S.; Saransaari P. Taurine release and swelling of cerebral cortex slices from adult and developing mice in media of different ionic compositions. *J. Neurosci. Res.* **1992**, 32, 551-561.
- [34] Oja S. S.; Saransaari P. Taurine as osmoregulator and neuromodulator in the brain. *Metab. Brain Dis.* **1996**, 11, 153-164.

- [35] Frosini M.; Sesti C.; Saponara S.; Ricci L.; Valoti M.; Palmi M.; Machetti F.; Sgaragli G. Interactions of taurine and structurally related analogues with the GABAergic system and taurine binding sites of rabbit brain. *Br. J. Pharmacol.* **2003**, *139*, 487-494.
- [36] Oja S. S.; Saransaari P. Pharmacology of Taurine. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* **2007**, *50*, 8-15.
- [37] Majhenic L.; Skerget M.; Kenz Z. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chem.* **2007**, *104*, 1258–1268.
- [38] True Guarana Bush (*paullinia cupana*). *URBANTropicals*
<https://urbantropicals.com/product/true-guarana-bush-paullinia-cupana/>
(abgerufen am 16.01.2021).
- [39] Feugang J. M.; Konarski P.; Zou D.; Stintzing F. C.; Zou C. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front. Biosci.* **2006**, *11*, 2574-2589.
- [40] DE WASSE NDE MAAN; CONFITUUR VAN CACTUSVIJG, CACTUSVIJG
<https://www.dewassendemaan.be/recepten/confituur-van-cactusvijg>
(abgerufen am 17.01.2021).
- [41] Livrea M. A.; Tesoriere L. Health Benefits and Bioactive Components of the Fruits from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. *J. PACD* **2006**, 73-83.
- [42] Carnevalea G.; Di Viesti V.; Zavatti M.; Zanolì P. Anxiolytic-like effect of *Griffonia simplicifolia* Baill. seed extract in rats. *Phytomedicine* **2011**, *18*, 848-851.
- [43] Fellows L. E.; Bell E. A. 5-HYDROXY-L-TRYPTOPHAN, 5-HYDROXYTRYPTAMINE AND L-TRYPTOPHAN-5-HYDROXYLASE IN *GRIFFONIA SIMPLICIFOLIA*. *Phytochemistry* **1970**, *9*, 2389-2396.

- [44] Griffonia (Griffonia simplicifolia). *Santé Nutrition*, Oktober 2014. <https://www.sante-nutrition.org/griffonia-griffonia-simplicifolia/> (abgerufen am 15.01.2021).
- [45] Walther D. J.; Bader Michael. A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem. Pharmacol.* **2003**, *66*, 1673-1680.
- [46] Ishaque S.; Shamseer L.; Bukutu C.; Vohra S. *Rhodiola rosea* for physical and mental fatigue: a systematic review. *BMC Complementary Altern. Med.* **2012**, *12*, 1-9.
- [47] Jaque. *Rhodiola Rosea: O que é, para que serve e como tomar.* *Pharmabrazil*, Juni 2020. <https://blog.pharmabrazil.com.br/rhodiola-rosea/> (abgerufen am 15.01.2021).
- [48] Panossian A.; Wikman G.; Wagner H. Plant adaptogens III.* Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action. *Phytomedicine* **1999**, *6(4)*, 287-300.
- [49] Zell H. No clinically relevant interactions of a St. John's Wort extract with low hyperforin content. *E/S/C/O/P*, März 2020. <https://escop.com/no-clinically-relevant-interactions-hypericum-low-hyperforin/> (abgerufen am 16.01.2021).
- [50] A. G. Panossian; T. Efferth; A. N. Shikov; O. N. Pozharitskaya; K. Kuchta; P.K. Mukherjee; S. Banerjee; M. Heinrich; W. Wanying; G. De-an; H. Wagner. Evolution of the adaptogenic concept from traditional use to medical systems: Pharmacology of stress- and aging-related diseases. *Med. Res. Rev.* **2020**, 1-74.
- [51] Saddiqe Z.; Naeem I.; Maimoona A. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J. Ethnopharmacol.* **2010**, *131*, 511 -521.
- [52] Nahrstedt A.; Butterweck V. Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry* **1997**, *30*, 129-134.

- [53] Vandenbogaerde A. L.; Kamuhabwa A.; Delaey E.; Himpens B. E.; Merlevede W. J.; de Witte P. A. Photocytotoxic effect of pseudohypericin versus hypericin. *J. Photochem.* **1998**, *45*, 87–94.
- [54] Rodríguez-Landa J. F.; Contreras C. M. A review of clinical and experimental observations about antidepressant actions and side effects produced by *Hypericum perforatum* extracts. *Phytomedicine* **2003**, *10*, 688–699.
- [55] Schröcksnadel K.; Wirleitner B.; Winkler C.; Fuchs D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clin. Chim. Acta* **2006**, *364*, 82–90.
- [56] M. C. Boadle-Biber. REGULATION OF SEROTONIN SYNTHESIS. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* **1993**, *60*, 1–15.
- [57] Benton D.; Cook R. The Impact of Selenium Supplementation on Mood. *Biol. Psychiatry* **1991**, *29*, 1092–1098.
- [58] Rayman M.; Thompson A.; Warren-Perry M.; Galassin R.; Catterick J.; Hall E.; Lawrence D.; Bliss J. Impact of Selenium on Mood and Quality of Life: A Randomized, Controlled Trial. *Biol. Psychiatry* **2005**; *59*, 147–154.
- [59] Fedotova J.; Dudnichenko T.; Kruzliak P.; Puchavskaya Z. Different effects of vitamin D hormone treatment on depression-like behavior in the adult ovariectomized female rats. *Biomed. Pharmacother.* **2016**, *84*, 1865–1872.
- [60] Reissig C. J.; Strain E. C.; Griffiths R. R. Caffeinated energy drinks—A growing problem. *Drug Alcohol Depend.* **2009**, *99*, 1–10.
- [61] Lipold, B.; Müller-Goymann, C. C.; Schubert, R. Pharmazeutische Technologie, 10. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2017.
- [62] Ph. Eur. (Pharmacopoea Europaea), Europäisches Arzneibuch, 2020, 10. Ausgabe, Grundwerk 2020, EP 10.1, 2.9.5. UNIFORMITY OF MASS OF SINGLE-DOSE PREPARATIONS.

- [63] Ph. Eur. (Pharmacopoea Europaea), Europäisches Arzneibuch, 2020, 10. Ausgabe, Grundwerk 2020, EP 10.1, 2.9.40. UNIFORMITY OF DOSAGE UNITS.
- [64] Ph. Eur. (Pharmacopoea Europaea), Europäisches Arzneibuch, 2020, 10. Ausgabe, Grundwerk 2020, EP 10.1, 2.2.32. LOSS ON DRYING.
- [65] Ermer, J. GMP-BERATER: 14.D Validierung analytischer Verfahren. GMP-Verlag Peither AG 2020, 1-43.
- [66] European Medicines Agency: ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. 1995, 1-15.
- [67] M. Daly; A. R. Sutin; E. Robinson. Depression reported by US adults in 2017–2018 and March and April 2020. *J. Affect. Disord.* 2021, 131-135.
- [68] J. M. C' enat; C. Blais-Rochette; C. K. Kokou-Kpolou; P. Noorishad; J. N. M.; S. McIntee; R. D. Dalexis; M. Goulet; P. R. Labelle. Prevalence of symptoms of depression, anxiety, insomnia, posttraumatic stress disorder, and psychological distress among populations affected by the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res.* 2021, 2-14.
- [69] B. H. Hidaka. Depression as a disease of modernity: Explanations for increasing prevalence. *J. Affect. Disord.* 2012; 205-214.

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: veranschaulichte Einteilung von AM, LM und NEM mit Hilfe eines Kreisdiagramms.....	7
Abbildung 2: Einordnung der Einzelbestandteile von „Serofive“.....	15
Abbildung 3: Teepflanze <i>Camellia sinensis</i>	16
Abbildung 4: Strukturformel von Catechin.....	17
Abbildung 5: Strukturformel von Koffein.....	18
Abbildung 6: Kolanuss <i>Colae acuminata</i>	20
Abbildung 7: Strukturformel von Theobromin.....	20
Abbildung 8: <i>Lycium barbarum</i> Frucht.....	21
Abbildung 9: Strukturformel von GABA.....	23
Abbildung 10: Strukturformel von Taurin.....	23
Abbildung 11: <i>Guarana paullinia cupana</i> Pflanze.....	24
Abbildung 12: Kaktusfeige <i>Opuntia ficus-indica</i>	25
Abbildung 13: <i>Griffonia simplicifolia</i> Pflanze.....	26
Abbildung 14: Strukturformel von 5-Hydroxy-L-Tryptophan.....	27
Abbildung 15: Pflanze <i>Rhodiola rosea</i>	28
Abbildung 16: Unterschied zwischen Adaptogene und Stimulanzen.....	30
Abbildung 17: Johanniskraut <i>Hypericum perforatum</i>	31
Abbildung 18: Strukturformel von Hypericin (links) und Pseudohypericin (rechts).....	32
Abbildung 19: Strukturformel von Amentoflavone.....	34
Abbildung 20: Strukturformel von Hyperforin.....	34
Abbildung 21: Strukturformel von Procyanidin B2.....	34
Abbildung 22: Strukturformel von Chlorogensäure.....	34
Abbildung 23: Strukturformel von Hyperin.....	34

Abbildung 24: Strukturformel von 1,3,5,8-Tetrahydroxyxanthone.....	34
Abbildung 25: Biosyntheseweg von Tryptophan.....	35
Abbildung 26: Strukturformel von Cholecalciferol	37
Abbildung 27: Deckelplatte zum Abheben der Kapseloberteile.....	44
Abbildung 28: Abhebevorgang der Kapselkappen mit Hilfe der Deckelplatte.....	45
Abbildung 29: Kapselböden beim Abfüllvorgang	45
Abbildung 30: „Serofive“ - Kapseln nach Kapselvorgang.....	46
Abbildung 31: Auszug aus der European Pharmacopoeia Online (EPO) 2.9.5	49
Abbildung 32: Formblatt zur Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten	51
Abbildung 33: Formblatt zur Gleichheit der Gebinde-Masse bei Fertigpräparaten	53
Abbildung 34: Formblatt zur Herstellung von standardisierten Prüfextrakten.....	58
Abbildung 35: Formblatt für die HPLC-Bedingungen.....	59
Abbildung 36: Formblatt für die DC-Bedingungen.....	60
Abbildung 37: Kontrollblatt für Referenzlösungen.....	61
Abbildung 38: „Supplement Facts“ von „Serofive“	63
Abbildung 39: Protokollformat für den Trocknungsverlust „Loss on drying“.....	69
Abbildung 40: Skizze einer Abweichung einzelner Teilspektren eines Peaks bei Überlagerung.....	73
Abbildung 41: Ausgefülltes Formblatt zur Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten	111

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Begriffserklärung „HACCP-System“.....	11
Tabelle 2: Prinzipien des HACCP-Systems.....	11
Tabelle 3: Nährwertkennzeichnung.....	12
Tabelle 4: Übersicht der enthaltenen Einzelpflanzen von „Serofive“	14
Tabelle 5: Übersicht der weiteren Bestandteile von „Serofive“	14
Tabelle 6: Übersicht über die Wirkung von Polyphenolen.....	17
Tabelle 7: Übersicht der pharmakologischen Wirksamkeiten der Leitkomponenten von <i>Hypericum perforatum</i>	33
Tabelle 8: Übersicht über Beispiele von Werbeaussagen hinsichtlich des rechtlichen Rahmens.....	41
Tabelle 9: Parameter für die Herstellung von Pulverzubereitungen. ⁶¹	47
Tabelle 10: Einwaagen der Pflanzenextrakte zur Vorproduktion von „Serofive“	48
Tabelle 11: Einwaagen der aktiven Inhaltsstoffe zur Vorproduktion von „Serofive“ .	48
Tabelle 12: Auszug aus der European Pharmacopoeia Online „Table 2.9.5.-1“	49
Tabelle 13: Ausschnitt aus der European Pharmacopoeia Online 2.9.5.-1.	50
Tabelle 14: Validierungselemente im Überblick nach ICH Q2(R1).	71
Tabelle 15: Formeln zur Berechnung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze.	78

II. Anhang

II.1 Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 01 gültig ab: 01.09.2020	Formblatt zur SOP – AU 016	Ersetzt Version - vom -
--	--------------------------------------	-------------------------------	----------------------------

Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten

Analysen-Nummer		F&E	
Prüfobjekt	Serofive	Hartgelatinekapseln	
Spezifizierung	-	Tablette	X Kapsel
Charge	Testcharge	-	
Gültige Prüfvorschrift			
Pharmakopoeia	EP 2.9.5	ISO 19609 Part 1	
SOP	AU 016	Vorschrift als Anlage	

Es werden 20 Einzeldosierungen (Tabletten/Kapseln* etc.) statistisch entnommen, einzeln gewogen und der Mittelwert und die jeweilige Abweichung davon bestimmt. *Füllmasse = Kapselmasse minus Masse der Hülle

No.	Gesamtmasse [mg]	Abweichung [%]	No.	Gesamtmasse [mg]	Abweichung [%]
1	461,16	1,63	11	467,21	0,34
2	450,93	3,81	12	474,80	1,28
3	475,77	1,49	13	464,70	0,87
4	473,81	1,07	14	479,10	2,20
5	472,16	0,72	15	469,96	0,25
6	473,67	1,04	16	470,00	0,26
7	469,70	0,19	17	464,60	0,89
8	462,58	1,32	18	479,10	2,20
9	468,40	0,08	19	459,90	1,90
10	462,37	1,37	20	475,90	1,52
Gesamtmasse		9375,82 [mg]	Durchschnittsmasse		468,79 [mg]
Größte Abweichung		3,81 [%]	Kapselhüllmasse		98,17 [mg]

Die erforderliche Spezifikation bezieht sich auf die pharmazeutische Darreichungsform und die Einzelmasse.

Ergebnis

Parameter	Ergebnis	Spezifikation	Produktklasse
Gleichförmigkeit der Masse	≤ 3,81 %	≤ 7,50 %	Für > 300 mg

Das Ergebnis der GMP-Prüfung "Gleichförmigkeit der Masse" entspricht den Anforderungen der zugrundeliegenden Prüfvorschrift

Neu-Ulm, den	9.12.2020	Unterschrift Labormitarbeiter	Strobl Jina
--------------	-----------	-------------------------------	-------------

Plausibilität und Richtigkeit der Ergebnisse geprüft			
Neu-Ulm, den	09.12.2020	Unterschrift Fabrikation/Qualitätskontrolle (QC)	

Abbildung 41: Ausgefülltes Formblatt zur Gleichheit der Masse bei Fertigpräparaten

11.2 SOP – AR 012 „Validierung analytischer Prüfverfahren im GMP-Bereich“

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 1 von 14
---	---	--------------------------------------	-----------------------

**Arbeitsanweisung
SOP
Standard Operating Procedure**

Titel:
Validierung analytischer Prüfverfahren im GMP-Bereich

Diese SOP gilt ab: 22.10.2018
Diese SOP ersetzt die Version: V01, gültig ab 20.08.2013

Änderungshinweise: inhaltliche Änderungen

Verantwortlich für die Ausführung: - Geschäftsleitung - Laborleitung - Labormitarbeiter	Verteiler: - Qualitätssicherung - Geschäftsleitung - Laborleitung - Labormitarbeiter
---	---

Herausgegeben am	Datum/Unterschrift
Überprüft am	Qualitätssicherung
Genehmigt am	Laborleitung
	Geschäftsleitung

Revision		Datum/Unterschrift	
Nr.	Datum	Qualitätssicherung	Geschäftsleitung
1			
2			
3			

Diese SOP besteht aus 14 Seiten und 0 Anhangseiten

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 2 von 14
---	--	---	-----------------------

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung und Zielsetzung	4
B. Definitionen und Abkürzungen	4
B.1. Abkürzungen.....	4
B.2. Definitionen	4
C. Beschreibung.....	7
C.1. Methodenvalidierung	7
C.1.1. Allgemeines.....	7
C.1.2. Umfang der Validierung.....	7
C.2. Methodologie.....	7
C.2.1. Probenvorbereitung.....	7
C.2.1.1. Allgemeines	7
C.2.1.2. Durchführung.....	7
C.2.2. Spezifität / Selektivität.....	8
C.2.2.1. Allgemeines	8
C.2.2.2. Durchführung.....	8
C.2.2.3. Auswertung	8
C.2.2.4. Anforderungen	8
C.2.3. Linearität	9
C.2.3.1. Allgemeines	9
C.2.3.2. Durchführung.....	9
C.2.3.3. Auswertung	9
C.2.3.4. Anforderungen	9
C.2.4. Präzision.....	10
C.2.4.1. Wiederholpräzision.....	10
C.2.4.1.1. Allgemeines	10
C.2.4.1.2. Durchführung	10
C.2.4.1.3. Auswertung.....	10
C.2.4.2. Intermediate Präzision.....	10
C.2.4.2.1. Allgemeines	10
C.2.4.2.2. Durchführung	10
C.2.4.2.3. Auswertung.....	11
C.2.4.3. F- und t-Test.....	11
C.2.5. Nachweisgrenze.....	11
C.2.5.1. Allgemeines	11
C.2.5.2. Durchführung.....	11
C.2.5.3. Auswertung	11
C.2.5.4. Anforderung	12
C.2.6. Bestimmungsgrenze.....	12
C.2.6.1. Allgemeines	12
C.2.6.2. Durchführung.....	12
C.2.6.3. Auswertung	12
C.2.6.4. Anforderung	12
C.2.7. Robustheit	12
C.2.7.1. Allgemeines	12
C.2.7.2. Durchführung.....	13
C.2.7.3. Auswertung	13
C.2.8. Stabilität der Prüflösungen.....	13

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 3 von 14
---	--	---	-----------------------

C.2.8.1. Allgemeines	13
C.2.8.2. Durchführung	14
C.2.8.3. Auswertung	14
C.3. Dokumentation	14
C.3.1. Deckblatt für Einzelmethode	14
C.3.2. Validierungsbericht	14
D. Archivierung	15
D.1. Elektronische Daten	15
D.2. Dokumente	15
E. Mitgeltende Unterlagen	15
E.1. Gesetze und Richtlinien	15
E.2. SOPs	15
E.3. Formblätter und Vorlagen	15

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 4 von 14
--	--------------------------------------	-------------------------------	----------------

A. Einleitung und Zielsetzung

Diese SOP beschreibt die Validierung analytischer Prüfverfahren sowie deren Dokumentation im GMP-Bereich.

B. Definitionen und Abkürzungen

B.1. Abkürzungen

DC:	Dünnschichtchromatographie
GC:	Gaschromatographie
HPLC:	High Performance Liquid Chromatography
ICH:	International Conference on Harmonisation
RP:	reversed phase
SOP:	Standard Operating Procedure – Standard-Arbeitsanweisung
UV:	ultraviolett

B.2. Definitionen

Validierung

Die Validierung ist der Nachweis und die Dokumentation der Zuverlässigkeit einer Methode.

Die Validierung eines Analysenverfahrens ist im Prinzip eine fehlertheoretische Systemanalyse der angewendeten chemischen, physikalischen und mathematischen Grundlagen, der verwendeten Meßsysteme, der Datengewinnung und Datenverarbeitung einschließlich der notwendigen Kalibrierung.

Die Validierung eines Analysenverfahrens besteht im wesentlichen aus der kritischen Untersuchung der einzelnen Analysenschritte auf systematische und statistische Fehler mit dem Ziel, für ein Analysenverfahren Aussagen zu machen hinsichtlich:

- Beschreibung der Probenvorbereitung
- Selektivität / Spezifität
- Linearität
- Arbeitsbereich
- Richtigkeit
- Präzision/Intermediate Präzision
- Wiederfindungsrate
- Nachweisgrenze
- Bestimmungsgrenze
- Robustheit
- Stabilität der Testlösungen

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 5 von 14
---	--	---	-----------------------

Beschreibung der Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung dient dazu, den gesuchten Analyten aus seiner Matrix herauszulösen, um eine hinreichende Analytik der Probenlösung zu ermöglichen.

Spezifität / Selektivität

Fähigkeit, eindeutig zwischen dem Analyten und anderen möglicherweise vorhandenen Bestandteilen (Verunreinigungen, Abbauprodukte, Hilfsstoffe, usw.) unterscheiden zu können. Bei einer spezifischen Bestimmung entspricht der Messwert zu 100% dem Analyten. Fehlt es dem analytischen Verfahren an Spezifität, kann es durch ein zweites Prüfverfahren ergänzt werden (z.B. Titration + HPLC).

Linearität

Bezeichnet die Fähigkeit innerhalb eines vorgegebenen Bereichs Prüfergebnisse zu erhalten, die direkt proportional zur Konzentration eines Analyten in der Probe sind.

Angegeben wird die Abhängigkeit des Messsignals (z.B. Extinktion, Response) zur Messgröße (z.B. mg).

Arbeitsbereich

Bezeichnet das Intervall zwischen der oberen und der unteren Konzentration eines Analyten in einer Probe, für die nachgewiesen wurde, dass das Analysenverfahren ausreichende Richtigkeit und Linearität gewährleistet.

Genauigkeit / Richtigkeit

Drückt den Grad der Übereinstimmung zwischen dem als wahr angenommenen Ist-Wert bzw. akzeptierten Vergleichswert und dem ermittelten Wert aus.

Präzision/Wiederfindung

Bezeichnet den Grad der Übereinstimmung zwischen verschiedenen Messungen, die in Mehrfachstichproben an der gleichen homogenen Probe unter den vorgeschriebenen Bedingungen vorgenommen wurden. Unterschieden werden:

- Wiederholpräzision:

Drückt die Präzision unter gleichen Prüfbedingungen über einen kurzen Zeitraum innerhalb einer Bestimmungsreihe aus.

- Intermediate Präzision:

Bezeichnet die Schwankungen innerhalb einer Firma an unterschiedlichen Tagen, bei unterschiedlichen Analytikern, bei Verwendung unterschiedlicher Geräte etc..

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 6 von 14
--	--------------------------------------	-------------------------------	----------------

Nachweisgrenze

Bezeichnet die niedrigste Menge des Analyten in einer Probe, die nachgewiesen werden kann, ohne jedoch einen genauen quantitativen Wert angeben zu können (Signal über Rauschen).

Bestimmungsgrenze

Bezeichnet die niedrigste Menge eines Analyten in einer Probe, die mit ausreichender Präzision und Richtigkeit quantitativ erfasst werden kann.

Robustheit

Ist ein Maß für die Fähigkeit des Analyseverfahrens gegen geringfügige, aber gewollte (zulässige) Änderungen der Methodenparameter unempfindlich zu sein und gibt einen Hinweis auf die Zuverlässigkeit des Verfahrens unter normalen Bedingungen.

Stabilität der Testlösungen

Die Stabilität der Testlösungen liefert Informationen über die Sensibilität der Analytik hinsichtlich der typischen Labor-/Außenbedingungen (Licht und Temperatur), damit bei der Prüfung entsprechende Maßnahmen (Schutz) getroffen werden können.

C. Beschreibung**C.1. Methodvalidierung****C.1.1. Allgemeines**

Die Methodvalidierung erfolgt grundsätzlich gemäß den gültigen ICH-Guidelines. Die Validierung wird von qualifizierten und nach SOP QG 003 geschulten Mitarbeitern der Firma Phytochem durchgeführt und ausgewertet.

C.1.2. Umfang der Validierung

Der Umfang der Validierung wird vom Kunden definiert.

Für Validierungen analytischer Verfahren muss jeweils vor der Konzeptionierung der Validierung ein individueller Validierungsplan erstellt werden.

Hierin sind die allgemeinen Vorgaben für Validierungen aus dem Validierungsmasterplan (SOP 011 Validierung Masterplan) und der vom Kunden definierte Validierungsumfang sowie die zu erreichenden Zielwerte verbindlich festgelegt.

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 7 von 14
---	--	---	-----------------------

Die Firma Phytochem schlägt alternativ eine realisierbare Vorgehensweise für die Validierung vor.

C.2. Methodologie

C.2.1. Probenvorbereitung

C.2.1.1. Allgemeines

Die Probenvorbereitung soll möglichst quantitativ den Analyten aus der Probenmatrix in die Prüflösung überführen. Die hierzu eingesetzten Methoden/Verfahren sind hinsichtlich der Wiederfindung des Analyten zu beurteilen (z.B. Extraktion, Konzentrierungsschritte, Flüssig-Flüssig-Verteilung, SPE, etc.).

C.2.1.2. Durchführung

Die relevanten Methoden werden im Non-GMP-Umfeld unter Variation kritischer Parameter durchgeführt und verglichen.

Die Methode mit dem besten Ergebnis (auch Kompromiss aus Aufwand und Wiederfindung) wird anschließend realisiert.

Die Wiederfindungsrate wird in der Regel durch Zugabe des reinen Analyten als interner Standard bestimmt (am besten mit einem Placebo).

C.2.2. Spezifität / Selektivität

C.2.2.1. Allgemeines

Die Spezifität wird durch den Probenblindwert belegt.

Der Selektivitätskoeffizient α ist ein Maß für die Selektivität einer Trennung.

Spezifität und Selektivität werden angewendet bei:

- Identitätsprüfung
- Grenzprüfung Reinheit
- quantitative Reinheitsprüfung
- Gehaltsbestimmung und Freisetzung

C.2.2.2. Durchführung

Es werden Probenblindwerte (Placebo) aufgearbeitet und mit dem Probenwert verglichen. Analysiert werden unter anderem hierbei:

- chem. verwandte Substanzen
- Verunreinigungen
- Lösungsmittel

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 8 von 14
--	--------------------------------------	-------------------------------	----------------

C.2.2.3. Auswertung

bei DAD: Online Absorptionsspektrum
Peak Purity Index (> 0,98)

C.2.2.4. Anforderungen

Spezifität: Blindwert (BW) < Detektionsgrenze
Selektivität: ausreichende Selektivität in der HPLC ist >0,98

C.2.3. Linearität

C.2.3.1. Allgemeines

Die Linearität umfasst die Linearität der Wiederfindung und des Gesamtverfahrens. Sie wird durch min. eine 3-Punkt-Kalibrierung belegt.

Der Arbeitsbereich ist durch den unteren und oberen Kalibrierpunkt festgelegt.

Die Linearität wird bei der Gehaltsbestimmung angewendet.

C.2.3.2. Durchführung

Zur Erfassung der Linearität werden in der Regel min. 3 Lösungen im Konzentrationsbereich von 50% -150% des Analyten analysiert. Die Einzelwerte der Peakflächen werden angegeben. Alternativ können auch unterschiedliche Einwaagen gemacht werden.

C.2.3.3. Auswertung

Berechnung:

- Steigung
- Achsenabschnitt
- Korrelationskoeffizient
- Standardabweichung (Berechnung des Vertrauensbandes)

Graphisch-statistische Auswertung:

Die Linearität wird in einem Diagramm mit dem Verhältnis der Peakfläche zur eingesetzten Konzentration der Lösung dargestellt.

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 9 von 14
--	--------------------------------------	-------------------------------	----------------

C.2.3.4. Anforderungen

- lineare Regression
- Korrelationskoeffizient (r) > 0,98

C.2.4. Präzision

C.2.4.1. Wiederholpräzision

C.2.4.1.1. Allgemeines

Die Wiederholpräzision wird bei Gehaltsbestimmungen angewendet.

C.2.4.1.2. Durchführung

Es werden mind. 6 Bestimmungen mit Probenaufbereitung bei 100% des typischen Analytgehaltes durchgeführt.

C.2.4.1.3. Auswertung

Die Peakfläche des Analyten wird betrachtet und daraus folgende Parameter berechnet:

- Mittelwert
- Standardabweichung
- relative Standardabweichung (Variationskoeffizient)
- Varianz

C.2.4.2. Intermediate Präzision

C.2.4.2.1. Allgemeines

Die intermediate Präzision wird bei Gehaltsbestimmungen angewendet.

C.2.4.2.2. Durchführung

Bei der intermediate Präzision können folgende Parameter der Wiederholpräzision geändert werden:

- neue Probenaufarbeitung
- anderer Tag
- anderer Mitarbeiter

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 10 von 14
---	--	---	------------------------

Es wird jedoch die gleiche Charge des Prüfmusters, das gleiche Lösungsmittel und bei HPLC- bzw. GC- Validierungen die gleiche Trennsäule bei der Analyse verwendet.

C.2.4.2.3. Auswertung

Die Peakfläche des Analyten wird betrachtet und daraus folgende Parameter berechnet:

- Mittelwert
- Standardabweichung
- relative Standardabweichung (Variationskoeffizient)
- Varianz

C.2.4.3. F- und t-Test

Nach Abschluss der Wiederhol- und intermediate Präzision wird in der Regel ein statistischer Vergleich zwischen den beiden Präzisionen vorgenommen.

C.2.5. Nachweisgrenze

C.2.5.1. Allgemeines

Die Nachweisgrenze wird durch die Messung der niedrigsten, noch messbaren Konzentration des Analyten ermittelt. Die Nachweisgrenze wird bei der quantitativen Reinheitsbestimmung bzw. Limittests angewendet.

C.2.5.2. Durchführung

Basislinie: reines Lösungsmittel wird eingesetzt

C.2.5.3. Auswertung

Berechnung:

Signal-Rausch Verhältnis bestimmen

Bewertung:

- | | |
|--------------------------------|---|
| a) visuell: | Analyt gerade noch erkennbar |
| b) Signal-Rausch – Verhältnis: | Verhältnis mindestens 3:1 (ca. 1/3 der Bestimmungsgrenze) |

C.2.5.4. Anforderung

Für die Nachweisgrenze sollte ein Signal-Rausch - Verhältnis von 3:1 bei der Auswertung des Streusignals über die 3-fache Peakhöhe festgelegt werden.

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 11 von 14
---	--	---	------------------------

C.2.6. Bestimmungsgrenze

C.2.6.1. Allgemeines

Die Bestimmungsgrenze wird bei der Gehaltsbestimmung und Limittests ermittelt.

C.2.6.2. Durchführung

Für die Ermittlung der Bestimmungsgrenze wird eine 1%ige Verdünnung der typischen Testlösung eingesetzt.

C.2.6.3. Auswertung

Berechnung:

Signal-Rausch – Verhältnis

Bewertung:

Signal-Rausch – Verhältnis: Verhältnis mindestens 10 : 1

C.2.6.4. Anforderung

Spezifikation: 1% je nach Messtechnik

C.2.7. Robustheit

C.2.7.1. Allgemeines

Anwendung bei:

- quantitative Reinheitsprüfung
- Gehaltsbestimmung

C.2.7.2. Durchführung

Kritische Parameter und Variation der kritischen Parameter festlegen.

Für jede Analysenmethode sind typische kritische Parameter zu variieren.

Diese sind spezifisch für die Validierung festzulegen.

Beispiele der kritischen Parameter für die wichtigsten Analysenverfahren:

- HPLC
1. Fluss (Gradient)
 2. Temperatur
 3. Säule

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 12 von 14
---	--	---	------------------------

	4. mobile Phase
GC	1. Temperaturgradient 2. Gasfluss / Druck 3. Säule
DC	1. Kammersättigung 2. mobile Phase 3. DC-Platten, Vorbehandlung
UV	Durchführung von Robustheit nicht notwendig, da Absolutmethode
Titration	Durchführung von Robustheit nicht notwendig, da Absolutmethode

C.2.7.3. Auswertung

Die prozentuale Abweichung wird berechnet und mit der Spezifikation verglichen. Es erfolgt die graphische Darstellung der Retentionszeit in Abhängigkeit des geänderten Parameters.

C.2.8. Stabilität der Prüflösungen

C.2.8.1. Allgemeines

Es wird die Stabilität der Prüflösungen im Kurzzeitbereich getestet.

C.2.8.2. Durchführung

- thermischer Stress: Lagerung bei RT und 4-8 °C, Einfrieren der Proben bei -20°C
- erneute Gehaltsbestimmung nach Lagerung
- Lichtstress bei 150.000 Lux*h Weißlicht und 25 Watt x h/ m² UV-Licht (= 1,5 Monate Tageslicht)

C.2.8.3. Auswertung

- Untersuchung der Probe auf Veränderungen im Gehalt nach Lagerung und Lichtstress
- die maximale Abweichung des relativen Gehalt von 100% wird bestimmt

C.3. Dokumentation

C.3.1. Deckblatt für Einzelmethode

Das Deckblatt existiert für jede Analysenmethode (HPLC, DC etc.).

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 13 von 14
---	--	---	------------------------

Nach Beenden der Validierung und Auswertung der Daten werden die zugehörigen Formblätter der einzelnen Validierungsschritte beigelegt. Das Deckblatt wird vom Prüfer mit Datum und Unterschrift abgezeichnet und zur Erstellung der Dokumentation an die Dokumentation weitergegeben, die dann die Erstellung der Dokumentation an den Kunden anweist oder ggf. selbst vornimmt.

C.3.2. Validierungsbericht

Die gesamten Daten der Validierung werden nach Prüfung durch die Laborleitung an die Dokumentation weitergegeben und dann zu einem Validierungsbericht zusammengefasst.

Der gesamte Validierungsbericht wird nach einer Überprüfung der Richtigkeit der Daten durch die Unterschriften der Geschäftsleitung und der Laborleitung freigegeben.

Das Original des Validierungsberichtes wird an den Kunden versandt. Weiterhin ist eine Kopie des Berichtes anzufertigen und im entsprechenden Substanzordner zu archivieren.

D. Archivierung

Die Datensätze werden gemäß den gültigen gesetzlichen Grundlagen archiviert.

D.1. Elektronische Daten

Die elektronischen Daten werden derzeit an beiden Standorten unabhängig gesichert (Server, CD-ROM, Streamer).

D.2. Dokumente

Die Dokumente werden am Stammsitz der Firma Phytochem in Ichenhausen archiviert.

E. Mitgeltende Unterlagen

E.1. Gesetze und Richtlinien

ICH-Guidelines

GMP-Leitlinien

QM-Handbuch

E.2. SOPs

SOP QG 003

SOP QG 011

E.3. Formblätter und Vorlagen

- Formblatt „Deckblatt Validierungen“

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: 02 gültig ab: 22.10.2018	SOP – AR 012 Analytiklabor	Seite 14 von 14
---	--	---	------------------------

- Formblatt „Deckblatt Detailprüfung Validierung“
- Muster Validierungsplan (siehe SOP AR 011)

SOP_AR_012_V02_GMP_Validierung

11.3 Validierungsplan für die quantitative Bestimmung von Koffein in „Serofive“

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 1 von 7
---	--------------------------------------	---	----------------------

Validierungsplan für die Bestimmung von: „freiem“ Koffein in „Serofive“

Gehaltsbestimmung von „freiem“ Koffein
in
„Serofive“

	Name, Abteilung, Funktion	Datum	Unterschrift
1	Verfasser	Sina Strobl	
2	Überprüft von	N.Huppmann Leitung QC	
3	Genehmigt von	H.Rausch Leitung QM	
4	Freigegeben von	G.Steinmann-Möller Leitung QS	
5	Verteiler	Original:	Phytochem
		Originalkopien	Auftraggeber
6	Archivierung	Archiv der Fa. Phytochem	

7	Anlass		Termin
	Neuentwicklung	X	
	Methoden-Transfer	-	
	Revalidierung	-	
	Verfahrensänderung	-	
	Sonstiges	-	

8	Bemerkungen	-
		Die Arzneibuch-Methode: muss ersetzt werden wegen:
		- Validierungsmerkmal: Identification
		X Validierungsmerkmal: Assay
		- Validierungsmerkmal: Impurity

9	Auftraggeber	/
10	Präparat	/
11	Methode/Prüfvorschrift	/
12	Probenmaterial	/
13	Untersuchungs- Parameter	Koffein
14	Referenzsubstanzen	/
15	Placebo	/

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 2 von 7
---	--------------------------------------	--	----------------------

Inhaltsverzeichnis

1. Ziel
2. Mitgeltende Unterlagen
3. Validierungsumfang im Überblick
4. Geräte und Anlagen
5. Verwendete Materialien
6. Verfahrensbeschreibung
7. Akzeptanzkriterien
8. Durchführung der Validierung
9. Spezifität
10. Selektivität
11. Linearität
12. Richtigkeit
13. Präzision
14. Intermediate Präzision
15. Statistischer Vergleich
16. Präzision am Reporting Level
17. Robustheit
18. Stabilität der Testlösungen
19. Nachweis- und Bestimmungsgrenze

1. Ziel

Mit Hilfe des vorliegenden Validierungsplans soll in Verbindung mit dem zugehörigen Validierungsbericht der dokumentierte Nachweis erbracht werden, dass das beschriebene analytische Verfahren gemäß der zugehörigen Prüfvorschrift zu verlässlichen und reproduzierbaren Ergebnissen im Sinne der entsprechenden CPMP/ICH-Leitlinien und der EG-GMP sowie des zugrunde liegenden Arzneibuches führt und es daher als valide gilt.

2. Mitgeltende Unterlagen

- 2.1. Validierungs-Masterplan (AR 011)
- 2.2. Prüfvorschrift :
- 2.3. SOP Durchführung von Validierungen (AR 012)
- 2.4. QS-Handbuch

Validierungsplan für die quantitative Bestimmung von Koffein in „Serofive“

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 3 von 7
---	--------------------------------------	--	----------------------

3. Validierungsumfang im Überblick

	Characteristics	Type of analytical procedure			
		Identification	Assay	Testing for Impurities	
				Quantitative	limit
1	Accuracy		+		
2	Precision		+		
	Intermediate Precision		+		
3	Specificity		+		
4	Detection Limit		-		
5	Quantitation Limit		-		
6	Linearity		+		
7	Range		+		
8	Robustness		+		
9	Stability of Test Solutions		optional		

4. Geräte und Anlagen

	Gerät/Anlage	Spezifikationen
1	HPLC	Gradienten-Analage „Agilent 1100“
2		
3		

5. Verwendete Materialien

5.1. Probenmaterial

	Probenart	Bezeichnung	Charge
1	FAM	„Serofive“	
2	Placebo		
3	Referenzsubstanzen	Coffein, Theophyllin, Theobromin	

5.2. Herstellung der Proben-Lösung

1 Kapsel (390 mg) wird in 5 ml Wasser bzw. Methanol im Ultraschallbad gelöst und filtriert.

5.1. Herstellung der Referenzsubstanzlösung

Die Reinsubstanz wird mit einer Konzentration von 1 mg/ml Methanol bzw. Wasser angesetzt.

5.2. Herstellung der Referenzsubstanzlösung

1 g Droge wird in 10 ml Methanol oder Wasser im Ultraschallbad extrahiert und die filtrierte Lösung eingesetzt.

Validierungsplan für die quantitative Bestimmung von Koffein in „Serofive“

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 4 von 7
---	--------------------------------------	--	----------------------

6. Verfahrensbeschreibung

In der Regel liegt zu Beginn der Validierung nur eine genehmigte *Draft*-Version der entsprechenden Prüfvorschrift vor, die dann nach erfolgreicher Validierung auf der Basis der erzielten Ergebnisse weiter konkretisiert wird.

Das analytische Verfahren wird in der mitgeltenden Prüfvorschrift beschrieben.

Prüfvorschrift:	noch nicht endgültig erstellt	Version: /
-----------------	-------------------------------	------------

7. Akzeptanzkriterien

	Parameter	Akzeptanzkriterien	Ziel
1	Spezifität	Peak Reinheit	> 0.98 / > 900
2	Selektivität	Trouble Peak	Nein
3	Linearität	Lineare Regression	≥ 0.99
4	Richtigkeit	Theoretisch	Erfüllt
5	Präzision	Variation	≤ 4%
6	Intermediate Präzision		≤ 4%
7	Statistischer Vergleich	Bestehen des F- Tests	Vergleich der Abweichungen Nicht signifikant
		Bestehen des t- Tests	Vergleich der Mittelwerte Nicht signifikant
8	Präzision am Reporting Level	-	-
9	Robustheit	Linearität aus 3 Werten	Erfüllt
	Flussrate	Variation des Gehaltes	≤ 4%
	Säulentemperatur	Variation des Gehaltes	≤ 4%

8. Durchführung der Validierung

Die Validierung erfolgt in Anlehnung an die oben erwähnte Prüfvorschrift. Die genaue Durchführung der Einzelprüfungen wird im Folgenden spezifiziert. Darüber hinaus gehende relevante Erkenntnisse werden in der Labor-Dokumentation vermerkt, im Validierungsbericht dokumentiert und anschließend in die Prüfvorschrift bei Bedarf aufgenommen.

9. Spezifität

10. Selektivität

11. Linearität

Validierungsplan für die quantitative Bestimmung von Koffein in „Serofive“

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 5 von 7
---	--------------------------------------	--	----------------------

Herstellung der Probelösungen:

Probe	Matrix	Einwaage	Konz in %
Lin1.1	„Serofive Extrakt“		50
Lin1.2	„Serofive Extrakt“		75
Lin1.3	„Serofive Extrakt“		100
Lin1.4	„Serofive Extrakt“		125
Lin1.5	„Serofive Extrakt“		150

Zur Bestimmung wird von jeder Lösung eine Doppelbestimmung durchgeführt.

12. Richtigkeit

	Anzuwendendes Verfahren	
12.1	Drei Einwaagen bei drei Konzentrationen	
12.2	Vergleich mit einem weiteren unabhängigen Verfahren	
12.3	Ableitung der Richtigkeit aus Präzision, Linearität und Spezifität	

Ableitung der Richtigkeit nach 12.3.

Sind die Parameter Präzision, Linearität und Spezifität erfüllt, dann gilt die Richtigkeit als gegeben.

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 6 von 7
---	--------------------------------------	--	----------------------

13. Präzision

Probe	Matrix	Einwaage	Konz in %
P1	„Serofive“ Extrakt		100 ± 4%
P2	„Serofive“ Extrakt		100 ± 4%
P3	„Serofive“ Extrakt		100 ± 4%
P4	„Serofive“ Extrakt		100 ± 4%
P5	„Serofive“ Extrakt		100 ± 4%
P6	„Serofive“ Extrakt		100 ± 4%

Geräte und Durchführungsbeschreibung

14. Intermediate Präzision

Probe	Matrix	Einwaage	Konz in %
I1	„Serofive“ Extrakt		100
I2	„Serofive“ Extrakt		100
I3	„Serofive“ Extrakt		100
I4	„Serofive“ Extrakt		100
I5	„Serofive“ Extrakt		100
I6	„Serofive“ Extrakt		100

Geräte und Durchführungsbeschreibung

15. Statistischer Vergleich

	Parameter	Präzision	Intermediate Präzision
1	Anzahl der Analysen	6	6
2	Mittelwert		
3	Standardabweichung		
4	Variationskoeffizient		
5	Varianz		
6	Vertrauensintervall 95%		

F-Test: Vergleich der Varianzen**t -Test:: Vergleich der Mittelwerte**

Validierungsplan für die quantitative Bestimmung von Koffein in „Serofive“

Phytochem Referenzsubstanzen GbRmbH	Version: gültig ab:	Validierungsplan zur SOP – AR 011	Seite 7 von 7
---	--------------------------------------	--	----------------------

16. Robustheit

Typischerweise werden zwei Testparameter im analytischen Verfahren geringfügig modifiziert und deren Auswirkung auf die Ergebnisse betrachtet.

	Variation des 1. Parameters	Folge der Variation	Gehalt	rel. Abweichung
1	0,9 ml/min			
0	1,0 ml/min	keine	100%	0%
2	1,1 ml/min			

	Variation des 2. Parameters	Folge der Variation	Gehalt	rel. Abweichung
1	23 °C			
0	25 °C	keine	100%	0%
2	27 °C			

Validierungsplan für die quantitative Bestimmung von Koffein in „Serofive“

I 2. Lebenslauf

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Sina Strobl
 Geburtsdatum: 29.03.1997 in Donauwörth
 Kontaktadresse: Geschwister-Scholl-Straße 22,
 86609 Donauwörth

☎ 015254630930
 ✉ sinastrobl32@gmail.com

Eltern: Marianne Strobl, geb. Wirth,
 Bankkauffrau
 Günter Strobl, Bautechniker

Geschwister: Verena Strobl, Vorstandsassistentin



Studium

10/2016 - 02/2021 Pharmazeutische Chemie (voraussichtlicher Abschluss 2021)

Schulbildung

09/2007 – 07/2015 Gymnasium Donauwörth, Allgemeine Hochschulreife
 09/2003 – 07/2007 Gebrüder-Röls-Volksschule Donauwörth

Berufserfahrung

09/2020 – heute Phytochem® Referenzsubstanzen GbRmbH
 (Praxisphase unbezahltes Praktikum, Bachelorarbeit)

05/2016 – 06/2016 Zeitarbeit Firma Randstad Donauwörth

11/ 2015 – 04/2016 arbeitssuchend (Minijob)
 Studienplatzsuche

Qualifikationen

Englisch: seit 12 Jahren
 Französisch: 4 Jahre
 Sonstiges: Führerscheinklasse B
 EDV: MS Office

Sina Strobl

Sina Strobl