

**Untersuchungen zur
physikalisch-chemischen Stabilität
und Einsatz von In-Line-Filtern
bei ausgewählten Tumorthérapeutika
zur parenteralen Anwendung**

Dissertation
zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“

im Promotionsfach Pharmazie
am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften der
Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

Sun Hee Kim
geboren in Ulsan, Republik Korea

Mainz, Dezember 2017

Dekan: [REDACTED]

1. Berichterstatter: [REDACTED]

2. Berichterstatter: [REDACTED]

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Januar 2018

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis.....	VII
1. Einleitung.....	1
2. Untersuchungen zur physikalisch-chemischen Stabilität von ausgewählten Tumortheraeutika	11
2.1 Physikalisch-chemische Stabilität von Plerixafor	11
2.1.1 Mobilisierung von hämatopoetischen Stammzellen	11
2.1.2 Stability of Mozobil® (Plerixafor) Solution for Injection in Glass Vials and Syringes over a Three-Month Storage Period.....	15
2.2 Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib nach Rekonstitution und in applikationsfertigen Zubereitungen.....	24
2.2.1 Carfilzomib – ein selektiver Proteasom-Inhibitor	24
2.2.2 Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib nach Rekonstitution und in applikationsfertigen Zubereitungen.....	27
2.2.3 Physicochemical stability of Carfilzomib (Kyprolis®) containing solutions in glass vials, ready-to-administer plastic syringes and infusion bags over a 28-day storage period.....	34
2.3 Physikalisch-chemische Stabilität von Decitabin	47
2.3.1 Decitabin – ein DNA-Methyltransferase-Inhibitor	47
2.3.2 Physicochemical stability of reconstituted Decitabine (Dacogen®) solutions and ready-to-administer infusion bags when stored refrigerated or frozen.....	50
3. In-Line-Filtration von Zytostatikazubereitungen zur parenteralen Applikation	63
3.1 Partikelkontamination und Filtration von Infusionslösungen	63

3.2 Auswahl und Umgang mit In-Line-Filtern zur parenteralen Applikation von Tumortheraeutika.....	65
4. Zusammenfassung	74
5. Literaturverzeichnis	78
6. Anhang.....	82

Abkürzungsverzeichnis

ACDA	Anticoagulant Citrate Dextrose Solution, Solution A, nach US Pharmacopeia (USP)
ADKA	Bundesverband Deutscher Krankenhausapotheker
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
BAK	Bundesapothekerkammer
BGW	Berufsgenossenschaft für Gesundheitsschutz und Wohlfahrtspflege
BMJV	Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz
bzw.	beziehungsweise
CCC	Cellex Collection Center
CD34 ⁺	Blutstammzellen mit immunphänotypischer Oberflächenmerkmale CD34 ⁺
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CML	Chronische myeloische Leukämie
CMR	krebserzeugend (kanzerogen), erbgutverändernd (mutagen), fortpflanzungstoxisch (reproduktionstoxisch) (engl. carcinogenic, mutagenic and toxic to reproduction)
CXCL12	CXC-Motiv-Chemokin 12
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
DAV	Deutscher Apothekerverband
DAZ	Deutsche Apothekerzeitung
DC Beads	Drug-Eluting Beads
DEHP	Diethylhexylphthalat
DGHO	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie
DGUV	Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung
DLBCL	Diffuses Großzelliges B-Zell-Lymphom

DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. deoxyribonucleic acid)
EMA	European Medicines Agency
engl.	englisch
EPAR	European public assessment report
EP-BmAk	Bewertung monoklonaler Antikörper zum Schutz Beschäftigter
etc.	et cetera
FDA	U. S. Food and Drug Administration
G5	5%ige Glucose
G-BA	Gemeinsamer Bundesausschuss
GCS-F	Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
GefStoffV	Gefahrstoff-Verordnung
GKV	Gesetzliche Krankenversicherung
HPLC	Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie (engl. High-performance liquid chromatography)
IMWG	International Myeloma Working Group
IQWiG	Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen
i.v.	intravenös
KG	Körpergewicht
KOF	Körperoberfläche
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MGUS	Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz
MM	Multiples Myelom
NaCl 0,9%	Natriumchlorid 0,9% (Kochsalz 0,9%)
NCI	National Cancer Institute
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
PDA	Photodiodenarray

PE	Polyethylen (engl. polyethylene)
Ph. Eur.	Pharmacopoea Europaea (Europäisches Arzneibuch)
PO	Polyolefin (engl. polyolefine)
PP	Polypropylen (engl. polypropylene)
PVC	Polyvinylchlorid
RP-HPLC	Umkehr-Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie (engl. Reversed phase-High-performance liquid chromatography)
RT	Raumtemperatur (engl. room temperature)
s. a.	siehe auch
SDF-1 α	Stromal cell-derived factor-1 α
SGB	Sozialgesetzbuch
SMM	Smouldering Multiple Myeloma
SZT	Stammzelltransplantation
TRGS	Technische Regeln für Gefahrstoffe
u. a.	unter anderem
v. a.	vor allem
VBG	Verwaltungs-Berufsgenossenschaft
WHO	Weltgesundheitsorganisation (engl. World Health Organization)
z. B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Die Abbildungen der eingereichten oder publizierten Veröffentlichungen sind an dieser Stelle nicht aufgelistet.

Abbildung 1.1:	Bildliche Darstellung von verschiedenen Zellzyklus-Phasen	4
Abbildung 1.2:	Leitlinie der Bundesapothekerkammer zur Qualitätssicherung "Aseptische Herstellung und Prüfung applikationsfertiger Parenteralia mit CMR-Eigenschaften der Kategorie 1A oder 1B"	5
Abbildung 2.1:	Bildliche Darstellung einer peripheren Stammzellentnahme mittels Apherese	11

Tabellenverzeichnis

Die Tabellen der eingereichten oder publizierten Veröffentlichungen sind an dieser Stelle nicht aufgelistet.

1. Einleitung

Tumorerkrankungen

Ein Tumor ist eine gut- oder bösartige Gewebewucherung, die ein irreversibles, zelluläres (klonales) Phänomen darstellt. Neben zahlreichen gutartigen (benignen) Tumoren wie Adenomen gibt es verschiedene bösartige (maligne) Tumorerkrankungen, die sich grob in Karzinome und Sarkome unterteilen lassen. Karzinome gehen von Oberflächen- gewebe (Epithelien), beispielsweise Haut, Schleimhaut oder von Drüsengewebe aus. Entstehen die malignen Tumoren im Binde-, Stütz-, Fett-, Knorpel- und Knochengewebe (mesenchymal), spricht man von Sarkomen (1).

Im Gegensatz zu den benignen Tumoren, die durch ihr Wachstum gesundes Gewebe verdrängen können, können die malignen Tumoren das umliegende Gewebe durch Einwachsen zerstören. Bei den malignen Tumoren können Metastasen entstehen, wenn sich Tumorzellen vom Primarius ablösen und über Lymph- und Blutgefäßen in benachbarte Lymphknoten und später in andere Organe wie Leber, Lunge, Gehirn und anderen Knochen „abwandern“. Mit histologischen Untersuchungen kann diagnostiziert werden, von welchem Organ und Zelltyp die Metastasen ausgegangen sind (1).

Äußere Einflüsse wie z. B. ungesunde Ernährung, Virusinfektionen, Umweltfaktoren und Schadstoffe stellen Risikofaktoren für Tumorentstehungen dar. Zudem ist erwiesen, dass die Häufigkeit von Tumorerkrankungen mit steigendem Lebensalter deutlich zunimmt. Die durchschnittliche Lebenserwartung in Deutschland steigt, was auch einen Anstieg der Krebsneuerkrankungen zur Folge hat. In einer von der DGHO veröffentlichten Studie (2) wurde dargestellt, dass der Anteil der älteren Menschen im Zeitraum zwischen 2008 und 2020 stark zunimmt, obwohl die Gesamtbevölkerung in Deutschland um etwa 1,8 Millionen Einwohner (2,2%) abnehmen wird. Folglich wird die Anzahl der Krebsneuerkrankungen in 2020 um etwa 67.000 Fälle zunehmen (2).

Pro Jahr erkranken ca. 500.000 Erwachsene in Deutschland an Krebs. 39.280 Fälle davon waren im Jahr 2013 Blutkrebs, also vom Blut oder von blutbildenden Organen (hämatologischer Ursprung) ausgehend (3). Diese Art der Tumorkrankheit ist die fünfthäufigste krebsbedingte Todesursache. Die drei häufigsten Typen sind das Lymphom, Leukämie und das Myelom.

Das Lymphom ist weltweit mit jährlich über 400.000 Diagnosen die häufigste Art des Blutkrebs (4). Sein Ursprung liegt in bestimmten Zellen des Immunsystems wie B- und T-

Lymphozyten. Über die Ursachen ist wenig bekannt. Neben den Hodgkin-Lymphomen gibt es Non-Hodgkin-Lymphome (NHL), die in langsam wachsende (indolente) Formen wie z. B. das Follikuläre Lymphom und schnell wachsende (aggressive) Formen wie z. B. das diffuse großzellige B-Zell-Lymphom (DLBCL) unterteilt werden können (5). Erste Symptome sind Lymphknotenschwellungen, häufig in der Halsregion, Fieber, Nachtschweiß sowie erhöhte Infektanfälligkeit.

Die zweithäufigste Form der Hämoblastosen stellen die Leukämien dar. Jährlich wird bei 300.000 Menschen weltweit eine Leukämie neu diagnostiziert (4). Je nach Art der entarteten Leukozyten (Leukämie = weißes Blut) unterscheidet man verschiedene Leukämiearten. Aus bisher wenig bekannten Gründen entarten die blutbildenden Stammzellen des Knochenmarks und gebildeten Leukozyten (Lymphozyten, Granulozyten) reifen nicht vollständig aus. Sie vermehren sich unkontrolliert und verdrängen die noch gesunden Leukozyten. Die vier Haupttypen der Leukämie sind die Akute lymphatische Leukämie (ALL), die Chronische lymphatische Leukämie (CLL), die Akute myeloische Leukämie (AML) und die Chronische myeloische Leukämie (CML). Die Anzeichen und Symptome unterscheiden sich je nach Art der Leukämie (6).

Ein Myelom wird jährlich bei über 100.000 Menschen diagnostiziert. Es handelt sich hierbei um eine Krebserkrankung der Plasmazellen. Der Name „Multiples Myelom (MM)“ basiert auf den im ganzen Körper universell vorkommenden Plasmazellen (7). Durch deren Entartung kommt es an einzelnen Stellen im Knochenmark zu einer herdförmigen Vermehrung der Plasmazellen, verbunden mit Knochenbrüchen und Veränderungen der Blutbildung. Im Unterschied zu Lymphomen und Leukämien, ist das Myelom durch einen schubförmig remittierenden Krankheitsverlauf charakterisiert. In den symptomatischen Phasen (Schübe) braucht der Patient aktive Behandlung. In der Remissionsphase zeigt der Patient keine Symptome und ist nicht behandlungsbedürftig (7).

Tumorthherapie

Paul Ehrlich (1854-1915), Nobelpreisträger des Jahres 1908, gilt als der Begründer der Immunologie und der modernen Chemotherapie. Neben zahlreichen Organoarsen- und Organoarsenostibino-Verbindungen entwickelte und patentierte er auch acridinbasierte Tumortheraeutika (8). Er erfand den Begriff Chemotherapie. Allerdings verstand er darunter keineswegs Medikamente gegen Krebs, sondern Wirkstoffe zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten. Seine Methode, Naturstoffe auf ihre Effekte zu prüfen und halbsynthetisch weiterzuentwickeln, wurde bereits zu Beginn des 20. Jahrhunderts auch für

die Entwicklung von Tumorthérapeutika übernommen. Analog zu den Antiinfektiva sollten zytotoxische Arzneistoffe entwickelt werden, die gesunde Zellen möglichst nicht beeinflussen, aber auf Krebszellen wachstumshemmend wirken (9).

Zytostatika, die die Zellteilung hemmen und somit gegen Krebs wirken, lassen sich entsprechend der Wirkmechanismen oder chemischen Struktur in Wirkstoffgruppen, wie z.B. Alkylanzien, Antimetabolite und Anthrazykline einteilen. Die meisten Zytostatika wirken phasenspezifisch in jeweils unterschiedlichen Phasen des Zellzyklus (s. Abbildung 1.1). Zur Behandlung solider Tumoren kann die Zytostatikatherapie nach einer Operation oder Bestrahlung als adjuvante Chemotherapie oder davor als neoadjuvante Chemotherapie erfolgen (1).

Probleme der Zytostatikatherapie sind einerseits die unerwünschten Wirkungen, die früh (teils sofort) oder spät (auch nach Jahren) auftreten können. Da die zellschädigende Wirkung nicht auf die Krebszellen beschränkt ist, sondern auch alle anderen sich natürlicherweise schnell teilende Zellen, beispielsweise Schleimhaut-, Haarwurzel- oder Knochenmark-Zellen betrifft, können verschiedene Komplikationen wie z.B. Leukopenie, Anämie, Haarausfall und Durchfall ausgelöst werden (1). Andererseits stellen die Resistenzentwicklungen des Tumors ein großes Problem dar. Die Überexpression von P-Glykoproteinen in Tumorzellen ist eine wichtige Ursache für das verminderte Ansprechen auf Zytostatika (Multidrug Resistance). Darüber hinaus können Tumorzellen durch verschiedene Mechanismen wie z. B. erhöhte DNA-Reparaturaktivität unter Carmustin-Therapie, Resistenzen gegen die Zytostatika entwickeln.

Neben in der Regel als Zytostatika bezeichneten ‚small molecules‘, stehen heutzutage auch andere medikamentöse Krebstherapien zur Verfügung. Dazu gehören z. B. Hormontherapien, zielgerichtete Therapieansätze (targeted therapies) und Immuntherapien (1).

Eine besondere Behandlungsform der Hämoblastosen (z.B. Leukämien) ist die so genannte „Hochdosis-Chemotherapie“ mit anschließender Stammzelltransplantation (SZT). Hierbei wird das mit Tumorzellen befallene Knochenmark des Patienten mit einer besonders intensiven Chemotherapie zerstört. Anschließend erhält der Patient gesunde blutbildende Stammzellen eines Spenders (allogene SZT) oder eigene, von den kranken Zellen gereinigte Stammzellen (autologe SZT), damit diese sich im Knochenmark ansiedeln und vermehren (1).

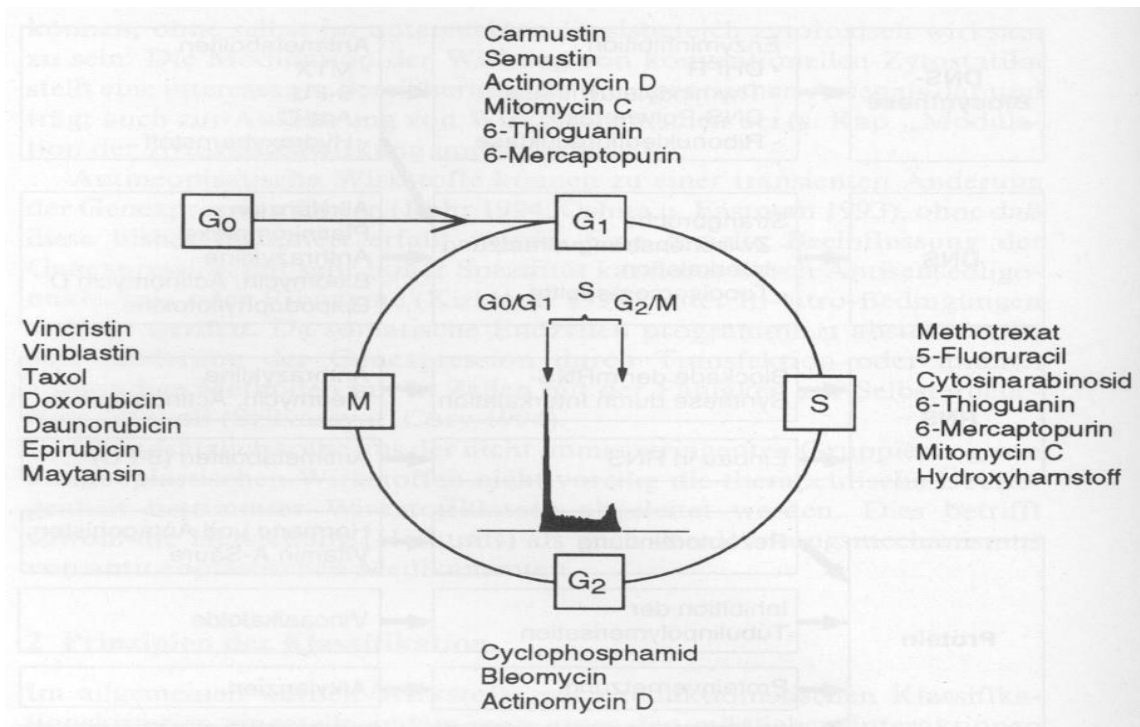


Abbildung 1.1: Bildliche Darstellung von verschiedenen Zellzyklus-Phasen. Zu jeder Phase sind Zytostatika aufgelistet, die phasenspezifisch wirken (10).

Herstellung von Tumorthapeutika

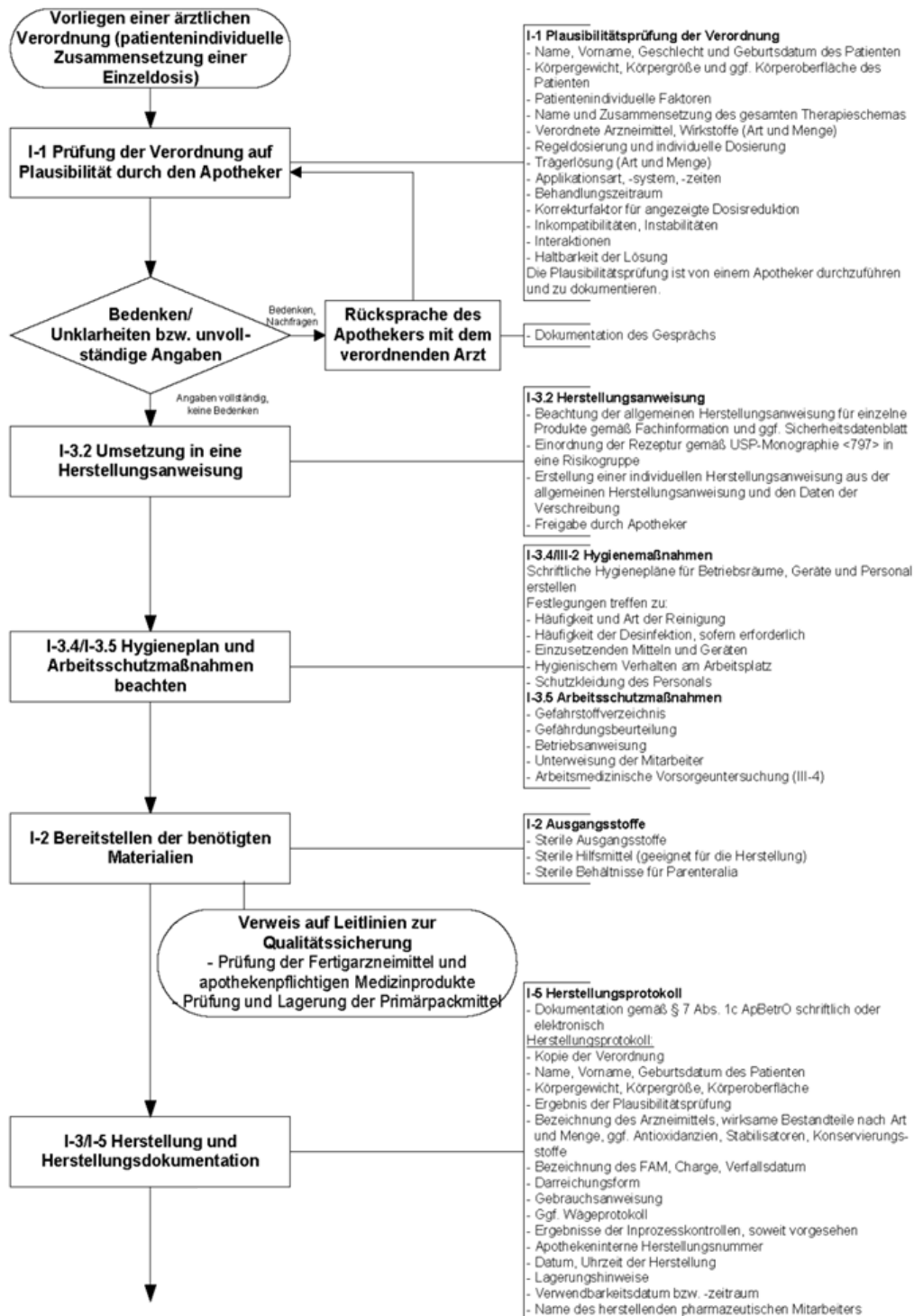
Die meisten Zytostatika gehören zu den genotoxischen „CMR“-Gefahrstoffen, die im Umgang ergänzende Schutzmaßnahmen nach Schutzstufe 4 (§11 GefStoffV) erfordern (11). Im Umgang mit CMR-Arzneimitteln in Einrichtungen der medizinischen Versorgung sind die konkretisierten Vorgaben in der TRGS 525 (12) bzw. im BGW-Themenheft „Zytostatika im Gesundheitsdienst – Informationen zur sicheren Handhabung von Zytostatika“ (13) zu beachten. Als weitere hilfreiche Richt- und Leitlinien sind z. B. die Unfallverhütungsvorschriften (u. a. VBG 113 „Umgang mit krebserzeugenden Stoffen“), die Bewertung monoklonaler Antikörper zum Schutz Beschäftigter (EP-BmAk) der BGW und das Bundesarbeitsblatt (7–8/98, 69–70) zu nennen (14).

Heutzutage ist die zentrale Zubereitung von Zytostatika der dezentralen Zubereitung zu bevorzugen. Nach der novellierten Gefahrstoffverordnung (gemäß §11 Chemikaliengesetz) müssen alle eingesetzten Gefahrstoffe ohne Differenzierung nach Zweckbestimmung in einem Gefahrstoffverzeichnis aufgeführt werden (15). In der Folge ist eine Gefährdungsbeurteilung für den Umgang durch eine sachkundige Person (z. B. Apothekenleiter) durchzuführen. Zudem müssen nach §14 der GefStoffV Umgangsvorschriften (Betriebsanweisungen) erstellt, Mitarbeiter unterwiesen und die Unterweisungen dokumen-

tiert werden (11).

Für die Herstellung von Zytostatika-Zubereitungen gibt es neben der ADKA-Leitlinie auch eine Leitlinie der Bundesapothekerkammer (BAK-Leitlinie). Die Leitlinie „Aseptische Herstellung und Prüfung applikationsfertiger Parenteralia mit CMR-Eigenschaften der Kategorie 1A oder 1B“ der Bundesapothekerkammer (BAK) ist in Abbildung 1.2 dargestellt (16).

IV Aseptische Herstellung und Prüfung applikationsfertiger Parenteralia mit CMR-Eigenschaften der Kategorie 1A oder 1B



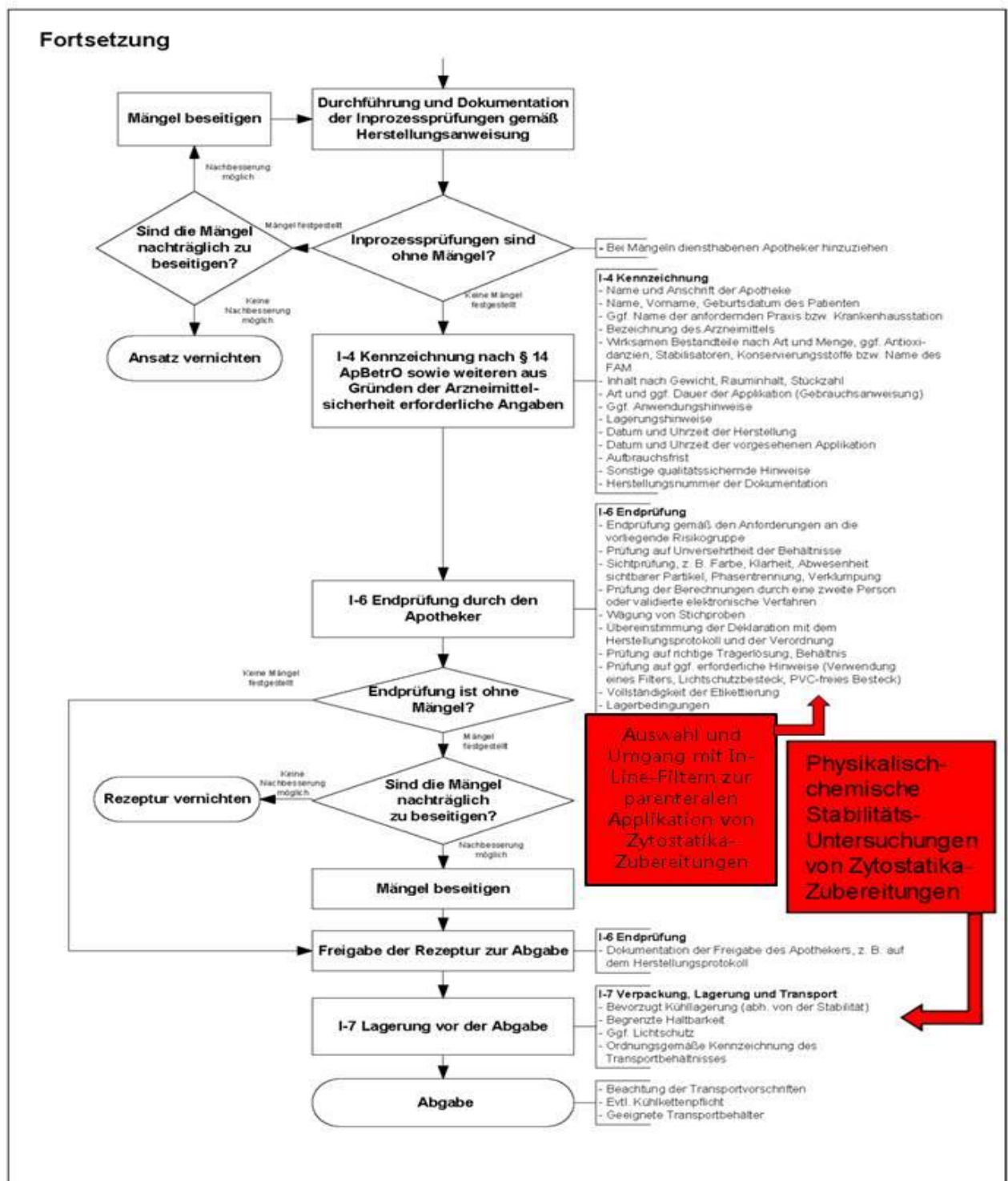


Abbildung 1.2: Leitlinie der Bundesapothekerkammer zur Qualitätssicherung "Aseptische Herstellung und Prüfung applikationsfertiger Parenteralia mit CMR-Eigenschaften der Kategorie 1A oder 1B". Die rot unterlegten Bausteine zeigen, für welche Tätigkeiten in der Zytostatika-Herstellung die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit von Bedeutung sind (16).

Haltbarkeit von Zytostatika-Lösungen

In der zentralen Zytostatikazubereitung kommt dem Festlegen von Haltbarkeiten eine große Bedeutung zu. Die Verantwortung hierfür liegt bei dem für die Herstellung verantwortlichen Apotheker. Dies ist nicht immer einfach, da eine Diskrepanz zwischen den Angaben des Herstellers, der Hilfstaxe und einer Vielzahl von Publikationen besteht (17). Die Angaben der Hilfstaxe sind das Ergebnis der Verhandlungen zwischen GKV-Spitzenverband und Deutschem Apotheker Verband (DAV). Sie stellen in der Regel eine sicherheitsorientierte Pauschalierung (24 Stunden) dar und basieren auf den Fachinformationen. Alleine die Angaben der Fachinformation sind rechtlich relevant. Nur für die darin enthaltenen Angaben übernehmen die Hersteller die Haftung.

Der Hersteller, der das Arzneimittel mit allen seinen Eigenschaften, u. a. dessen Abbau- produkte, am besten kennt, ist rechtlich nicht verpflichtet, adäquate Haltbarkeiten von Stamm- und Infusionslösungen anzugeben. Neben den Kosten für die zusätzlichen Untersuchungen sind weniger Verwürfe für die Herstellerfirma gleichbedeutend mit weniger Umsatz. Die in den Fachinformationen angegebenen Haltbarkeiten sind daher oft deutlich kürzer als die Angaben in der Sekundärliteratur. Sobald ein Wirkstoff den Patentschutz verliert, kann es aus Marketinggründen von Vorteil sein, längere Haltbarkeiten für die Stamm- und Infusionslösungen zu untersuchen und anzugeben. Generika- oder Biosimilarhersteller geben oft deutlich längere Haltbarkeitszeiträume an als die Hersteller der Originatorprodukte.

Aus der Sicht der Krankenkasse ist es verständlich, dass möglichst lange Haltbarkeiten bei der Zubereitung der Zytostatika-Lösungen zugrunde gelegt werden sollen. Die Krankenkassen müssen teilweise auch den Verwurf bezahlen und haben daher aus wirtschaftlichen Gründen ein großes Interesse, diesen Verwurf möglichst gering zu halten. Die Krankenkasse darf aber keinesfalls die Gesundheit ihrer Versicherten gefährden. Deshalb wird auch keine Krankenkasse schriftlich längere Haltbarkeiten festsetzen, da sie dafür die Haftung übernehmen müsste.

Soll die Haltbarkeit über die Herstellerangaben in der Fachinformation hinaus verlängert werden, muss die zubereitende Apotheke zunächst die physikalisch-chemische und mikrobiologische Stabilität prüfen. Die in den Fachinformationen angegebenen Aufbrauchfristen von maximal 24 Stunden nach Anbruch bzw. der Zubereitung werden meistens unter mikrobiologischen Aspekten festgelegt. Erfolgt die Zubereitung unter validierten und kontrollierten aseptischen Bedingungen in der zentralen Zytostatikazubereitung, kann die Aufbrauchfrist basierend auf der physikalisch-chemischen Stabilität der Zytosta-

tika-Lösung festgesetzt werden (18).

Die Apotheke der Universitätsmedizin Mainz untersucht seit langem verschiedene Arzneistoff-Zubereitungen auf physikalisch-chemische Stabilität (s. a. Stabil-Liste®). Die Untersuchung der physikalisch-chemischen Stabilität kann mit Hilfe von verschiedenen validierten Methoden wie z. B. HPLC-Untersuchungen durchgeführt werden. Die Untersuchungsergebnisse werden kritisch beurteilt und publiziert. Basierend auf diesen experimentellen Daten werden die Haltbarkeiten der geöffneten, rekonstituierten und applikationsfertigen Zytostatika-zubereitungen in der zubereiten Apotheke festgelegt. Je ähnlicher die stabilitätsdeterminierenden Faktoren (z.B. Art der Trägerlösung, Konzentration, Primärpackmittel, Temperatur) in der experimentellen Untersuchung und der in Frage stehenden Zytostatikazubereitung sind, umso eher können die Ergebnisse der physikalisch-chemischen Stabilität übertragen werden.

Applikation von Tumorthapeutika

Wie und mit welchen Arzneimitteln eine Chemotherapie durchgeführt wird, hängt von verschiedenen Faktoren ab und muss für jeden Patienten individuell festgelegt werden (1). Die häufigste Form ist die intravenöse Applikation als Infusionslösung. Hierzu ist das Einlegen von Port-Kathetern sinnvoll, um mögliche Paravasation von Zytostatika-Lösungen in das umliegende Gewebe zu vermeiden. Diese Port-Systeme können alternativ auch in Arterien (intraarteriell) oder im Bereich des Rückenmarks (epidural) eingelegt werden. In bestimmten fortgeschrittenen Stadien des Lebertumors können die Arzneistoffe auf der Oberfläche der DC Beads beladen direkt zum Tumorherd in der Leber gebracht werden. Eine weitere besondere Form der Applikation stellt die intrathekale Gabe von Zytostatika dar. Diese Applikationsroute wird gewählt, wenn die Arzneistoffe die Blut-Hirn-Schranke umgehen sollen und zentral, beispielsweise bei einem ZNS-Befall, wirken sollen.

Bei einigen Tumorthapeutika wird in den Fach- und Gebrauchsinformationen die Verwendung eines In-Line-Filters während der Applikation vorgeschrieben. Die In-Line-Filter werden bei der Applikation zwischen Infusionsbehälter und Infusionssystem oder patientennah am Zugang angebracht. Dabei sollten beispielsweise Partikel, die sich in der Zubereitung befinden können, zurückgehalten werden. Auch die Angaben zur Auswahl des geeigneten Filters sind den Fach- und Gebrauchsinformationen nicht immer eindeutig. Die Anforderungen an die Materialeigenschaften der Filtersysteme für das jeweilige

Arzneimittel und die Eigenschaften der auf dem Markt verfügbaren Filtersets sollten vor Therapiebeginn miteinander abgeglichen werden. Zur Verbesserung der Arzneimitteltherapiesicherheit kann das geeignete Filterset in der zentralen Zytostatikazubereitung der applikationsfertigen Zubereitung beigelegt werden.

2. Untersuchungen zur physikalisch-chemischen Stabilität von ausgewählten Tumorthérapeutika

2.1 Physikalisch-chemische Stabilität von Plerixafor

2.1.1 Mobilisierung von hämatopoetischen Stammzellen

Stammzellapherese

Trotz der Einführung neuer Wirkstoffe für die Behandlung von Hämoblastosen, ist die SZT v. a. bei Patienten mit hohem Rezidivrisiko oder wenn mit herkömmlicher Therapie keine komplette Remission erreicht wird, eine wichtige Therapieoption. Ziel ist es, die Dauer der Chemotherapie-induzierten Aplasie zu verkürzen sowie die behandlungsbedingte Morbidität und Mortalität zu reduzieren. So waren unter den insgesamt 16.000 im Jahr 2008 in Europa durchgeführten autologen SZT ca. 13.400 Patienten mit lymphoproliferativen Erkrankungen, 1.400 Patienten waren an soliden Tumoren erkrankt und knapp 1.000 litten an einer Leukämie (19).

Stammzellmobilisierung ist ein multifaktorieller Prozess an dem Adhäsionsmoleküle, parakrine Zytokine, extrazelluläre Matrix des Knochenmarks und chemotaktische Faktoren beteiligt sind. Hämatopoetische Stammzellen können derzeit aus dem Knochenmark durch multiple Punktion, aus dem peripheren Blut nach Mobilisation mit einer geeigneten Vorbehandlung durch Leukapherese oder aus dem Plazentarestblut durch Punktion der Nabelschnur nach abgeschlossenem Geburtsvorgang gewonnen werden (20). Die Mobilisierung peripherer Stammzellen und Sammlung mittels Apherese vermeidet invasive Schritte unter Vollnarkose und stellt die gängigste Methode zur Entnahme dar (siehe Abbildung 2.1).

Zu bedenken ist, dass bei der Apherese zur autologen SZT auch Krebszellen aus dem Knochenmark freigesetzt und zusammen mit den Stammzellen gesammelt werden können. Die möglichen Auswirkungen einer Infusion von diesen Krebszellen während der Transplantation sind noch nicht abschließend untersucht worden (1).

Eine sogenannte „Chemomobilisierung“ nutzt die erhöhte Anzahl der Stammzellen im Blut während des Erholungszeitraums nach der Chemotherapie aus. Die eingesetzte Mobilisierungstherapie wird patientenindividuell an das jeweilige Krankheitsbild und weitere Faktoren wie das Alter angepasst. Nachteile einer Chemomobilisierung sind die

größere Toxizität, höhere Hospitalisierungsraten sowie die mögliche Schädigung des Knochenmarks (1).

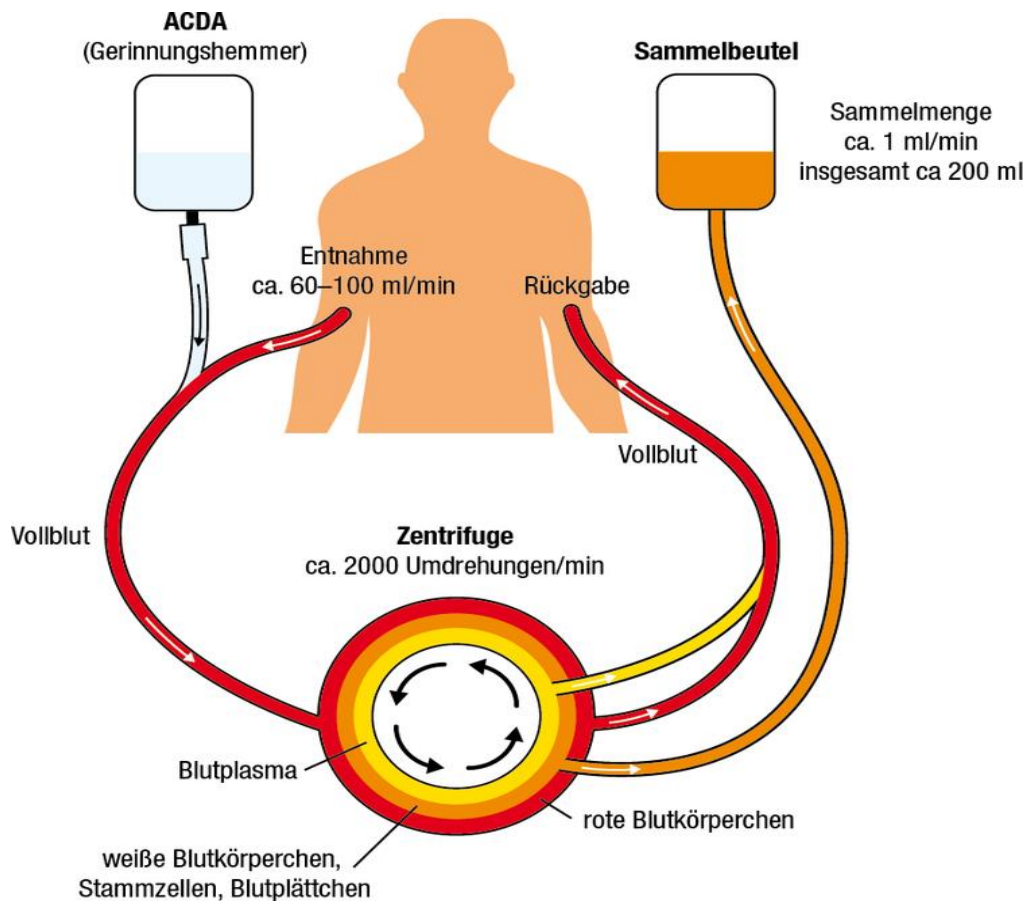


Abbildung 2.1: Bildliche Darstellung einer peripheren Stammzellentnahme mittels Apherese (21).

Wirkung von Granulozyten-Kolonie-stimulierendem Faktor

Die Wirkung des Granulozyten-Kolonie-stimulierendem Faktors (GCS-F) bei der Blutstammzelltransplantation wurde bereits im Jahr 1988 gezeigt (22). Ergebnissen mehrerer prospektiv randomisierter Studien zufolge soll der glykosylierte GCS-F Lenograstim die Stammzellen effektiver mobilisieren als nicht-glykosylierter GCS-F Filgrastim (23, 24).

Bei der SZT gelten zwei Millionen $CD34^+$ -Zellen pro kg KG des Empfängers als Minimum für eine erfolgreiche Transplantation. Wünschenswert ist jedoch eine Zielzellzahl von fünf Millionen Stammzellen pro kg KG. Trotz der Behandlung mit GCS-F wird bei 5 bis 30% der gesunden Spender bzw. Patienten ein Mobilisierungsversagen beobachtet (Poor-Mobilizer). Verschiedene Risikofaktoren wie z. B. hohes Alter, vorherige extensive Radiotherapie oder vorherige Chemotherapie können Gründe für die unzureichenden Zellzah-

len (Leukozyten $<10.000/\mu\text{L}$ und $\text{CD}34^+$ -Zellen $<20/\mu\text{L}$) sein (25).

Wirkung von Plerixafor

Durch den neuen Wirkstoff Plerixafor ist es möglich geworden, die Apherese effizienter durchzuführen. Der selektive Antagonist des CXC-Motiv-Chemokinrezeptors 4 (CXCR4) bindet im Vergleich zur indirekten Wirkung von G-CSF spezifisch an den CXCR4 an der Oberfläche von Stammzellen und verhindert damit die Verbindung mit dem Protein SDF-1 α (auch bekannt als CXCL12), das an der Oberfläche der Knochenmarkzellen exprimiert ist. Durch die Rezeptorblockade werden mehr hämatopoetische Stammzellen aus dem Knochenmark in die Peripherie freigesetzt (26).

Unter dem Handelsnamen Mozobil[®] ist Plerixafor in Kombination mit G-CSF bei Patienten mit Lymphom und MM, die nicht ausreichend Stammzellen mobilisieren, zur Verbesserung der Mobilisierung hämatopoetischer Stammzellen in das periphere Blut zur Entnahme und anschließenden autologen Transplantation zugelassen (26). Daten von Liles et al. (27) zeigen, dass der Einsatz von Plerixafor zusätzlich zu einem fünftägigen G-CSF-Regime im Zeitfenster zwischen vier und 18 Stunden nach der Applikation zu einer signifikanten Erhöhung der peripheren $\text{CD}34^+$ -Zellzahl ($n=10$; $p < 0,05$) führte. Der Peak der $\text{CD}34^+$ -Zellen lag zwischen zehn und 14 Stunden nach der Plerixafor-Gabe (27). Bei den Zulassungsstudien von DiPersio et al. wurden NHL- (28) bzw. MM-Patienten (29) untersucht. Durch die Behandlung mit Plerixafor wurden die Zielzellzahlen rasch erreicht und es konnten mehr Patienten autolog transplantiert werden.

Die empfohlene Dosis von Plerixafor beträgt 0,24 mg/kg KG täglich. Es sollten nicht mehr als 40 mg Plerixafor pro Tag verabreicht werden. Die Gabe erfolgt durch subkutane Injektion sechs bis elf Stunden vor Einleitung der Apherese im Anschluss an eine viertägige Vorbehandlung mit G-CSF. In klinischen Studien wurde Plerixafor häufig an zwei bis vier (und bis zu sieben) aufeinander folgenden Tagen angewendet (26).

Die häufigsten Nebenwirkungen von Plerixafor sind mit einer Häufigkeit von über 10% Durchfall, Übelkeit, Erbrechen, Müdigkeit, Kopf- und Gelenkschmerzen sowie Reaktionen an der Injektionsstelle. Darüber hinaus sind Blutbildveränderungen mit einem Anstieg der Leukozytenzahl und einer Verringerung der Thrombozytenzahl möglich (26). Plerixafor darf nicht bei Leukämiepatienten eingesetzt werden, da der Wirkstoff auch die Freisetzung von leukämischen Zellen fördern kann (26). Diese Patienten werden zudem immer allogene transplantiert, um die Reinfusion von Leukämiezellen zu vermeiden.

Herstellung von applikationsfertigen Mozobil®-Zubereitungen

Vor der subkutanen Applikation wird das Wirkstoffkonzentrat Mozobil® unverdünnt mit einer Einmal-Plastik-Spritze und einer Kanüle aufgezoen. Bei der Zubereitung sollte aus Sicherheitsgründen bevorzugt eine Spritze mit einem Luer-Lock-Ansatz ausgewählt werden. In der zentralen Zytostatikazubereitung kann die applikationsfertige Mozobil®-Lösung auch unter aseptischen Bedingungen hergestellt werden.

Laut der Fachinformation von Mozobil® sollte das Produkt sofort nach dem ersten Anbruch verworfen werden (30). Informationen zur physikalisch-chemischen Stabilität der Injektionslösung nach Erstanbruch des im Glasvial und der applikationsfertigen Zubereitung werden vom Hersteller nicht gegeben, sodass der für die Herstellung verantwortliche Apotheker die Verantwortung für die Dauer und Bedingungen der Aufbewahrung trägt.

Gegenstand der nachfolgend in Form einer veröffentlichten Originalpublikation dargestellten Studie war die Bestimmung der physikalisch-chemischen Stabilität von Plerixafor-haltigen Stammlösungen in Originalglasvials und applikationsfertiger Zubereitungen in Einmal-Plastik-Spritzen über einen Zeitraum von drei Monaten. Die experimentellen Untersuchungen wurden mit dem Ziel durchgeführt, die Haltbarkeiten des Anbruchs und der applikationsfertigen Zubereitungen auf Basis der Untersuchungsergebnisse festzulegen. Durch die verlängerten Haltbarkeitsdaten können Verwürfe dieses teuren Medikaments vermieden werden.

2.1.2 Stability of Mozobil® (Plerixafor) Solution for Injection in Glass Vials and Syringes over a Three-Month Storage Period

Sun Hee Kim*, Judith Thiesen and Irene Krämer

Physicochemical Stability of Mozobil® (Plerixafor) Solution for Injection in Glass Vials and Plastic Syringes over a Three-Month Storage Period

DOI 10.1515/ptph-2016-0011

Received June 13, 2016; revised July 15, 2016; accepted July 18, 2016

Abstract

Background: The stability of ready-to-administer parenteral preparations is an important issue of drug safety. Profound knowledge about the physicochemical stability is necessary in order to determine the “beyond-use-dates” of solutions in injection vials after first opening and ready-to-administer preparations in syringes.

Object: The aim of this study was to determine the physicochemical stability of plerixafor solution marketed as Mozobil® solution for injection 20 mg/mL (1.2 mL). Therefore punctured vials and ready-to-administer syringes of Mozobil® solution for injection stored under refrigeration (2–8 °C) or at room temperature (25 °C) were analysed at predetermined intervals over a maximum storage period of three months.

Method: The stability of Mozobil® solution for injection was determined in the original glass vials stored under refrigeration (2–8 °C) and at room temperature (25 °C), both light protected. Plerixafor concentrations and pH values were determined on days 0, 14, 28, 56 and 84 after first puncture of the vial. Ready-to-administer syringes were aseptically prepared by withdrawing 0.2 mL injection concentrate via cannulas six times from the same Mozobil® vial into 1 mL 2-piece plastic syringes. Three syringes each were stored under refrigeration (2–8 °C) and at room temperature (25 °C), both light protected. Plerixafor concentrations and pH values were determined on days 0 and 84. Each sample was assayed three times by a validated stability-indicating reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) assay with photodiode array detection (PDA) to analyze the concentration and purity of plerixafor. Whenever samples are taken the vials and

syringes were visually checked for colour changes or particulate matter.

Results: No plerixafor degradation products were detected in the HPLC chromatograms over the period of 84 days, independent of the storage temperature. In vials and syringes plerixafor concentrations declined less than 5 % over the entire test period of 84 days. The pH values remained unchanged; the mean values varied between 6.79 and 6.60 for Mozobil® injection concentrate stored in vials and between 6.73 and 6.69 in the ready-to-administer syringes. No particulate matter and no colour changes were observed over the period of 84 days.

Conclusion: Plerixafor injection solution (Mozobil®) is stable in glass vials after first opening and in syringes for at least three months when stored light protected under refrigeration (2–8 °C) or at room temperature (25 °C). For microbiological reasons storage under refrigeration is recommended. The proven physicochemical stability of Mozobil® allows cost-saving pharmacy-based centralized preparation of ready-to-administer syringes.

Keywords: plerixafor, physicochemical stability, injection concentrate, ready-to-administer syringe, reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC)

Introduction

Mozobil® 20 mg/mL solution for injection containing plerixafor as active pharmaceutical ingredient is indicated in combination with granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) to mobilize hematopoietic stem cells (HSCs) to the peripheral blood for collection and subsequent autologous transplantation in patients with non-Hodgkin's lymphoma (NHL) and multiple myeloma (MM) [1]. Plerixafor (AMD3100) is a small bicyclic molecule (Figure 1) that antagonizes the binding of the chemokine stromal cell-derived factor-1 (SDF-1), also known as CXCL12, to its cognate receptor CXCR4 [2]. Thereby plerixafor induces the mobilization of hematopoietic stem cells, which are characterized as CD34+ cells, from the bone marrow to the bloodstream [3]. In a phase III prospective randomized double-blind placebo-controlled trial of plerixafor plus G-CSF for autologous

*Corresponding author: Sun Hee Kim, Department of Pharmacy, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg-University, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, Germany, E-mail: sunnyahza@naver.com

Judith Thiesen, Irene Krämer, Department of Pharmacy, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg-University, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, Germany

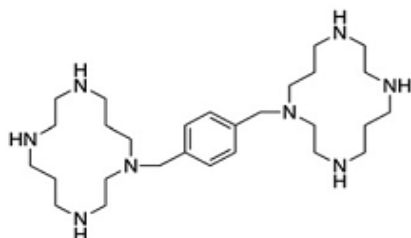


Figure 1: Chemical structure of plerixafor (AMD3100), 1,1'-[1,4-Phenylenebis(methylene)]bis[1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane].

stem-cell mobilization in patients with non-Hodgkin's lymphoma was shown that plerixafor acts synergistic with G-CSF [4]. In another phase II clinical trial plerixafor in combination with G-CSF resulted in a significantly higher proportion of MM patients achieving the optimum CD34⁺ target range for transplantation in fewer apheresis days, compared with G-CSF alone [5]. Plerixafor is only used in patients expected to mobilize stem cells poorly, i. e. age over 60 and/or prior myelosuppressive chemotherapy and/or extensive prior chemotherapy and/or a peak circulating stem cell count of <20 HSCs/ μ L [4]. Because the number of patients that need mobilization and collection of HSCs for transplantation is small, Mozobil® was classified as an orphan drug in October 2004 [6].

Each single-use vial of Mozobil® is filled to deliver 1.2 mL of 20 mg/mL plerixafor aqueous solution for injection containing 24 mg of plerixafor. The pH is adjusted in the range of 6.0–7.5 [1]. Plerixafor has eight basic amine functional groups, and is slightly soluble in water and saline, freely soluble in alcohols, glycol, and aqueous solutions of the pH <10. Type I clear glass 2 mL vials are used as primary containers and closed with grey chlorobutyl rubber stoppers.

According to the Mozobil® label the product does not require any special storage conditions [1]. After opening the vial, the solution should be used immediately [1]. The content of each Mozobil® vial is appropriate to treat a patient with 100 kg body weight (0.24 mg/kg/d used on 2–4 (and up to 7) consecutive days) [1]. For patients with a lower body weight, the remaining solution must be discarded, resulting in a significant waste of this expensive drug (5,800 € per 1 mL).

According to the EPAR [6] stability of plerixafor active substance is given under a wide range of conditions (temperature, humidity, pH, light) and degradation is only observed under severe stress conditions. The results from photostability studies also show that plerixafor is not photosensitive and does not require special protection against light exposure [6]. Mozobil® solution for injection is

terminally sterilized in an autoclave. The specification of the finished product includes sterility and freedom from bacterial endotoxins [6]. The commercial packaging is stable for at least three years when stored at 25°C/60% RH. No special precautions for storage are to be regarded [1]. In addition, the analysis and stability of repurposed plerixafor products over a period of six months at room temperature was published in abstract form [7].

Profound knowledge about the physicochemical stability is necessary in order to determine the in-use storage time of Mozobil® solution for injection in vials after first opening and the beyond-use-date of ready-to-administer Mozobil® containing preparations in 1 mL 2-piece plastic syringes. Decision-making is based on the physicochemical stability and concomitantly on the safe aseptic processing and is the responsibility of the pharmacist. Therefore, the purpose of this study is to determine the physicochemical stability of Mozobil® solution for injection in the original vials after first opening and in ready-to-administer syringes when stored under refrigeration (2–8 °C) or at room temperature (25 °C) both light protected over a period of 84 days. The storage conditions were chosen with an eye to clinical practice.

Chemical stability of plerixafor was planned to be determined with a stability-indicating reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) assay which was previously published by M. Mathrusri Annapurna et al. [8]. Physicochemical stability was planned to be determined by visual inspection of clarity and colour as well as pH measurement.

Materials and methods

Preparation of test solutions

All tests were performed using commercially available Mozobil® 20 mg/mL solution for injection, 1.2 mL (lot-no.: J3001H103/J3001H76, received from Sanofi-Aventis, DE, GmbH). In order to determine the stability of Mozobil® solution for injection in the original glass vials, three Mozobil® vials were stored under refrigeration (2–8 °C) and additional three vials were stored at room temperature (25 °C), both light protected. Plerixafor concentrations were determined on days 0, 14, 28, 56 and 84 after first puncture of the vial. At each predetermined interval 0.2 mL aliquots were withdrawn from each vial using cannulas (BD Microlance™3) and syringes. The vial stopper was covered by a plastic film, consisting of paraffin wax and polyolefine (Parafilm M®, Bemis Company, Neenah, Wisconsin, US).

The cover was removed prior to the next sampling and the stopper was disinfected with alcohol before the aliquot was withdrawn.

Six Mozobil® ready-to-administer preparations were aseptically prepared by withdrawing 0.2 mL solution for injection from the same Mozobil® vial in 1 mL 2-piece syringes (Injekt®-F Tuberculin, 0.01 mL–1 mL, Luer Solo, lot-no.: 15G13C8, B. Braun Melsungen AG, DE) via cannulas. The barrel of the used syringe model is made of polypropylene (PP) and the plunger of polyethylene (PE). The syringe is free from latex, polyvinyl chloride (PVC) and silicone oil [9]. Three test syringes were stored under refrigeration (2–8 °C) and additional three syringes were stored at room temperature (25 °C), both light protected. Plerixafor concentrations were determined on days 0 and 84.

Sample preparation

Aliquots of the test solutions were twofold diluted in order to fit the calibration curve of the HPLC assay. In the first dilution step 25 µL aliquots of the test solutions were diluted with 975 µL mobile phase. Then 400 µL of the diluted solution were mixed with 600 µL mobile phase to achieve a concentration of 0.2 mg/mL plerixafor.

Determination of the chemical stability of plerixafor solution for injection

HPLC assay

The HPLC system consisted of a Waters Alliance 2695 with Waters photodiode array detector 996 (Waters, Eschborn,

DE). The Waters Empower Pro, Empower Build 1154 Software, version 5.00.00.00 (Waters, Eschborn, DE) was used for data evaluation.

The separation was performed with a C18 column (Kromasil® 100, 250 mm × 4.6 mm, 5 µm particle size, lot-no.: 25131313, MZ-Analyse-technik GmbH, Mainz, DE), which was maintained at 25 °C. The mobile phase consisted of 88% water HPLC grade (lot-no.: 4J011502/5E012225, AppliChem GmbH, Darmstadt, DE) and 12% acetonitrile optigrade (lot-no.:1501861, LGC Standards GmbH, Wesel, DE). 1,000 mL of this solution were mixed with 1.18 mL trifluoroacetic acid (TFA) (lot-no.:S6406760/S6746460 031, Merck, Darmstadt, DE). The overall run time was 15 min, the flow rate 1.0 mL/min. 10 µL samples were injected by an autosampler in triplicate. The washing solution consisted of 95% water HPLC grade (lot-no.: 4J011502/5E012225, AppliChem GmbH, Darmstadt, DE) and 5% acetonitrile optigrade (details see above).

The absorption of plerixafor was measured at a wavelength of 215 nm. The identity of the plerixafor peak was confirmed by concentration dependent peak area and PDA-chromatogram.

Validation of the RP-HPLC assay

The method was validated following the ICH Q2 (R1) Guidelines [10] for stability studies. A typical HPLC chromatogram is shown in Figure 2.

Suitability

Suitability of the HPLC method was proven by analyzing forced degraded samples of Mozobil® plerixafor injection concentrate. The injection concentrate (20 mg/mL) was either acidified with 10 µL of hydrochloric acid

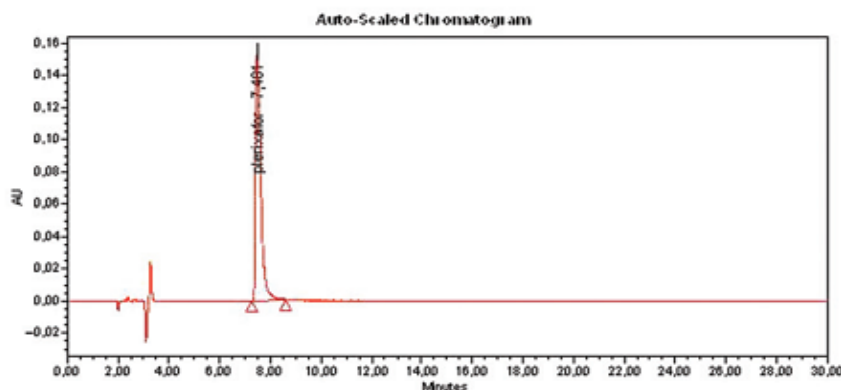


Figure 2: Representative HPLC-chromatogram of freshly prepared 0.2 mg/mL plerixafor solution (Mozobil®).

(Hydrochloric acid fuming 37% for analysis, lot-no.: K46428917510, Merck KGaA, Darmstadt, DE), alkalized with 10 µL of sodium hydroxide solution (42% (m/v), prepared with sodium hydroxide pellets, lot-no.: 0000537465, AppliChem GmbH, Darmstadt, DE), or heated to 100 °C for 10 min.

Solutions were diluted with the mobile phase and assayed without prior neutralization.

Linearity

In order to study the linearity of the assay, standards ($n = 7$) were prepared by diluting Mozobil® injection solution with mobile phase to achieve the following concentrations: 0.3 mg/mL, 0.24 mg/mL, 0.22 mg/mL, 0.2 mg/mL, 0.18 mg/mL, 0.16 mg/mL, 0.1 mg/mL.

Aliquots of the calibration standards were injected in triplicate. The line of best fit was constructed by analyzing plots of peak area versus plerixafor concentrations.

Accuracy

Accuracy was evaluated with two different concentration levels (100%: 0.2 mg/mL and 80%: 0.16 mg/mL) and 10-fold injection.

Intra-day precision

The intra-day precision of the assay method was evaluated by carrying out 10 independent assays of plerixafor solution at two concentration levels (0.2 mg/mL and 0.16 mg/mL).

Inter-day precision

For inter-day precision at each concentration level (0.2 mg/mL and 0.16 mg/mL) a single injection of plerixafor solution was assayed daily on five consecutive days.

Determination of the physicochemical stability of plerixafor solution for injection

pH values were measured in triplicate in the undiluted aliquots taken from the test solutions at the predetermined intervals using a pH 210 Microprocessor pH-meter (Hanna Instruments, Kehl am Rhein, DE) with an InLab Ultra-Micro pH-glasselectrode (Mettler Toledo Inlab

Ultra-micro pH, Gießen, DE). The instrument was calibrated with Hamilton DuraCal buffer pH 4.01 ± 0.01 and pH 7.01 ± 0.01 .

Whenever samples were taken the vials were visually checked for colour changes and particulate matter.

Results

Validation of the RP-HPLC assay

Suitability

Under alkaline condition the peak of the degradation product (retention time 2.5 min) did not interfere with the plerixafor parent peak (retention time 7.5 min), see Figure 3.

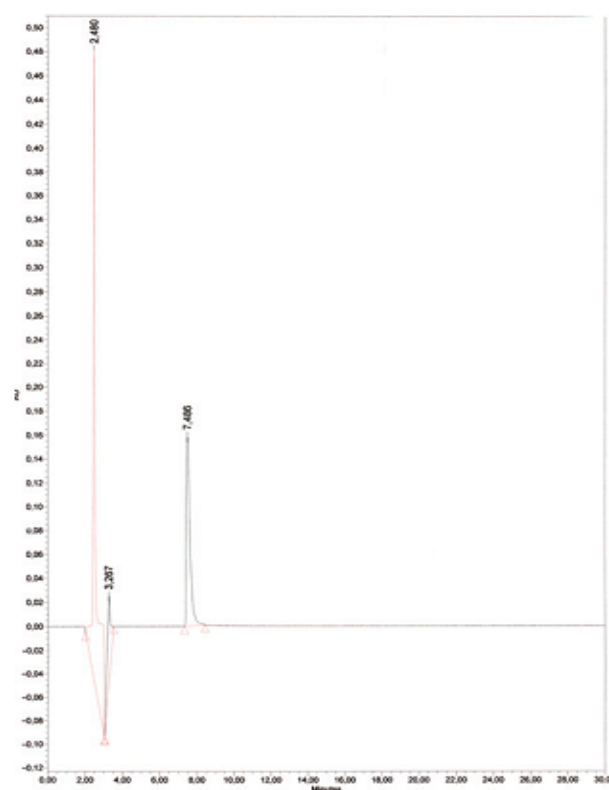


Figure 3: Representative HPLC-chromatogram of alkaline degraded plerixafor solution for injection (Mozobil®).

There were no changes induced by acidic degradation (Figure 4) and pure heating (Figure 5).

These results confirm the suitability of the HPLC method.

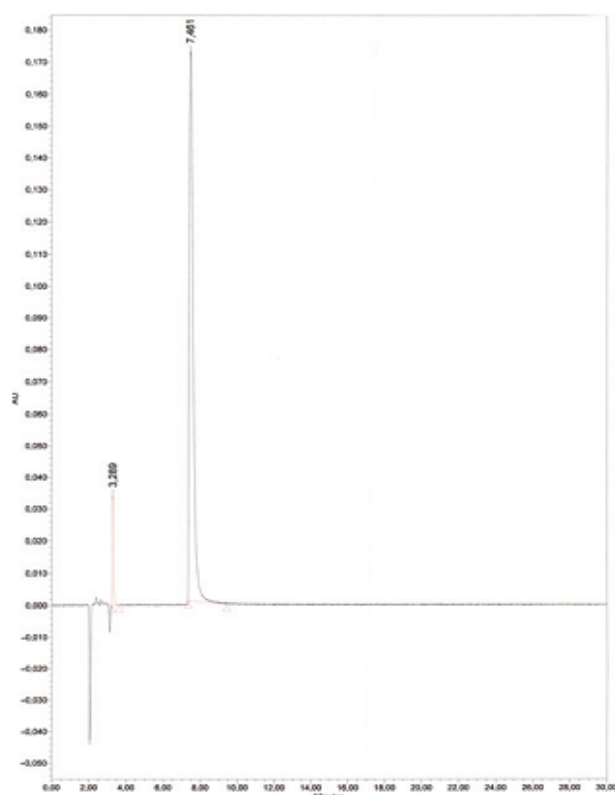


Figure 4: Representative HPLC-chromatogram of acid degraded plerixafor solution for injection (Mozobil®).

Linearity

The correlation coefficient of $R^2 = 0.9994$ proved linearity over the concentration range. The equation of calibration curve was $y = 1.14e + 007x - 1.02e + 005$.

Accuracy

The mean recovery was $103.4\% \pm 0.1\%$ ($n = 10$). The accuracy was $102.6\% \pm 0.1\%$ for 0.2 mg/mL and $104.1\% \pm 0.1\%$ for 0.16 mg/mL plerixafor solution.

Intra-day precision

The % RSD (Relative Standard Deviation) was 0.97% at the concentration 0.2 mg/mL and 0.74% at 0.16 mg/mL .

Inter-day precision

The % RSD was 1.23% at the concentration 0.2 mg/mL and 4.73% at 0.16 mg/mL .

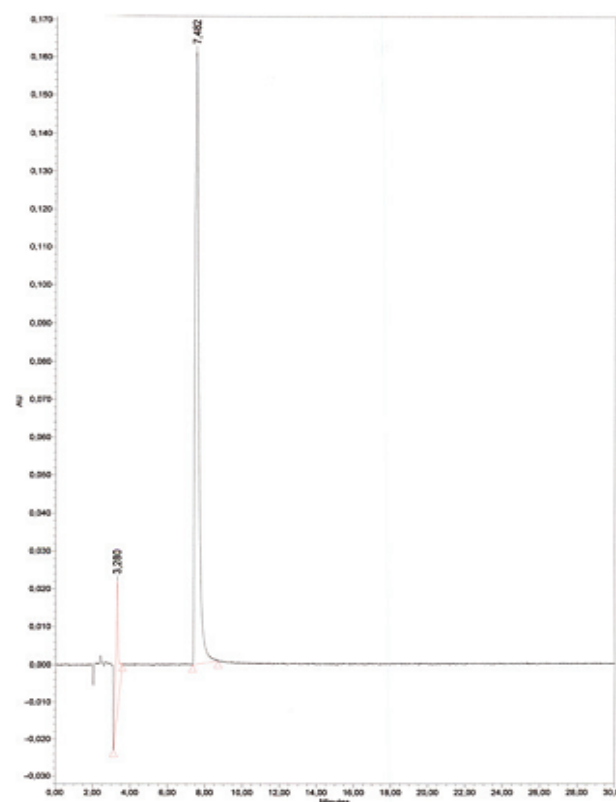


Figure 5: Representative HPLC-chromatogram of heat-degraded plerixafor solution for injection (Mozobil®).

Chemical stability of plerixafor solution for injection

In the present study two known HPLC-methods [7, 8] for evaluating the stability of Mozobil® solution for injection were modified and validated. The overall run time amounted to 15 min, the flowrate to 1.0 mL/min , the injection volume to $10 \mu\text{L}$. The mobile phase consisted of water, acetonitrile and trifluoroacetic acid (TFA). Samples were not filtered before measurement. Results of the degradation tests proved the suitability of the method. The validation parameters met the criteria of ICH Q2 (R1).

Neither in samples taken from the re-punctured Mozobil® glass vials nor taken from the aseptically prepared ready-to-administer syringes any plerixafor degradation products were detected in the HPLC chromatograms over the storage period of 84 days, independent of the temperature conditions. In addition no changes in the concentrations of plerixafor were registered. In vials and syringes plerixafor concentrations

Table 1: Stability of plerixafor solution for injection (Mozobil®) in re-punctured glass vials over a period of 84 days. Concentration expressed as mean $\pm$ relative standard deviation of triplicate assays of one test solution ($n=3$).

Storage temperature	Test solution	Drug concentration in sample [mg/mL]		% Initial concentration remaining $\pm$ relative SD			
		Nominal	Actual Day 0	Day 14	Day 28	Day 56	Day 84
2–8 °C	1	0.2	0.204 $\pm$ 0.4	102.9 $\pm$ 0.7	102.9 $\pm$ 0.2	97.7 $\pm$ 0.4	102.4 $\pm$ 0.8
	2	0.2	0.211 $\pm$ 0.2	97.9 $\pm$ 0.2	97.9 $\pm$ 0.1	95.6 $\pm$ 0.1	100.4 $\pm$ 0.1
	3	0.2	0.216 $\pm$ 0.2	98.3 $\pm$ 0.2	98.3 $\pm$ 0.1	95.9 $\pm$ 0.3	99.4 $\pm$ 0.1
25 °C	1	0.2	0.215 $\pm$ 0.1	99.0 $\pm$ 0.2	99.0 $\pm$ 0.1	95.8 $\pm$ 0.2	99.9 $\pm$ 0.1
	2	0.2	0.218 $\pm$ 0.4	97.8 $\pm$ 0.1	97.8 $\pm$ 0.1	93.6 $\pm$ 0.1	98.7 $\pm$ 0.1
	3	0.2	0.209 $\pm$ 0.6	102.1 $\pm$ 0.2	102.0 $\pm$ 0.6	98.7 $\pm$ 0.1	103.6 $\pm$ 0.1

Note: Drug concentrations in samples taken at time zero were designated as 100 %.

Table 2: Stability of plerixafor in ready-to-administer syringes over a period of 84 days. Concentration expressed as mean $\pm$ relative standard deviation of triplicate assays of one test solution ($n=3$).

Syringe no.	Drug concentration in sample [mg/mL]		% Initial concentration remaining $\pm$ relative SD after 84 days of storage	
	Nominal	Actual Day 0	Storage temperature	
			2–8 °C	25 °C
1	0.2	0.200 $\pm$ 0.3	100.5 $\pm$ 0.1	101.2 $\pm$ 0.1
2	0.2	0.203 $\pm$ 0.2	98.7 $\pm$ 0.1	99.8 $\pm$ 0.1
3	0.2	0.206 $\pm$ 0.1	98.9 $\pm$ 0.1	98.5 $\pm$ 0.0

varied only within the accuracy limits of the assay over the entire test period of 84 days (see Tables 1 and 2).

Physicochemical stability of plerixafor solution for injection

No particulate matter and no colour changes were observed over the period of 84 days. The mean pH value varied from pH 6.71 at day 0 to pH 6.62 after three months in Mozobil® glass vials ($n=18$) (Table 3).

Table 3: pH values of plerixafor injection solution in re-punctured vials stored under different storage conditions. pH values expressed as mean $\pm$ standard deviation of triplicate measurements of one test solution ($n=3$).

Storage temperature	Test solution	pH values				
		Day 0	Day 14	Day 28	Day 56	Day 84
2–8 °C	1	6.70 $\pm$ 0.02	6.71 $\pm$ 0.01	6.63 $\pm$ 0.01	6.77 $\pm$ 0.01	6.62 $\pm$ 0.01
	2	6.73 $\pm$ 0.01	6.72 $\pm$ 0.01	6.60 $\pm$ 0.00	6.79 $\pm$ 0.00	6.66 $\pm$ 0.01
	3	6.73 $\pm$ 0.03	6.72 $\pm$ 0.01	6.65 $\pm$ 0.01	6.77 $\pm$ 0.01	6.60 $\pm$ 0.02
25 °C	1	6.72 $\pm$ 0.02	6.74 $\pm$ 0.01	6.66 $\pm$ 0.01	6.78 $\pm$ 0.01	6.63 $\pm$ 0.01
	2	6.69 $\pm$ 0.02	6.70 $\pm$ 0.01	6.63 $\pm$ 0.01	6.73 $\pm$ 0.01	6.60 $\pm$ 0.01
	3	6.69 $\pm$ 0.02	6.71 $\pm$ 0.01	6.62 $\pm$ 0.02	6.65 $\pm$ 0.01	6.61 $\pm$ 0.01

The pH value remained unchanged in the ready-to-administer preparations in plastic syringes as primary containers (Table 4).

Discussion

HPLC method

The used HPLC assay was adopted from published data [7, 8] and revalidated in order to achieve valid results. In the resulting chromatograms the sharp peak of plerixafor (retention time of about 8 min) was clearly separated from the peak of the sodium and/or chloride ion derived peak (retention time about 3 min). For that reason an overall runtime of 15 min was chosen. During the forced degradation experiments, the plerixafor parent peak and peaks of rarely observed degradation products were clearly separated. Also in previous degradation studies only minimal degradation was observed under most of the stress conditions applied [6]. According to the EPAR, increased levels of degradation have only been observed under severe stress conditions. No degradation products

Table 4: pH values of plerixafor injection solution in ready-to-administer syringes stored under different storage conditions. pH values expressed as mean $\pm$ standard deviation of triplicate measurements of one test solution ($n = 3$).

Syringe no.	pH values			
	Day 0		Day 84	
	Storage temperature 2–8 °C	Storage temperature 25 °C	Storage temperature 2–8 °C	Storage temperature 25 °C
1	6.71 $\pm$ 0.01	6.72 $\pm$ 0.01	6.69 $\pm$ 0.01	6.73 $\pm$ 0.01
2	6.70 $\pm$ 0.01	6.70 $\pm$ 0.02	6.69 $\pm$ 0.01	6.71 $\pm$ 0.01
3	6.70 $\pm$ 0.02	6.70 $\pm$ 0.02	6.70 $\pm$ 0.01	6.69 $\pm$ 0.01

or significant trends were observed under the conditions specified in the SmPC [1].

Test solutions

Because of the body-weight adjusted dosage residual liquid will remain in the Mozobil® vials. When the withdrawal of the injection solution is performed under controlled conditions the residual liquid can be stored in the original glass vials and re-used. In order to simulate this scenario six Mozobil® vials were used for the stability tests. Re-puncturing of the vial stoppers was done more often than in daily practice thus representing an additional challenge. Storage of the test solutions at room temperature simulates worst conditions especially regarding microbiological stability.

The preparation of ready-to-administer syringes was simulated by withdrawal of 0.2 mL aliquots into six 1 mL 2-piece plastic syringes free from silicon oil. Thereby only one single Mozobil® vial had to be expended. A polyisoprene gasket is not necessary in 2-piece syringes and thereby the probability of leaching is reduced. The filling volume of the syringe is not expected to influence the degradation of plerixafor. On the contrary, the small filling volume (0.2 mL) represents a worse case condition because the disadvantageous ratio of volume and surface favours leaching. Plerixafor concentrations were determined only initially and at the end of the observation period because of the small available volumes.

Stability

No significant changes of plerixafor concentrations and pH values were found in the experimental tests of Mozobil® solution for injection in vials after first opening and ready-to-administer preparations in plastic syringes.

Both products revealed to be physicochemically stable over a three-month period. On day 56, there was an outlier which is most probably caused by an imprecise dilution step (Table 1). Marginal variations in plerixafor concentrations can be explained by the dilution steps during sample preparation and by the standard deviations of the HPLC method. Because of the known stability of plerixafor, degradation reactions are not to be expected in the Mozobil® injection solution of neutral pH and storage at room temperature. However, contact with alkaline solutions should be avoided. As plerixafor is not photosensitive, light protection during storage is not mandatory, but light protected storage was chosen with an eye to daily practice. A temperature dependent difference in plerixafor stability (refrigerated or room temperature) gets most probably only obvious after longer storage periods.

Disposable plastic syringes used as primary containers represent a source of leachables which can diffuse under certain solvent and storage conditions [11]. Compounds leached into the product can affect the stability of the product and potentially increase the toxicological risk for the patient [12, 13]. However, determination of leachables was not in the scope of our study. With regard to the aspect of leaching the results cannot be assigned to 3-piece syringes [9, 14].

The present study has proven long-term physicochemical stability (84 days observation period) of ready-to-administer Mozobil® syringes and Mozobil® vials after first opening. Besides the physicochemical stability, microbiological stability is a crucial factor in assigning extended expiration dates to aseptically prepared unpreserved aqueous injection products. Therefore, storage under growth-inhibiting temperature conditions, i.e. refrigeration is recommended. Moreover, only if handling takes place under strict aseptic conditions the prolonged use of these solutions can be recommended. Thereby material and therefore treatment expenses can be

reduced. With regard to the price of Mozobil® in the German market for normal weight patients (70 kg body weight) savings of € 2.400 per injection, i. e. € 4.800 to 9.600 per course can be achieved.

Conclusion

Plerixafor injection solution (Mozobil®) is stable in glass vials after first opening and in syringes for at least three months when stored light protected under refrigeration (2–8 °C) or at room temperature (25 °C). For microbiological reasons storage under refrigeration is recommended. The proven physicochemical stability of Mozobil® allows cost-saving pharmacy-based centralized preparation of ready-to-administer syringes.

Conflict of interest: The authors state no conflict of interest. All authors have read the journal's Publication ethics and publication malpractice statement available at the journal's website and hereby confirm that they comply with all its parts applicable to the present scientific work.

References

1. Annex EPAR Summary of Product Characteristics Mozobil 20 mg/ml solution for injection. 2014 Jul [cited 2016 Jan 4]; [about 26 p.]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/001030/WC500030686.pdf
2. Uy GL, Rettig MP, Cashen AF. Plerixafor, a CXCR4 antagonist for the mobilization of hematopoietic stem cells. *Expert Opin Biol Ther* 2008;8(11):1797–804.
3. Kalatskaya I, Berchiche YA, Gravel S, Limberg BJ, Rosenbaum JS, Heveker N. AMD3100 is a CXCR7 ligand with allosteric agonist properties. *Mol Pharmacol* 2009;75(5):1240–7.
4. DiPersio JF, Micallef IN, Stiff PJ, Bolwell BJ, Maziarz RT, Jacobsen E, et al. Phase III prospective randomized double-blind placebo-controlled trial of plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor compared with placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for autologous stem-cell mobilization and transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2009;27(28):4767–73.
5. Jagirdar N, Harvey RD, Nooka A, Flowers C, Kaufman J, Lonial S, et al. Plerixafor in combination with granulocyte-colony-stimulating factor after chemotherapy increases mobilization efficiency in patients with lymphoma or myeloma: results of a Phase II clinical trial. *Transfusion* 2015;55(10):2351–7.
6. European Medicines Agency. Mozobil® Summary of the European Public Assessment Report (EPAR). 2009 Aug, latest revision 2015 [cited 2016 Jan 4]; [about 2 p.]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/001030/WC500030687.pdf
7. Yuan P, Grimes JG, Potti JK. The analysis and stability of repurposed plerixafor products. *National Institutes of Health*. 2013 Nov [cited 2016 Feb 4]; [about 1 p.]. Available at: <http://abstracts.aaps.org/Verity/aaps2013/postersubmissions/12294.pdf>
8. Mathrusri Annapurna M, Sai Pavan Kumar B, Goutam SVS, Venkatesh B. Stability-indicating high performance liquid chromatographic and derivative spectrophotometric methods for plerixafor. *Drug Invention Today* 2012;4(9):465–9.
9. Product Specification. B. Braun Melsungen AG, Inc.; ©2015. Injekt®-F; [revised 2015 Jul 1; cited 2016 Jan 5]; [about 1 p.]. Available at: <http://www.bbraun.at/cps/rde/xchg/cw-bbraun/de-at/hs.xsl/products.html?prod=PRD00000579>
10. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Geneva (CH) International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1); [revised 1996 Nov 6; cited 2016 Feb 29]; [about 17 p.]. Available at: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf
11. VDI Konferenz 2011 München. Extractables&Leachables. Requirements for medical-technical products and packaging. 2011 [cited 2016 Apr 1]; [about 9 p.]. Available from: <http://polycomply.de/Tagungen/MIS%20Anlagen/14217-de-en.pdf>
12. Larsson I, Trittler R, Iglesias NN. How do we handle the leachable/extractable issue in a pharmacy setting when we wish to extend the shelf life of compounded cytostatic agents in different packaging? *Hospital Pharmacy Europe*. 2015 May [cited 2016 Apr 1]. Available at: <http://www.hospitalpharmacyeurope.com/cytotoxic-agents/leachableextractable-issues-pharmacy-setting>
13. ADKA Kongress Mannheim 2015 May 29. Trittler R, Hug MJ. Leachables – ein weltweites Problem. 2015 [cited 2016 Apr 1]; [about 1 p.]. Available at: http://www.adka.de/solva_docs/ADKAPosterMannheim2015_19.pdf
14. Product Specification. BD (Becton, Dickinson and Company), Inc.; ©2015 BD Luer-Lok™ 1 mL syringe; [cited 2016 Apr 8]; [about 1 p.]. Available at: https://www.bd.com/hypodermic/pdf/BD-Luer_Lok-Syringe.pdf

2.2 Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib nach Rekonstitution und in applikationsfertigen Zubereitungen

2.2.1 Carfilzomib – ein selektiver Proteasom-Inhibitor

Das Multiple Myelom

Das MM ist eine durch monoklonale Plasmazellvermehrung im Knochenmark charakterisierte, nach WHO-Kriterien den B-Zell-Lymphomen zugehörige, maligne hämatopoetische Tumorerkrankung. 1873 wurde diese Erkrankung erstmals durch den Arzt von Rustizky als „Multiples Myelom“ beschrieben. Charakteristisch sind multiple Tumorherde im Knochenmark. Wenn nur ein solitärer Tumor aus Plasmazellen vorhanden ist, spricht man von einem Plasmozytom. Das klinische Bild des MMs wird durch vermehrte Produktion kompletter oder inkompletter monoklonaler Immunglobuline, Verdrängung der normalen Blutbildung im Knochenmark und Destruktion der Knochen bestimmt (31). Es besteht eine altersabhängige, geschlechtsspezifische und ethnische Variabilität. Die Erkrankungshäufigkeit steigt ab dem 50. Lebensjahr signifikant an. Erkrankungen vor dem 35. Lebensjahr sind selten. Das mediane Erkrankungsalter beträgt 71 Jahre bei Männern und 73 Jahre bei Frauen (32).

Therapie des Multiplen Myeloms

Eine Therapieindikation wird beim symptomatischen MM gemäß den Kriterien der International Myeloma Working Group (IMWG) gestellt (33). Die IMWG hat die Krankheitsdefinition für das MM und das Smouldering Multiple Myeloma (SMM), bei dem der Patient nicht therapiepflichtig ist, sowie die Abgrenzung dieser zwei Entitäten von der Monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS) erstmals im Jahr 2003 publiziert. Im Gegensatz zu anderen malignen Erkrankungen werden zur Diagnosesicherung des Multiplen Myeloms und zur Feststellung einer Behandlungsindikation zwingend Endorganschäden, sogenannte CRAB-Kriterien, gefordert. CRAB leitet sich aus den englischen Wörtern „hyper **c**alcemia“, „renal insufficiency“, „**a**nemia“ und „**b**one lesions“ ab und gibt die Grenzwerte beim MM zur Beurteilung der Krankheitsfolgen wieder (31). Ziel der Behandlung eines symptomatischen Myelompatienten ist das Erreichen einer bestmöglichen Remission mit rascher Symptomkontrolle und Normalisierung myelombedingter Komplikationen (31). Langfristiges Ziel ist eine Verlängerung der Überlebenszeit bei gu-

ter Lebensqualität. Das Ziel der Heilung wird in fortgeschrittenen Krankheitsstadien bisher nur bei wenigen Patienten durch eine allogene SZT erreicht.

Die Therapie des MMs hat sich vor gut zehn Jahren durch die Einführung des Proteasom-Inhibitors Bortezomib und der beiden immunmodulatorischen Substanzen Thalidomid und Lenalidomid grundlegend gewandelt.

Wirkung von Carfilzomib

Als zweite Generation der Wirkstoffgruppe der Proteasom-Inhibitoren wurde Carfilzomib basierend auf die Daten der ASPIRE-Studie (34) in 2015 von der FDA in der Kombinationstherapie und im darauffolgenden Jahr als Monotherapie zugelassen. Die Zulassung als „orphan drug“ für die Kombinationstherapie erfolgte im November 2015 durch die EMA (32).

Carfilzomib hemmt, wie Bortezomib, den Abbau von nicht benötigten, geschädigten oder fehlerhaft gebildeten Proteinen, indem es das Proteasom in Zellen inhibiert. Im Zytoplasma und im Zellkern ist dieser Enzymkomplex für den kontrollierten Abbau von Proteinen und damit auch für die Homöostase der Zelle verantwortlich. Da Myelomzellen große Mengen an Paraprotein produzieren, ist die Proteasom-Inhibition gerade bei ihnen ein sehr wirksames Prinzip (35).

Kyprolis[®] mit dem Wirkstoff Carfilzomib ist in Kombination mit Lenalidomid und Dexamethason oder Dexamethason alleine zur Behandlung von erwachsenen Patienten mit MM indiziert, die mindestens eine vorangegangene Therapie erhalten haben (36). Der größte Vorteil einer Therapie mit Carfilzomib liegt in dessen Wirkweise. „Off-target“-Effekte wie z. B. Polyneuropathie treten im Gegensatz zu Bortezomib nicht auf (37).

In Kombination mit Lenalidomid und Dexamethason wird Kyprolis[®] als zehnminütige intravenöse Infusion an jeweils zwei aufeinanderfolgenden Tagen pro Woche über drei Wochen, gefolgt von einer zwölf-tägigen Pause, angewendet. Jede Periode von 28 Tagen entspricht einem Behandlungszyklus. Kyprolis[®] wird mit einer Anfangsdosis von 20 mg/m² KOF (maximale Dosis 44 mg) im Zyklus 1 an den Tagen 1 und 2 angewendet. Sofern dies toleriert wird, sollte die Dosis an Tag 8 von Zyklus 1 auf 27 mg/m² KOF (maximale Dosis 60 mg) erhöht werden. In Kombination mit Dexamethason wird Kyprolis[®] als 30-minütige intravenöse Infusion an jeweils zwei aufeinanderfolgenden Tagen pro Woche über drei Wochen, gefolgt von einer zwölf-tägigen Pause, angewendet. Kyprolis[®] wird mit einer Anfangsdosis von 20 mg/m² KOF (maximale Dosis 44 mg) im Zyklus 1 an

den Tagen 1 und 2 angewendet. Sofern dies toleriert wird, sollte die Dosis an Tag 8 von Zyklus 1 auf 56 mg/m² KOF (maximale Dosis 123 mg) erhöht werden (36).

Herstellung von Kyprolis®-Zubereitungen

Nachdem das lyophilisierte Pulver (60 mg) mit 29 mL sterilem Wasser für Injektionszwecke vollständig rekonstituiert ist, sollte die berechnete Dosis aus der Durchstechflasche mit Hilfe einer Kanüle und Spritze aufgezogen und in einem 50- oder 100 mL-Infusionsbeutel, der 5%-ige Glucoselösung (G5) zur Injektion enthält, verdünnt werden (36).

Seit 2016 sind in Deutschland drei Gebindegrößen zu 10, 30 und 60 mg Carfilzomib verfügbar. Verwürfe dieses Medikamentes sind dennoch oft nicht vermeidbar, da in der Fachinformation Haltbarkeiten von 24 Stunden bei Kühlung bzw. vier Stunden bei Raumtemperatur (RT) für die rekonstituierten Lösungen deklariert sind (38). Darüber hinaus ist der für die Herstellung verantwortliche Apotheker für die Dauer und Bedingungen der Aufbewahrung bis zur Anwendung verantwortlich.

Gegenstand der nachfolgend in Form der veröffentlichten Originalpublikationen dargestellten Untersuchungen war die Bestimmung der physikalisch-chemischen Stabilität von rekonstituierten Carfilzomib-haltigen Lösungen in den Originalglasvials bzw. Plastik-Einmal-Spritzen und von applikationsfertigen, verdünnten Zubereitungen in Plastik-Einmal-Spritzen und PE/PP-Infusionsbeuteln als Primärbehältnisse über einen Zeitraum von 28 Tagen. Es wurde die Lagerung bei RT und Kühlung sowie die Abbaukinetik von Carfilzomib untersucht.

Basierend auf den physikalisch-chemischen Stabilitäten kann die Haltbarkeit festgelegt werden.

2.2.2 Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib nach Rekonstitution und in applikationsfertigen Zubereitungen (Lagertemperatur=RT)

Originalarbeit

Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib nach Rekonstitution und in applikationsfertigen Zubereitungen

Sun Hee Kim und Irene Krämer, Mainz

Für den neuen, selektiven Proteasominhibitor Carfilzomib (Kyprolis®) sind bisher, außer in der Fachinformation, keine Untersuchungen zur physikalisch-chemischen Stabilität der rekonstituierten Lösung und der mit Glucose 5% verdünnten Infusionslösungen bekannt.

Die chemische Stabilität der Carfilzomib-Lösungen wurde mittels einer RP-HPLC mit UV-Detektion über einen Zeitraum von 28 Tagen untersucht. Die HPLC-Methode wurde in Anlehnung an bekannte HPLC-Methoden nach Hayes et al. und Garg et al. etabliert und mit dem Fertigarzneimittel Kyprolis® validiert. Die physikalisch-chemische Stabilität wurde durch Messung des pH-Werts, Prüfung auf sichtbare Partikel oder Farbänderungen geprüft. Als Testlösungen wurden rekonstituierte Carfilzomib-Lösungen 2 mg/ml in Durchstechflaschen und Plastik-Einmalspritzen und verdünnte Infusionslösungen der Konzentration 0,8 mg/ml in Plastik-Einmalspritzen und 0,6 mg/ml in Polyolefin-Infusionsbeuteln mit 5% Glucoselösung als Trägerlösung hergestellt. Die Testlösungen wurden kühl (2 bis 8 °C) und bei Raumtemperatur (25 °C) gelagert. Die Probenahme erfolgte an Tag 0 und regelmäßig bis zu Tag 28. Alle Proben wurden dreimal gemessen.

Bei Kühlung blieben der Gehalt an Carfilzomib und die pH-Werte über 28 Tage nahezu unverändert ($100\% \pm < 6\%$). Bei Raumtemperaturlagerung reduzierte sich der Gehalt rekonstituierter bzw. verdünnter Kyprolis®-Lösungen nach 14 Tagen bzw. 10 Tagen auf rund 90% bzw. > 95%. In keiner der Untersuchungslösungen zeigten sich Farbveränderungen oder Partikelbildung über 28 Tage. Die pH-Werte veränderten sich während der Lagerung nur geringfügig.

Bei Raumtemperatur- bzw. Kühlung sind die gemäß Fachinformation rekonstituierten und verdünnten Kyprolis®-Infusionslösungen über mindestens 14 Tage bzw. 28 Tage physikalisch-chemisch stabil.

Schlüsselwörter: Carfilzomib, physikalisch-chemische Stabilität, rekonstituierte Lösung, Infusionslösung, Reversed-phase Hochleistungsflüssigchromatographie (RP-HPLC)

Krankenhauspharmazie 2017;38:377–82.



Kein Nachdruck, keine Veröffentlichung im Internet oder einem Intranet ohne Zustimmung des Verlags!

Die medikamentöse Therapie des multiplen Myeloms wurde in den letzten Jahren stark fortentwickelt. Durch die Etablierung neuer Wirkstoffe in die Erstlinien- und Rezidivtherapie konnte eine Verlängerung des Überlebens erzielt und die Prognose für junge und ältere Patienten mit multiplem Myelom verbessert werden [6]. Einen neuen Baustein der antineoplastischen Myelomtherapie stellt Carfilzomib, als Nachfolger von Bortezomib, dar. Der selektive Proteasominhibitor ist in Kombination mit entweder Lenalidomid und Dexamethason oder Dexamethason allein zur Behandlung von erwachsenen Patienten mit rezidiviertem, progredientem multiplem Myelom

nach mindestens einer Vortherapie, einschließlich Bortezomib, indiziert [1]. Carfilzomib ist Bortezomib bezüglich der Nebenwirkungen, insbesondere der Neurotoxizität, überlegen.

Das Fertigarzneimittel Kyprolis® wird von der Firma Amgen in den drei Packungsgrößen 10, 30 und 60 mg Carfilzomib vermarktet. Jede 60-mg-Kyprolis®-Flasche ent-

Sun Hee Kim, Prof. Dr. Irene Krämer, Apotheke der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, E-Mail: sunhee.kim@unimedizin-mainz.de

Originalarbeit Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib

Kein Nachdruck, keine Veröffentlichung im Internet oder einem Intranet ohne Zustimmung des Verlags!

hält zusätzlich 3000 mg Sulfobutylether- β -cyclodextrin, 57,7 mg Zitronensäure sowie Natriumhydroxid zur pH-Wert-Einstellung (Ziel-pH = 3,5) [4]. Der Wirkstoff Carfilzomib (Abb. 1) besteht aus einem Tetrapeptid mit einem reaktiven Epoxidring, der die chemische Instabilität bedingt. Das als Lösungsvermittler eingesetzte, polyanionische Sulfobutylether- β -cyclodextrin (SBECD), auch bekannt als Captisol®, bildet Einschlussverbindungen mit dem wasserunlöslichen Carfilzomib und erhöht somit dessen Löslichkeit. Diese galenische Besonderheit bedingt auch eine bessere chemische Stabilität der rekonstituierten und verdünnten Carfilzomib-Lösungen und hemmt die Hydrolyse der Epoxid-Gruppe [11]. Durch Rekonstituieren des weißen, lyophilisierten Pulvers mit 5 ml, 15 ml oder 29 ml Wasser für Injektionszwecke entsteht jeweils eine Lösung der Konzentration 2 mg/ml Carfilzomib. Nach weiterem Verdünnen mit 50 ml oder 100 ml Glucose 5 % Infusionslösung (G5) wird Kyprolis® als zehnmündige intravenöse Infusion an jeweils zwei aufeinanderfolgenden Tagen pro Woche über drei Wochen (Tag 1, 2, 8, 9, 15, 16), gefolgt von einer zwölfstägigen Pause (Tag 17 bis 28), angewendet. Jede Periode von 28 Tagen entspricht einem Behandlungszyklus [1].

Applikationsfertige Zytostatikazubereitungen werden heutzutage in der Regel in (Krankenhaus-)Apotheken, gegebenenfalls auch im Voraus für die Applikation am Wochenende, hergestellt. Die qualitätsgesicherte Bereitstellung der applikationsfertigen Zubereitungen durch die Apotheke ist auch eine Voraussetzung für die Zertifizierung als onkologisches Zentrum. Als Teil der Qualitätssicherung ist die physikalisch-chemische und mikrobiologische Stabilität der Zytostatikazubereitungen zu beurteilen und es sind Haltbarkeiten festzulegen [13]. Die in der Fachinformation angegebene Haltbarkeit der rekonstituierten Kyprolis®-Lösung von 24 Stunden bei Kühlung und vier Stunden bei Raumtemperatur in unterschiedlichen Primärbehältnissen (Durchstechflasche, Spritze, Infusionsbeutel) [1] ist im Apothekenalltag nicht praktikabel, insbesondere wenn Zubereitungen im Voraus hergestellt und transportiert werden müssen. Außer in der Fachinformation

sind bisher keine Stabilitätsdaten zu den rekonstituierten und verdünnten Kyprolis®-Infusionen publiziert. Ziel der Untersuchungen war, die physikalisch-chemische Stabilität der rekonstituierten Kyprolis®-Lösung bei zwei unterschiedlichen Lagertemperaturen sowie die Stabilität der verdünnten applikationsfertigen Lösungen in Spritzen und Infusionsbeuteln als Primärbehältnis über einen Zeitraum von 28 Tagen mittels geeigneter analytischer Methoden zu prüfen. Dazu wurden bekannte HPLC-Methoden mit dem Fertigarzneimittel revalidiert [5, 7] und pH-Wert-Messungen sowie visuelle Kontrollen auf Farbänderungen und Partikelbildung durchgeführt.

Herstellung der Testlösungen und Probenahmen

Die Stabilitätsuntersuchungen wurden mit handelsüblichem Kyprolis® 60 mg Pulver zur Herstellung einer Infusionslösung (Amgen GmbH, Charge 1066093, Verfalldatum 10/2018) durchgeführt. Die Herstellung aller Testlösungen erfolgte unter aseptischen Bedingungen.

Drei Kyprolis® 60 mg Durchstechflaschen wurden mit jeweils 29 ml sterilem Wasser für Injektionszwecke rekonstituiert, woraus eine Lösung der nominellen Konzentration 2 mg/ml Carfilzomib resultierte. Diese wurden über einen Zeitraum von 28 Tagen kühl gelagert (2 bis 8°C). Aus jeder Durchstechflasche wurde zu Beginn je ein Aliquot von 15 ml mit einer Kanüle und einer dreiteiligen 20-ml-Luer-Lock-Spritze (Polypropylen, silikonisiert, BD) entnommen und diese drei Spritzen bei Raumtemperatur gelagert (25°C). An Tag 0 sowie an den Tagen 1, 3, 5, 7, 14 und 28 wurde mittels HPLC die Gehaltsbestimmung von Carfilzomib durchgeführt.

Die verdünnten Kyprolis®-Testlösungen wurden mit Glucose 5 % Infusionslösung (freeflex®, Fresenius Kabi) hergestellt.

Drei Testlösungen mit jeweils 0,8 mg/ml Carfilzomib wurden in dreiteiligen 50-ml-Luer-Lock-Spritzen (Original-Perfusor®-Spritze, B. Braun Melsungen AG) zubereitet und über den Untersuchungszeitraum von 28 Tagen kühl gelagert. Die Gehaltsbestimmung von Carfilzomib erfolgte an Tag 0 (zum Zeitpunkt 0 h, 3 h, 6 h und 12 h) und an den Tagen 1, 2, 3, 4, 5, 7, 14 und 28. Ab Tag 28 wurden die Testlösungen in den Spritzen bei Raumtemperatur gelagert und an Tag 28, 31, 35 und 38 die Gehaltsbestimmungen durchgeführt.

Drei Testlösungen der Konzentration 0,6 mg/ml Carfilzomib wurden in den mit G5 befüllten Infusionsbeuteln aus Polyethylen/Polypropylen (PE/PP)-Copolymer (freeflex®, Fresenius Kabi) hergestellt und ebenfalls kühl gelagert. Die Gehaltsbestimmung von Carfilzomib erfolgte bis Tag 28. Ab Tag 28 wurden die Infusionsbeutel bei Raumtemperatur gelagert und an Tag 28, 31, 35 und 38 der Carfilzomib-Gehalt untersucht.

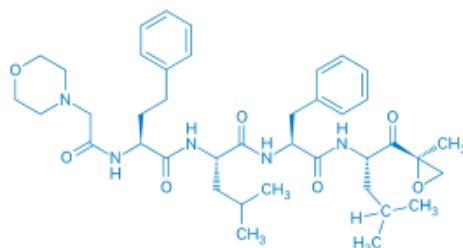


Abb. 1. Chemische Struktur von Carfilzomib ($C_{40}H_{57}N_5O_7$, Mr = 719,9 g/mol)

Originalarbeit Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib

Für die Gehaltsbestimmungen wurden zu jedem Untersuchungszeitpunkt je 1,0 ml mit einer zweiteiligen 1-ml-Luer-Spritze (PP/PE, nicht-silikonisiert, Injekt®-F Tuberculin, B. Braun Melsungen AG) entnommen. Der durchstochene Stopfen der Originalampullenflaschen wurde nach jedem Anstechen mit Parafilm M® verschlossen. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt wurde der pH-Wert der Proben gemessen und eine visuelle Kontrolle der Testlösungen auf Farbänderungen oder Partikelbildung durchgeführt. Jede pH-Wert-Messung erfolgte dreifach.

Alle Proben wurden mit Wasser HPLC grade zu der nominellen Konzentration von 0,2 mg/ml Carfilzomib verdünnt und jede Untersuchungslösung dreifach injiziert zur HPLC-Analyse.

Validierung der HPLC-Methode

HPLC-Methoden zur Bestimmung der Carfilzomib-Konzentration sind von Hayes et al. [7] und Garg et al. [5] beschrieben. Die bekannten HPLC-Methoden wurden mit dem Fertigarzneimittel Kyprolis® revalidiert (Kennzahlen: Tab. 1; charakteristisches HPLC-Chromatogramm: Abb. 2). Die Methodenvalidierung erfolgte gemäß ICH Q2 (R1) Guidelines [8].

Die Eignung der Methode wurde mit forcierter Zersetzung von Carfilzomib durch Salpetersäure, Natriumhydroxid und Hitze geprüft. Die HPLC-Peaks der Abbauprodukte von Carfilzomib waren deutlich getrennt von dem Carfilzomib-Peak bei einer Detektionswellenlänge von 210 nm. Die Trennung der Peaks bestätigte sich in PDA-Chromatogrammen.

Zur Überprüfung der Linearität der Methode wurde die rekonstituierte Kyprolis®-Lösung mit Wasser HPLC grade zu sieben verschiedenen Kalibrierkonzentrationen verdünnt (0,3 mg/ml, 0,24 mg/ml, 0,22 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,18 mg/ml, 0,16 mg/ml und 0,1 mg/ml). Jeder Kalibrierstandard wurde dreifach injiziert. Zur Erstellung einer Kalibriergeraden wurden die gemessenen Peakflächen gegen die theoretischen Carfilzomib-Konzentrationen aufgetragen.

Zur Bestimmung der Intra- und Interday-Richtigkeit und Präzision wurde die rekonstituierte Kyprolis®-Lösung mit Wasser HPLC grade zu zwei verschiedenen Konzentrationen verdünnt (0,22 mg/ml und 0,2 mg/ml). Für die Intraday-Richtigkeit und Präzision wurden beide Konzentrationen je sechsfach injiziert. Für die Interday-Präzision wurden beide Konzentrationen an fünf aufeinanderfolgenden Tagen je einmal injiziert.

Ergebnisse und Diskussion der Stabilitätsuntersuchungen

In den bei Raumtemperatur gelagerten, rekonstituierten Kyprolis®-Lösungen wurden verschiedene Peaks von Abbauprodukten detektiert. Bei den kühl gelagerten Testlö-

Tab. 1. Kennzahlen der HPLC-Methode zur Gehaltsbestimmung von Carfilzomib in Kyprolis®-Lösung

HPLC-Anlage	Waters Alliance 2695
Detektor	Waters 996 Photodiodenarraydetektor
Software	Waters Empower Pro, Version 5.00.00.00
Säule	C18 column (µBondapak, 300 mm x 3,9 mm, 10 µm particle size, MZ-Analysentechnik)
Injektionsvolumen	30 µl
Laufzeit	18 min
UV/VIS-Detektionswellenlänge	210 nm
Fließmittel	55 % (V/V) Wasser HPLC grade mit 50 µl Trifluoressigsäure (TFA) 45 % (V/V) Acetonitril HPLC grade
Flussrate	1,8 ml/min
Retentionszeit	8,5 min
Linearität	0,998
Accuracy	100,4 % ± 0,1%
Intraday RSD _t (Intraday-Wiederholpräzision)	0,78 % für 0,2 mg/ml 0,72 % für 0,22 mg/ml
Interday RSD _t (Interday-Wiederholpräzision)	1,71 % für 0,2 mg/ml 1,41 % für 0,22 mg/ml
LOD (Limit of detection)	0,04 mg/ml
LOQ (Limit of quantification)	0,13 mg/ml

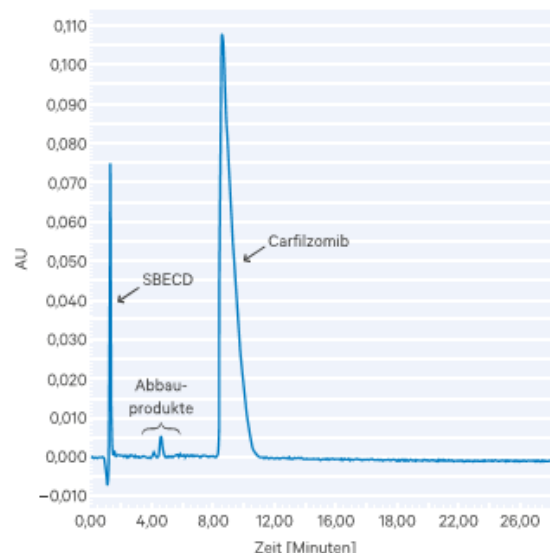


Abb. 2. Beispielhaftes Chromatogramm von Carfilzomib-Kyprolis®-Infusionslösung in G5 0,2 mg/ml am Tag 0 der Untersuchung
SBECD: Sulfobutylether-β-cyclodextrin

Originalarbeit Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib

Tab. 2. Stabilität der bei Raumtemperatur (25 °C) gelagerten rekonstituierten Kyprolis®-Lösung der nominellen Konzentration 2 mg/ml über 28 Tage

Test-Lösung	Carfilzomib-Konzentration in der Untersuchungslösung [mg/ml]		% Carfilzomib-Konzentration* $\pm$ relative Standardabweichung					
	Nominell	Tag 0	Tag 1	Tag 3	Tag 5	Tag 7	Tag 14	Tag 28
1	2,0	1,94 $\pm$ 0,0	98,5 $\pm$ 0,0	100,5 $\pm$ 0,0	97,6 $\pm$ 0,1	99,5 $\pm$ 0,0	94,1 $\pm$ 0,0	89,5 $\pm$ 0,1
2	2,0	2,05 $\pm$ 0,0	99,0 $\pm$ 0,0	97,1 $\pm$ 0,0	96,1 $\pm$ 0,1	92,7 $\pm$ 0,0	92,8 $\pm$ 0,0	87,8 $\pm$ 0,0
3	2,0	2,11 $\pm$ 0,0	97,2 $\pm$ 0,0	94,3 $\pm$ 0,0	94,3 $\pm$ 0,3	94,5 $\pm$ 0,1	89,7 $\pm$ 0,0	85,2 $\pm$ 0,0

*Carfilzomib-Konzentration, bezogen auf die Ausgangskonzentration am Tag 0 [%]; n = 3

sungen traten diese Zersetzungspeaks zeitverzögert auf. Bei dem Peak mit der Retentionszeit von 3,8 Minuten (relative Retentionszeit = 0,45) ist die Zunahme der Peakgröße über den Untersuchungszeitraum besonders gut erkennbar. Aus den Untersuchungen von Sestak et al. [12] lässt sich schließen, dass es sich um das aus der Hydrolyse des Epoxidrings resultierende Abbauprodukt von Carfilzomib in Form des Diols (Morpholino-hPhe-Leu-Phe-Leu-diol) handelt. Dieses entsteht auch in vivo durch Peptidasen gesteuerte Hydrolyse der Epoxidgruppe [15]. Die Testlösungen haben einen stabilitätsbegünstigenden schwach sauren pH-Wert und sind chloridfrei, sodass das ringoffene Chlorhydrin-Abbauprodukt, das als toxisches Zersetzungsprodukt mit CMR-Eigenschaften gilt, nicht entsteht [11]. Das Zwischenspülen des Infusionssystems mit 0,9% NaCl-Infusionslösung ist gemäß European public assessment report (EPAR) möglich, da die Bildung des Chlorhydrin-Derivats langsam erfolgt und die Infusionszeit kurz ist [4]. Am Tag 14 war der Carfilzomib-Gehalt in einer von drei bei Raumtemperatur gelagerten Kyprolis®-Stammlösungen auf 90% des Ausgangsgehalts gefallen (Tab. 2). Nach 28 Tagen lag die Konzentration von Carfilzomib in allen drei Testlösungen $\leq 90\%$. Die aus der Zeit-Konzentrationskurve abgeleitete t90% der Kyprolis®-Stammlösung beträgt nach diesen Untersuchungen 20 Tage bei Raumtemperatur (25 °C) (Abb. 3).

Bei den kühl gelagerten Testlösungen betrug der Carfilzomib-Gehalt in allen Kyprolis®-Lösungen unabhängig von der Konzentration oder dem Primärbehältnis (Durchstechflasche, Plastik-Einmalspritze, Polyolefin-Infusionsbeutel) über den gesamten Untersuchungszeitraum $\geq 95\%$. Detaillierte Daten zu kühl gelagerten Testlösungen werden an anderer Stelle berichtet [9].

Der unerwartet hohe Gehalt der verdünnten Carfilzomib-Testlösungen nach 28 Tagen Kühlagerung veranlasste uns, die Infusionslösungen weitere zehn Tage bei Raumtemperatur zu lagern und den Gehalt zu bestimmen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3 dargestellt. Nach zehn Tagen Raumtemperaturlagerung betrugen die Gehaltsabnahmen weniger als 5% der Ausgangskonzentration. Dieser Befund

lässt eine kurzzeitige Lagerung sowie den Transport von verdünnten, applikationsfertigen Kyprolis®-Lösungen bei Raumtemperatur zu. Weitergehende Untersuchungen zur Lagerung von verdünnten Kyprolis®-Infusionslösungen bei Raumtemperatur wurden mangels praktischer Relevanz nicht durchgeführt. Die Stabilität ist auch bei Raumtemperatur unabhängig vom Primärpackmittel. Eine angedeutet erkennbare, konzentrationsabhängige Stabilität der Kyprolis®-Lösungen könnte mit der Formulierung mit SBECN zusammenhängen [2, 3]. Es kann vermutet werden, dass die Stabilität von Kyprolis®-Infusionslösungen der Konzentration $< 0,6$ mg/ml vergleichbar ist.

Abweichungen beim Pipettieren und Verdünnen der Proben sowie methodeninhärente Abweichungen (Intraday-Präzision) können leichte Schwankungen zwischen den einzelnen Ergebnissen erklären.

Die pH-Werte aller Kyprolis®-Lösungen betrugen nach Rekonstitution pH 3,6 und nach Verdünnung mit G5 pH 3,5 bis 3,6 und blieben über den gesamten Untersuchungszeitraum hinweg unverändert. In keiner der Lösungen zeigten sich Farbveränderungen oder sichtbare Partikel (detaillierte Daten: [9]).

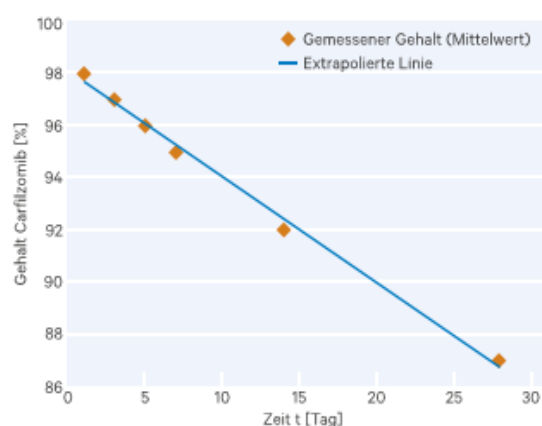


Abb. 3. Graphische Darstellung der Stabilität der bei Raumtemperatur (25 °C) gelagerten rekonstituierten Kyprolis®-Lösung der nominellen Konzentration 2 mg/ml

Originalarbeit Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib

Tab. 3. Stabilität der bei Raumtemperatur (25 °C) gelagerten verdünnten Kyprolis®-Lösungen der nominellen Konzentration 0,8 mg/ml in Plastik-Einmalspritzen und 0,6 mg/ml in Polyolefin-Infusionsbeutel über zehn Tage

Primär-behälter	Test-Lösung	Carfilzomib-Konzentration in der Untersuchungslösung [mg/ml]		% Carfilzomib-Konzentration* ± relative Standardabweichung			
		Nominell	Tag 28	Tag 31	Tag 35	Tag 38	
Plastik-Einmalspritze	1	0,8	0,75 ± 0,1	99,6 ± 0,0	97,9 ± 0,1	96,6 ± 0,0	
	2	0,8	0,77 ± 0,0	100,2 ± 0,0	99,2 ± 0,0	97,4 ± 0,0	
	3	0,8	0,77 ± 0,0	98,9 ± 0,0	97,6 ± 0,1	98,7 ± 0,0	
Polyolefin-Infusionsbeutel	1	0,6	0,58 ± 0,0	101,2 ± 0,1	99,6 ± 0,0	97,5 ± 0,0	
	2	0,6	0,57 ± 0,0	105,2 ± 0,0	103,2 ± 0,0	101,7 ± 0,0	
	3	0,6	0,58 ± 0,0	101,3 ± 0,0	100,5 ± 0,1	98,4 ± 0,0	

*Carfilzomib-Konzentration, bezogen auf die Ausgangskonzentration am Tag 0 [%]; n = 3

Qualitätssicherung von Kyprolis®-Zubereitungen

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen belegen die Stabilität der rekonstituierten Kyprolis®-Lösung über mindestens 14 Tage und der verdünnten Infusionslösungen über mindestens 10 Tage bei Raumtemperaturlagerung. Kühl gelagerte Kyprolis®-Lösungen in Durchstechflaschen, Plastik-Einmalspritzen und Infusionsbeuteln sind unabhängig der Carfilzomib-Konzentration über 28 Tage physikalisch-chemisch stabil. Damit ist die sichere Herstellung im Voraus in der zentralen Zytostatikazubereitung möglich. Zudem können Anbrüche der rekonstituierten Kyprolis®-Lösung weiterverwendet werden, wodurch Kosten für die Chemotherapie eingespart werden können.

Trittlar et al. [14] berichten über potenzielle Leachables und Extractables, die beim Gebrauch von Plastik-Einmalspritzen als Primärpackmittel in das Produkt gelangen können. Ob die Lagerung von verdünnten Carfilzomib-Infusionslösungen in dreiteiligen Einmalspritzen zum Leaching von toxischen Komponenten in die Infusionslösungen führt, kann anhand dieser Untersuchungen nicht beurteilt werden. Kompatibilität mit Einmalspritzen und Infusionssystemen ist laut EPAR zumindest während der Infusionszeit gegeben, Lichtschutz ist nicht erforderlich [4]. Im Zweifelsfall ist bei längerer Lagerung ein Infusionsbeutel als Primärbehälter zu bevorzugen.

Da die chemische, physikalische und mikrobiologische Instabilität eines Arzneimittels Ursache abnehmender Wirksamkeit und/oder zunehmender Toxizität ist, sollte auch die mikrobiologische Stabilität zur Festlegung des Verfalldatums herangezogen werden [10]. Um die mikrobiologische Qualität zu gewährleisten, sollte die Lagerung im Kühlschrank bevorzugt werden. Zur Überprüfung der Qualität unmittelbar vor dem Gebrauch ist eine visuelle Kontrolle vor der Applikation zu empfehlen.

Interessenkonflikterklärung

Die Autoren bestätigen, dass keine Interessenkonflikte hinsichtlich der Untersuchungen bestehen.

Danksagung

Die Autoren danken der Firma Amgen für die Überlassung von Kyprolis® 60 mg.

Physico-chemical stability of concentrated and diluted carfilzomib (Kyprolis®) preparations

Profound knowledge about the physico-chemical stability of carfilzomib containing preparations is necessary in order to determine the "beyond-use-dates" of reconstituted solutions and ready-to-administer preparations. The aim of this study was to determine the physicochemical stability of carfilzomib solutions prepared with Kyprolis® powder for solution for infusion.

Therefore reconstituted solutions (2 mg/ml) and ready-to-administer preparations (0.8 mg/ml in plastic syringes and 0.6 mg/ml in polyethylene infusion bags) of Kyprolis® stored under refrigeration (2–8 °C) or at room temperature (25 °C) were analysed at predetermined intervals over a maximum storage period of 28 days. Chemical stability of carfilzomib was determined with a stability-indicating reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) assay. Physico-chemical stability was determined by visual inspection of clarity and color as well as pH measurement.

After 14 days of storage at room temperature the concentration of carfilzomib decreased to 90% in reconstituted Kyprolis® solutions. In diluted solutions the concentration of carfilzomib remained >95% after 10 days of storage at room temperature. In test solutions stored under refrigeration carfilzomib concentrations were only slightly decreased at the end of the test period of 28 days. The mean pH values only slightly varied in test solutions during storage. Particulate matter or color changes were not observed.

Reconstituted and diluted Kyprolis® solutions are physico-chemically stable over a period of 14 days when stored light protected at room temperature. Reconstituted and diluted Kyprolis® solutions prepared in plastic syringes and polyethylene infusion bags with G5 vehicle solution are stable over a period of at least 28 days when stored under refrigeration.

Key words: Carfilzomib, physicochemical stability, ready-to-administer syringe, infusion solution, reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC)

Literatur

1. Amgen GmbH, Fachinformation Kyprolis® 10 mg/30 mg/60 mg Pulver zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 2016. https://fachkreise.amgen.de/x_download.php?i=f&n=1&id=526.
2. Arun R, Ahok KCK, Sravanthi VVNS. Cyclodextrins as drug carrier molecule: A review. Sci Pharm 2008;76:67–98.
3. Challa R, Ahuja A, Ali J, Khar RK. Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. AAPS PharmSciTech 2005;6(Article 43):E329–57.

Originalarbeit Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib

4. European Medicines Agency, EPAR, Product Information, Stand 2016. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003790/WC500197692.pdf.
5. Garg A, Le HT, Gao D, Habibizad N. Effect of captisol and pH on the stability of carfilzomib (CFZ) in drug product under oxidative degradation. <http://abstracts.aaps.org/Verify/AAPS2015/PosterSubmissions/W5165.pdf>.
6. Goldschmidt H, Angerer A. Neue Medikamente beim Multiplen Myelom. DLH info 55 III/2014;10–2.
7. Hayes ME, Noble CO, Jr, Szoka FC. Remote loading of sparingly water-soluble drugs into liposomes. US Patent Application Publication 2014. <http://www.freshpatents.com/-d020140807ptan20140220111.php>.
8. ICH, Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1), Stand 1996. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf.
9. Kim SH, Krämer I. Physicochemical stability of carfilzomib (Kyprolis®) containing solutions in glass vials, ready-to-administer plastic syringes and in fusion bags over a 28-day storage period (under review).
10. Krämer I. Stabilität applikationsfertiger Zytostatikazubereitungen. PZ Prisma 1996;3:163–71.
11. Lewis E, Schwonek P, Dalziel S, Jumaa M. Cyclodextrin complexation methods for formulating peptide proteasome inhibitors. US Patent Application Publication 2015. <http://www.freshpatents.com/-dt20150423ptan2015011838.php>.
12. Sestak V, Roh J, Klepalova L, Kovarikova P. A UHPLC-UV-QTOF study on the stability of carfilzomib, a novel proteasome inhibitor. J Pharm Biomed Anal 2016;124:365–73.
13. Thiesen J, Sarakbi I, Krämer I. Die STABIL-Liste®. 7. Auflage 2015. Krankenhauspharmazie 2016;37:485–96.
14. Trittler R, Hauck A, Hug MJ. Leachables/extractables in der septischen Produktion in Krankenhausapotheken. Krankenhauspharmazie 2016;37:479–84.
15. Wang Z, Yang J, Kirk C, Fang Y, et al. Clinical pharmacokinetics, metabolism, and drug-drug interaction of carfilzomib. Drug Metab Dispos 2013;41:230–7. Letzter Zugriff auf die Webseiten Januar 2017.

2.2.3 Physicochemical stability of Carfilzomib (Kyprolis®) containing solutions in glass vials, ready-to-administer plastic syringes and infusion bags over a 28-day storage period

Physicochemical stability of carfilzomib (Kyprolis®) containing solutions in glass vials, ready-to-administer plastic syringes and infusion bags over a 28-day storage period

Sun Hee Kim and Irene Krämer

J Oncol Pharm Practice

0(0) 1–12

© The Author(s) 2017

Reprints and permissions:

sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav

DOI: 10.1177/1078155217735881

journals.sagepub.com/home/opp



Abstract

Centralized aseptic preparation of ready-to-administer carfilzomib containing parenteral solutions in plastic syringes and polyolefine (PO) infusion bags needs profound knowledge about the physicochemical stability in order to determine the beyond-use-date of the preparations. Therefore, the purpose of this study was to determine the physicochemical stability of carfilzomib solution marketed as Kyprolis® powder for solution for infusion. Reconstituted solutions and ready-to-administer preparations of Kyprolis® stored under refrigeration (2–8°C) or at room temperature (25°C) were analyzed at predetermined intervals over a maximum storage period of 28 days. Chemical stability of carfilzomib was planned to be determined with a stability-indicating reversed-phase high-performance liquid chromatography assay. Physicochemical stability was planned to be determined by visual inspection of clarity and color as well as pH measurement. The study results show that reconstituted carfilzomib containing parenteral solutions are stable in glass vials as well as diluted solutions in plastic syringes and PO infusion bags over a period of at least 28 days when stored light protected under refrigeration. When stored at room temperature, reconstituted and diluted carfilzomib solutions are physicochemically stable over 14 days and 10 days, respectively. The physicochemical stability of carfilzomib infusion solutions allows cost-saving pharmacy-based centralized preparation of ready-to-administer preparations.

Keywords

Carfilzomib, physicochemical stability, ready-to-administer syringe, infusion solution, reversed-phase high-performance liquid chromatography

Date received: 1 March 2017; revised: 12 July 2017; accepted: 16 September 2017

Introduction

Kyprolis® powder for solution for infusion containing carfilzomib as active pharmaceutical ingredient is indicated in combination with lenalidomide and dexamethasone to treat multiple myeloma in adult patients who have received at least one previous treatment for their cancer.¹ Because the number of patients with multiple myeloma is small, Kyprolis® was classified as an “orphan medicine” in 2008.¹ Since November 2015, Kyprolis® has been authorized in the EU.

Carfilzomib (PR-171) is a second-generation, irreversible, peptide epoxyketone class proteasome

inhibitor that targets the chymotrypsin-like $\beta 5$ subunit of the constitutive 20S proteasome and the $\beta 5i$ subunit of the immunoproteasome 20Si with minimal cross reactivity to other proteases.² Cancer cells have an increased need to produce and break down proteins

Department of Pharmacy, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg-University, Mainz, Germany

Corresponding author:

Sun Hee Kim, Department of Pharmacy, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg-University, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, Germany.

Email: sunyahza@naver.com

due to the fact that they are multiplying rapidly. When proteins in the cancer cells are not broken down by the proteasome, they accumulate in the cells which eventually die, slowing down the growth of cancer.¹

Each single-use vial of Kyprolis[®] 60 mg is filled with carfilzomib as sterile lyophilized powder. In addition, each vial contains 3000 mg sulfobutylether beta-cyclodextrin (SBECD), 57.7 mg citric acid and sodium hydroxide for pH adjustment (target pH=3.5). Carfilzomib is practically insoluble in water and only very slightly soluble in acidic conditions. SBECD enhances carfilzomib solubility, provides isotonicity, and acts as a bulking agent in the lyophilized cake.¹ The combination of SBECD and the selected pH-range ensures acceptable solubility and stability of the reconstituted carfilzomib solutions especially regarding the degradation of the epoxide group over time in aqueous solution.³ However, high temperature sterilization is not feasible because of the tetrapeptide structure.¹ Compatibility of the reconstituted solution with 5% dextrose in 50 mL infusion bags and typical infusion systems (syringe, infusion sets) was shown.¹ Control of leachables is not required.¹ Light protection during handling and administration is not necessary. Diluents containing chloride should be avoided because of the formation of potentially genotoxic degradation products by reaction with the epoxide moiety.^{3,4} However, flushing of the administration set with normal saline immediately before and after carfilzomib administration is acceptable.¹

The medicinal product should be stored refrigerated and protected from light. Prior to use, each 60 mg vial is reconstituted with 29 mL of sterile water for injections to provide a 2 mg/mL solution. According to the Kyprolis[®] summary of product characteristics (SmPC), the total time from reconstitution to administration should not exceed 24 h.⁵ Chemical and physical in-use stability of reconstituted solutions in the vial, syringe, or intravenous bag has been demonstrated for 24 h at 2–8°C or for 4 h at 25°C.⁵ The reconstituted solution should be diluted into 50 or 100 mL infusion bags containing 5% dextrose injection solution.⁵

Centralized aseptic preparation of ready-to-administer Kyprolis[®] containing parenteral solutions in plastic syringes and infusion bags needs profound knowledge about the physicochemical stability in order to determine the beyond-use-date of the preparations. Therefore, the purpose of this study is to determine the physicochemical stability of Kyprolis[®] powder for solution for infusion in the original vials and plastic syringes after reconstitution and in ready-to-administer syringes and infusion bags when stored under refrigeration (2–8°C) or at room temperature (25°C) both light protected over a period of 28 days. The storage conditions were chosen with an eye to clinical practice.

Chemical stability of carfilzomib was planned to be determined with a stability-indicating reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) assay which was previously published by Hayes et al.⁶ and Garg et al.⁷ Physicochemical stability was planned to be determined by visual inspection of clarity and color as well as pH measurement.

Materials and methods

Preparation of test solutions

All tests were performed using commercially available Kyprolis[®] 60 mg powder for solution for infusion (Amgen GmbH, Munich, Germany, lot 1066093). Test solutions were aseptically prepared in a cytotoxic workbench.

Carfilzomib test solutions 2 mg/mL. Three Kyprolis[®] 60 mg vials were reconstituted with 29 mL of sterile water for injections (in-house manufacturing, Department of Pharmacy, University Medical Center Mainz, Germany, lot 20160302-01). The resulting solutions of the nominal concentration 2 mg/mL were stored under refrigeration (2–8°C) over a period of 28 days. At day 0 from each vial 15 mL of solution were withdrawn with cannulas (BD Microlance 3[™], Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Germany, lot 151215) and 20 mL 3-piece syringes (BD Luer-Lok[™] tip syringe, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Germany, lot 1607210P),⁸ stoppered and stored at room temperature (25°C). Samples were withdrawn on days 0, 1, 3, 5, 7, 14 and 28 after first puncture and assayed.

Carfilzomib test solutions 0.8 mg/mL in plastic syringes. Three diluted carfilzomib test solutions 0.8 mg/mL were prepared by mixing 20 mL (40 mg) of reconstituted Kyprolis[®] solution with 30 mL of 5% dextrose injection solution (D5) (250 mL dextrose 5% Freeflex[®] bag, Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg, Germany, lot 14KB7333) in three 3-piece single-use plastic syringes of the nominal value 50 mL (Original-Perfusor[®]-Spritze, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany, lot 16F2382009) and stored under refrigeration. The syringes are made of polypropylene (PP) and siliconized.⁹

Samples were withdrawn on day 0 (at time 0 h, 3 h, 6 h and 12 h), 1, 2, 3, 4, 5, 7, 14 and 28 and assayed. After day 28, test syringes were stored at room temperature and sampling was performed on days 28, 31, 35, and 38 of storage.

Carfilzomib test solutions 0.6 mg/mL in PO infusion bags. Three diluted carfilzomib test solutions 0.6 mg/mL were prepared in dextrose 5% containing Freeflex[®] infusion bags of the nominal volume 250 mL (details

see above). The multi-layer polyolefine (PO) infusion bags are free of polyvinylchloride (PVC), plasticizers, additives, and glues.¹⁰ After withdrawal of superfluous D5 vehicle solution 30 mL (60 mg) of reconstituted Kyprolis[®] solution was added to the remaining 70 mL D5 vehicle solution.

The test solutions were stored under refrigeration. Samples were withdrawn on days 0, 1, 3, 5, 7, 14, and 28 and assayed. After day 28, test bags were stored at room temperature and sampling was performed on days 28, 31, 35, and 38 of storage.

Sample preparation

At each predetermined interval, 1.0 mL samples were withdrawn from each vial, syringe and bag using canulas and 1 mL 2-piece syringes (Injekt[®]-F Tuberkulin, 0.01 mL–1 mL, Luer Solo, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany, lot 16D18C8). The barrel of the two-piece syringe model is made of PP and the plunger of polyethylene. The syringe is free from latex, PVC and silicone oil.¹¹

The vial stoppers were covered by a plastic film, consisting of paraffin wax and PO (Parafilm M[®], Bemis Company, Neenah, WI, USA). The cover was removed prior to the next sampling.

In order to determine the stability of undiluted Kyprolis[®] solution 100 μ L reconstituted Kyprolis[®] solution were mixed with 900 μ L water HPLC grade to achieve a concentration of 0.2 mg/mL carfilzomib (one dilution step).

To determine the stability of diluted carfilzomib infusion solutions of the nominal concentration 0.8 mg/mL or 0.6 mg/mL, 250 μ L or 333 μ L aliquots of the samples were mixed with 750 μ L or 667 μ L water HPLC grade, respectively, in order achieve a concentration of 0.2 mg/mL carfilzomib (one dilution step).

Determination of the chemical stability of carfilzomib solutions

HPLC assay. The HPLC system consisted of a Waters Alliance 2695 with Waters photodiode array detector 996 (Waters). The Waters Empower Pro, Empower Build 1154 Software, version 5.00.00.00 (Waters) was used for data evaluation.

The separation was performed with a C18 column (μ Bondapak, 300 mm $\times$ 3.9 mm, 10 μ m particle size, MZ-Analysentechnik GmbH, Mainz, Germany, serial 26171807), which was maintained at 25°C. The sample temperature was maintained at 4°C. The mobile phase consisted of 55% water HPLC grade with 50 μ L trifluoroacetic acid (Merck GmbH, Darmstadt, Germany, lot S6406760/S6746460 031) and 45% acetonitrile optigrade (Sigma-Aldrich Chemie GmbH,

Taufkirchen, Munich, Germany, lot SZBG052CV/SZBG147MV). The overall run time was 18 min, and the flow rate was set at 1.8 mL/min. 30 μ L samples were injected by an autosampler in triplicate. The washing solution consisted of 95% water HPLC grade and 5% acetonitrile optigrade (details see above).

The absorption of carfilzomib was measured at a wave length of 210 nm. The identity of the carfilzomib peak was confirmed by concentration-dependent peak areas and PDA-chromatograms.

Validation of the RP-HPLC assay. The method was validated following the ICH Q2 (R1) Guidelines¹² for stability studies.

Suitability. Suitability of the HPLC method was tested by analyzing forced degraded samples of reconstituted carfilzomib (Kyprolis[®]) solution. The reconstituted solution (2 mg/mL) was either acidified with 10 μ L of nitric acid (12% (m/v), prepared with nitric acid 65%, Merck GmbH, Darmstadt, Germany, lot K45101743346), alkalized with 10 μ L of sodium hydroxide solution (42% (m/v), prepared with sodium hydroxide pellets, AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany, lot 0000537465), or heated to 100°C for 5 min.

Solutions were diluted with water HPLC grade and assayed without prior neutralization.

Linearity. In order to study the linearity of the assay, standards ($n=7$) were prepared by diluting reconstituted carfilzomib (Kyprolis[®]) solution with water HPLC grade to achieve the following concentrations: 0.3 mg/mL, 0.24 mg/mL, 0.22 mg/mL, 0.2 mg/mL, 0.18 mg/mL, 0.16 mg/mL, 0.1 mg/mL.

Aliquots of the calibration standards were injected in triplicate. The line of best fit was constructed by analyzing plots of peak area versus carfilzomib concentrations.

Accuracy. Accuracy was evaluated with two different concentrations (100%: 0.2 mg/mL and 120%: 0.22 mg/mL) and six-fold injection.

Intra-day precision. The intra-day precision of the assay method was evaluated by carrying out six independent assays of carfilzomib solution at two concentration levels (0.2 mg/mL and 0.22 mg/mL).

Inter-day precision. For inter-day precision at each concentration level (0.2 mg/mL and 0.22 mg/mL), a single injection of carfilzomib solution was assayed daily on five consecutive days.

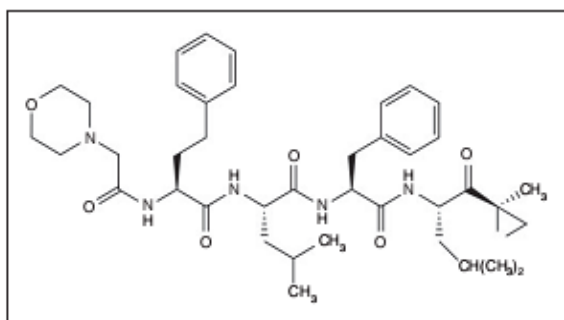


Figure 1. Chemical structure of carfilzomib (PR-171). (2S)-N-((S)-1-((S)-4-methyl-1-((R)-2-methyloxiran-2-yl)-1-oxopentan-2-ylcarbamoyl)-2-phenylethyl)-2-((S)-2-(2-morpholinoacetamido)-4-phenylbutanamido)-4-methylpentanamide.¹

Determination of the physicochemical stability of carfilzomib solutions

pH values were measured in triplicate in the undiluted aliquots taken from the test solutions at the predetermined intervals using a pH 210 Microprocessor pH-meter (Hanna Instrument) equipped with an InLab Ultra-Micro-ISM pH-glass electrode (Mettler Toledo GmbH, Wien, Austria, serial 6293595). The instrument was calibrated with Hamilton DuraCal[®] buffer pH 4.01 $\pm$ 0.01 and pH 7.01 $\pm$ 0.01.

Whenever samples were taken, the vials were visually checked for color changes and particulate matter.

Results

Validation of the RP-HPLC assay

Suitability. Under acidic forced degradation conditions, the resulting peak of degradation product did not interfere with the carfilzomib parent peak (retention time 9.5 min (see Figures 2 and 3).

Under alkaline forced degradation conditions, the resulting peaks of degradation products supported the assay as stability indicating.

By pure heating, several peaks of the degradation products were observed. These peaks did not interfere with the carfilzomib parent peak (see Figure 4).

These results confirm the suitability of the HPLC method.

Linearity. The correlation coefficient of $R^2 = 0.998$ proved linearity over the concentration range. The equation of calibration curve was $y = 3.25e + 7x - 8.43e + 4$.

Accuracy. The mean recovery was 100.4% $\pm$ 0.1% ($n = 6$). The accuracy was 101.1% $\pm$ 0.4% for 0.2 mg/mL and 99.7% $\pm$ 0.2% for 0.22 mg/mL carfilzomib solution.

Intra-day precision. The % RSD (Relative Standard Deviation) was 0.78% at the concentration 0.2 mg/mL and 0.72% at 0.22 mg/mL.

Inter-day precision. The % RSD was 1.71% at the concentration 0.2 mg/mL and 1.41% at 0.22 mg/mL.

Limit of detection. The limit of detection (LOD) was calculated by the equation $LOD = 3.3 SD/s$, where s represents the slope of the calibration curve and SD the standard deviation of the peak area. The LOD amounted to 0.04 mg/mL of carfilzomib.

Limit of quantification. The limit of quantification (LOQ) was calculated by the equation $LOQ = 10 SD/s$, where s represents the slope of the calibration curve and SD the standard deviation of the peak area. The LOQ amounted to 0.13 mg/mL of carfilzomib.

Chemical stability of carfilzomib solutions

In the present study, a modified HPLC assay based on two known HPLC-methods^{6,7} was implemented and validated by using the medicinal product Kyprolis[®]. Results of the degradation tests proved the suitability of the method. The validation parameters met the criteria of ICH Q2 (R1).¹²

In samples taken from the carfilzomib solutions 2 mg/mL stored at room temperature, several peaks of degradation products were observed. These peaks matched with the peaks spotted during forced heat degradation. The peaks increased over the storage period of 28 days. The same degradation peaks got obvious in samples taken from reconstituted and diluted test solutions stored under refrigeration. Especially the degradation product eluted with the retention time 3.8 min (degradation product no. 3) explicitly increased over time (see Figure 5).

Measured concentrations of carfilzomib in the various test solutions are given in Tables 1 to 3.

In test solutions stored under refrigeration, carfilzomib concentrations were only slightly decreased at the end of the test period of 28 days independent from the concentration or type of primary container (Tables 1 and 2).

In reconstituted test solutions (2 mg/mL carfilzomib) stored at room temperature in plastic syringes, carfilzomib concentrations fell below 90% of the initial concentration from day 14 of storage onward (Table 1). Diluted test solutions (0.6 mg/mL, 0.8 mg/mL) were tested up to 10 days when stored at room temperature.

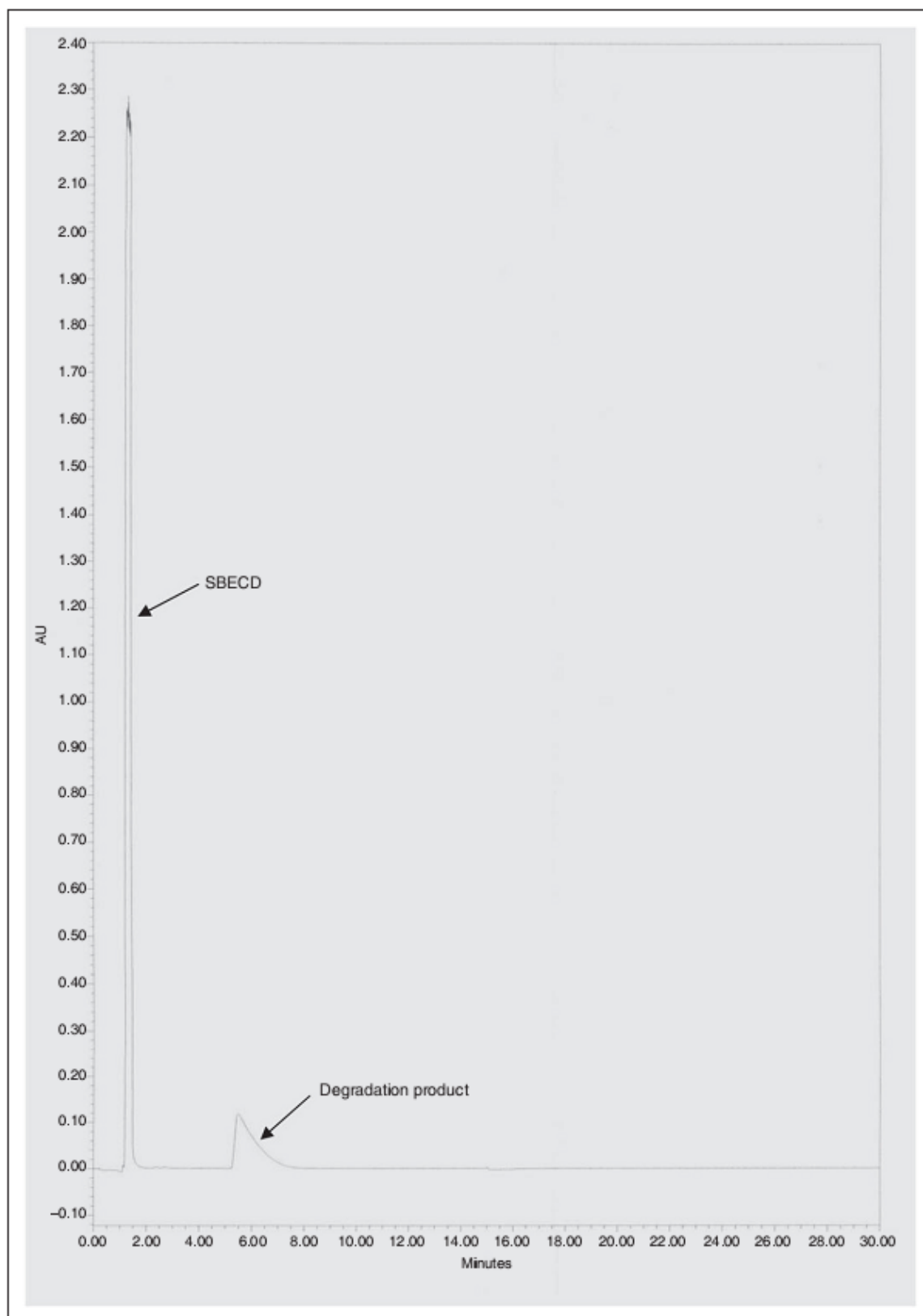


Figure 2. Representative HPLC-chromatogram of acidic degraded carfilzomib solution for infusion (Kyprolis®).

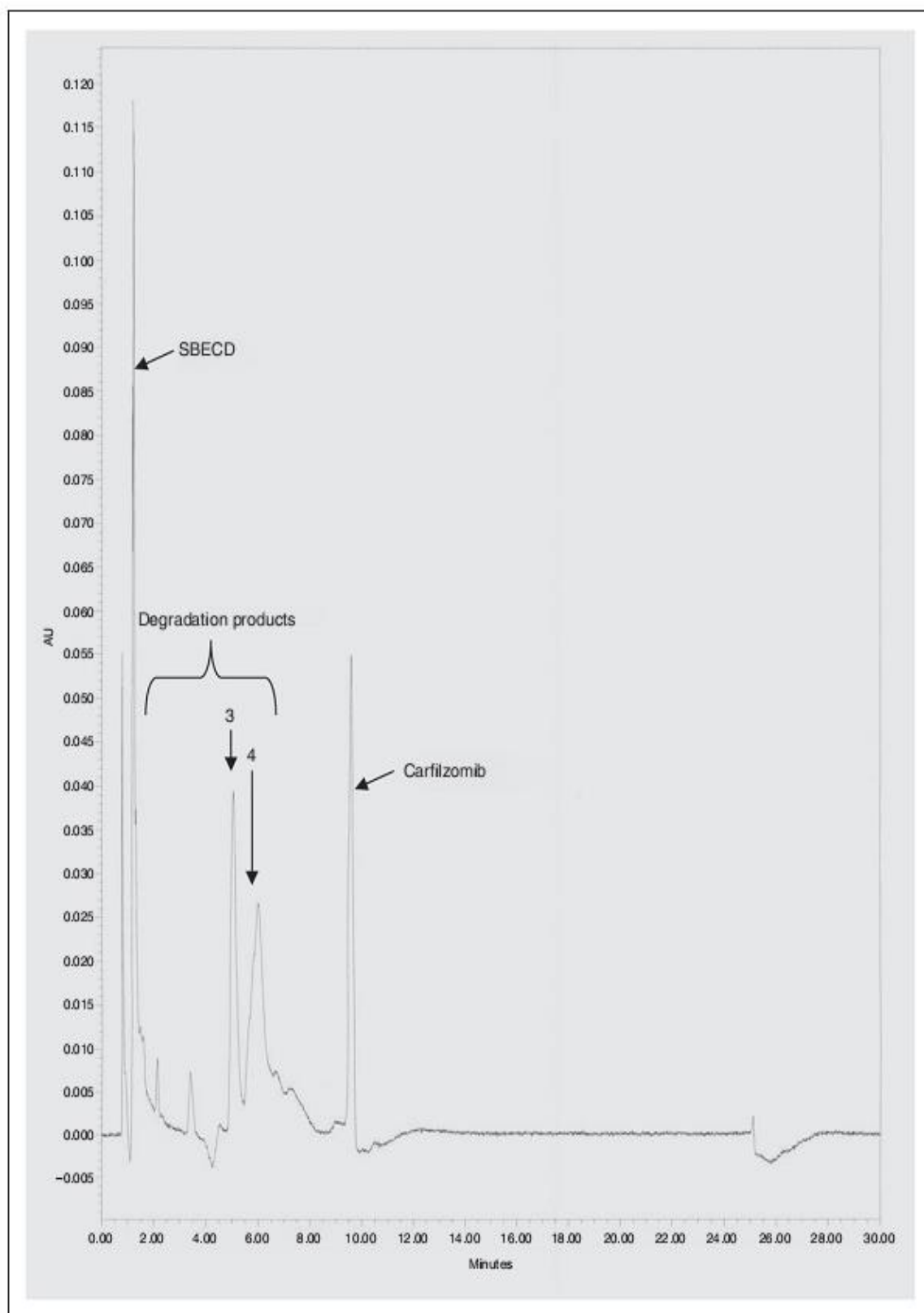


Figure 3. Representative HPLC-chromatogram of alkaline degraded carfilzomib solution for infusion (Kyprolis®).

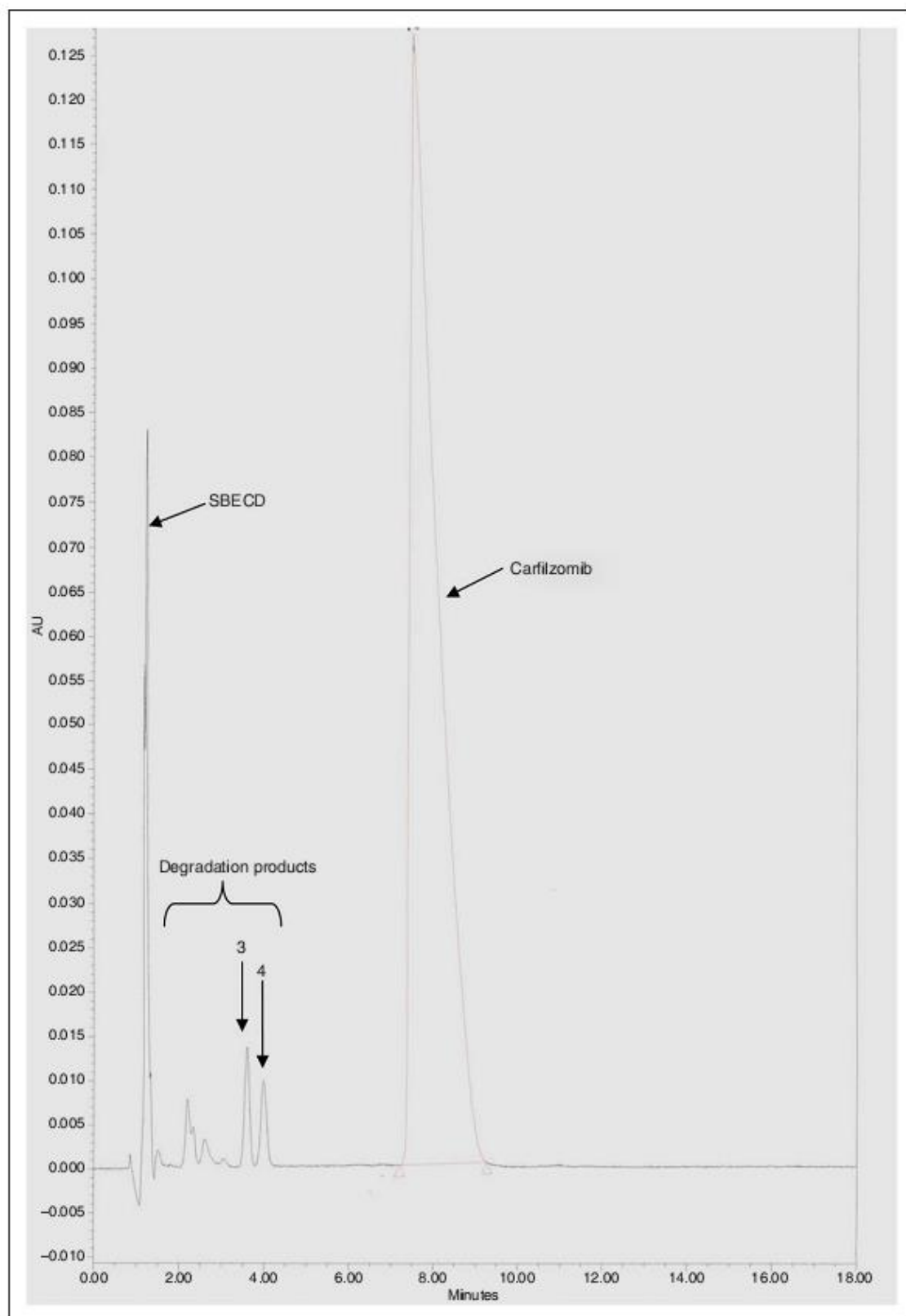


Figure 4. Representative HPLC-chromatogram of heat-degraded carfilzomib solution for infusion (Kyprolis®).

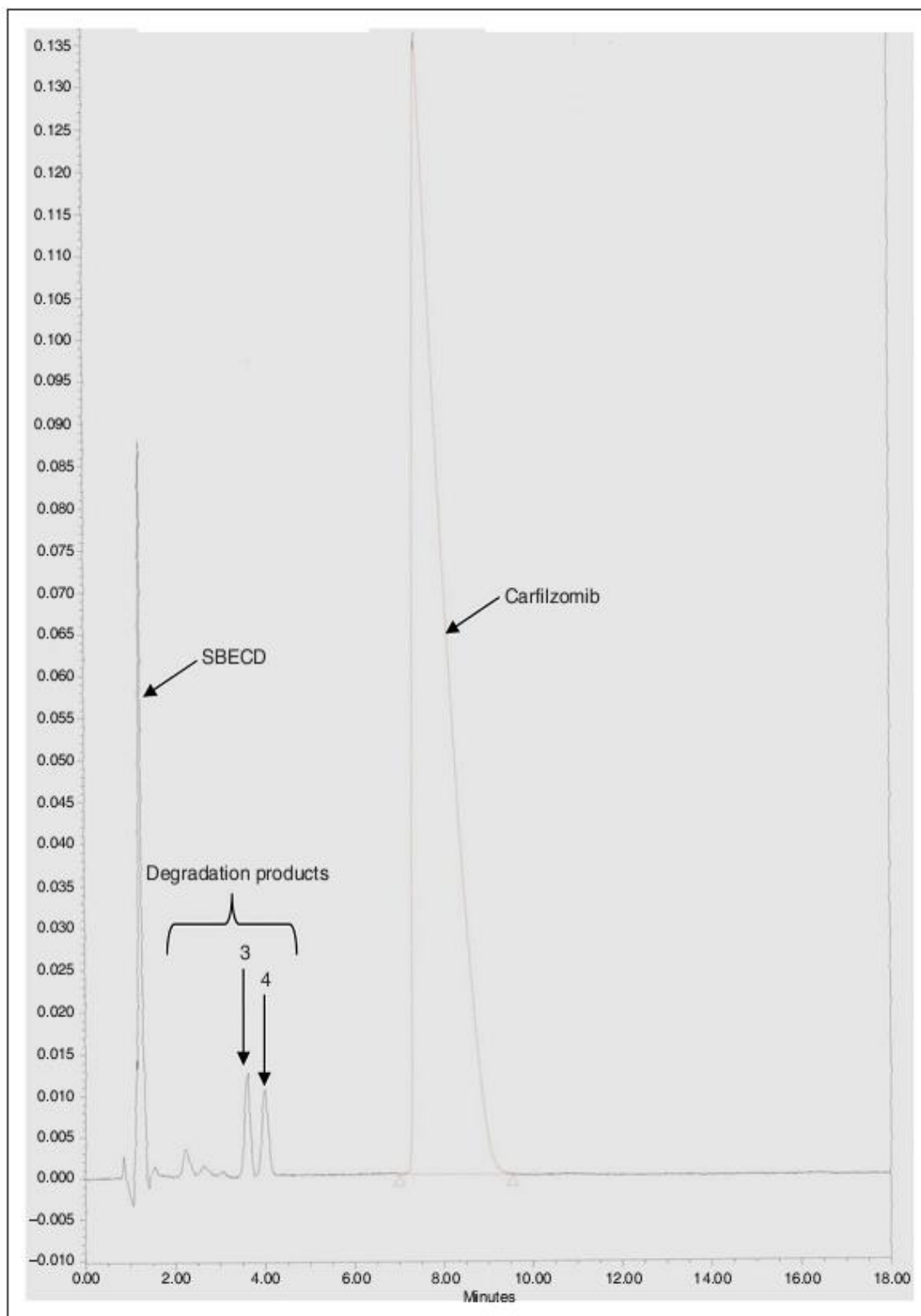


Figure 5. Representative HPLC-chromatogram of carfilzomib solution (Kyprolis®) 2 mg/mL after a 28-day storage period under refrigeration (2–8°C).

Table 1. Stability of reconstituted carfilzomib solutions in glass vials stored under refrigeration (2–8°C) and in plastic syringes stored at room temperature (25°C) over a period of 28 days.

Container material	Storage temperature	Drug concentration (mg/mL)		Percentage of initial concentration remaining $\pm$ relative SD					
		Nominal	Actual Day 0	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 14	Day 28
Glass vial	2–8°C	2.0	2.02 $\pm$ 0.3	101 $\pm$ 0.3	99.2 $\pm$ 0.2	100.4 $\pm$ 0.4	98.1 $\pm$ 0.2	99.2 $\pm$ 0.2	98.0 $\pm$ 0.5
Plastic syringe	25°C	2.0	2.03 $\pm$ 0.7	98.2 $\pm$ 0.7	97.2 $\pm$ 0.2	96.5 $\pm$ 0.5	95.5 $\pm$ 0.4	92.1 $\pm$ 0.4	87.4 $\pm$ 0.3

Note: Drug concentrations in samples taken at time zero were designated as 100%. Concentration expressed as mean $\pm$ relative standard deviation of triplicate assays of three test solutions ($n = 9$).

Carfilzomib concentrations remained above 95% of the initial concentration during this period (Table 3).

Physicochemical stability of carfilzomib solutions

No particulate matter and no color changes were observed over the period of 28 days. The mean pH values slightly varied in the reconstituted test solutions (Table 4) and in the ready-to-administer preparations stored in plastic syringes or PO bags as primary containers (Table 5) but remained in fact unchanged over the observation period of 28 days.

Discussion

Test solutions

Test solutions were prepared in order to simulate pharmacy-based preparation practice. Reconstituted Kyprolis[®] vials were stored refrigerated and aliquots withdrawn repeatedly. Re-puncturing of the vial stoppers was done more often than in daily practice thus representing an additional challenge. Furthermore, reconstituted test solutions were stored in 20 mL syringes at room temperature in order to determine the influence of temperature. According to the SmPC, carfilzomib should be administered by infusion and not by bolus injection.⁵ Diluted infusion solutions were studied using two different concentrations in different primary containers. In one scenario, the use of infusion bags filled with 5% dextrose as mentioned in the SmPC was simulated. In the other scenario, the use of 50 mL syringes as primary containers for administration with syringe pumps was simulated. Because of the short in-use stability of 4 h at 25°C and 24 h at 2–8°C given in the SmPC, we originally planned the sampling procedure in short intervals and preferred storage under refrigeration. However, the results of the experiments done with diluted solution in plastic syringes proved stability over the entire test period of 28 days. Therefore, we skipped sampling at 3, 6, 12 h of day 1, day 2, and day 4 during the experiments with diluted

solution in PO infusion bags. Having noticed the long-term stability of diluted carfilzomib infusion solutions, these solutions were further stored at room temperature for 10 days and analyzed.

HPLC method

The HPLC assay was adopted from published assays^{6,7} and revalidated with the formulated medicinal product in order to achieve valid results. The method revealed to be stability-indicating. In the resulting chromatograms, the sharp peak of carfilzomib (retention time of about 8.5 min) was clearly separated from the peak of SBECD (retention time 1.5 min) and the degradation products.

Impurity

In previous degradation studies of carfilzomib solutions, several degradation products were characterized.⁴ In the SBECD containing carfilzomib solution, the main degradation product corresponded to the hydrolysis product of the epoxide ring.⁴ In our studies with the formulated Kyprolis[®] product, peaks of degradation products especially got obvious when the test solution were stored at room temperature. The peak with the retention time of 3.8 min (degradation product 3 in Figure 5) clearly increased over the storage period and corresponds to the ring-open diol form.^{4,13,14} The presence of two separated peaks can be explained by the formation of two diastereomers.⁴ Toxicity of these degradation products is not expected.¹

Toxic halohydrin-type degradation products are formed by the reaction of the epoxide moiety with chloride ions. The chlorohydrin adduct is classified as alkylator and considered by the FDA to be a potentially genotoxic impurity.³ Therefore, 0.9% NaCl infusion solutions are to be avoided as vehicle solutions. This is also why nitric acid and not hydrochloric acid was chosen for the forced degradation experiments.

Table 2. Stability of diluted carfilzomib solutions in plastic syringes and PO infusion bags over a period of 28 days, stored under refrigeration (2–8°C).

Drug concentration [mg/mL]			% Initial concentration remaining $\pm$ relative SD										
Container material	Test solution	Actual	Day 0			Day 1 (24 h)							
			Nominal	Day 0		3h	6h	12h		Day 2	Day 3	Day 4	Day 5
Plastic syringe	1	0.76 $\pm$ 0.3	102.8 $\pm$ 0.1	103.1 $\pm$ 0.0	102.0 $\pm$ 0.1	102.8 $\pm$ 0.1	102.8 $\pm$ 0.1	103.3 $\pm$ 0.2	100.7 $\pm$ 0.1	100.7 $\pm$ 0.1	102.1 $\pm$ 0.1	100.3 $\pm$ 0.1	98.6 $\pm$ 0.0
	2	0.8	0.78 $\pm$ 0.1	100.7 $\pm$ 0.0	102.2 $\pm$ 0.0	99.7 $\pm$ 0.0	100.2 $\pm$ 0.0	100.3 $\pm$ 0.1	100.7 $\pm$ 0.0	99.7 $\pm$ 0.0	101.9 $\pm$ 0.1	99.3 $\pm$ 0.1	96.8 $\pm$ 0.0
	3		0.81 $\pm$ 0.1	97.4 $\pm$ 0.0	96.7 $\pm$ 0.1	98.3 $\pm$ 0.0	97.4 $\pm$ 0.0	97.7 $\pm$ 0.1	97.4 $\pm$ 0.0	97.7 $\pm$ 0.1	97.8 $\pm$ 0.0	97.0 $\pm$ 0.1	96.9 $\pm$ 0.0
PO infusion bag	1	0.60 $\pm$ 0.0				101.8 $\pm$ 0.1		100.5 $\pm$ 0.0		100.0 $\pm$ 0.0	100.5 $\pm$ 0.0	99.8 $\pm$ 0.0	96.9 $\pm$ 0.0
	2	0.6	0.61 $\pm$ 0.1	n.d.		102.5 $\pm$ 0.1	n.d.	102.3 $\pm$ 0.0	n.d.	100.8 $\pm$ 0.0	101.8 $\pm$ 0.0	101.3 $\pm$ 0.0	99.3 $\pm$ 0.1
	3		0.60 $\pm$ 0.0			102.0 $\pm$ 0.0		101.7 $\pm$ 0.1		101.0 $\pm$ 0.0	101.5 $\pm$ 0.0	100.6 $\pm$ 0.0	99.5 $\pm$ 0.0

Note: Concentration expressed as mean $\pm$ relative standard deviation of triplicate assays of one test solution ($n=3$). Drug concentrations in samples taken at time zero were designated as 100%.

SBECD excipient in the formulated medicinal product

Cyclodextrins, with lipophilic inner cavities and hydrophilic outer surfaces, are capable of interacting with a large variety of guest molecules to form non-covalent inclusion complexes.¹⁵ SBECD has been widely used as an excipient in parenteral solutions. It was selected by the manufacturer because it provides carfilzomib solubility, isotonicity and acts as a bulking agent in the lyophilized cake.¹ The combination of SBECD and the selected pH-range ensures acceptable solubility and stability of the reconstituted carfilzomib solution especially regarding the degradation of the epoxide group over time in aqueous solution.

Stability

In vials, syringes, and IV bags stored under refrigeration, Kyprolis[®] solution revealed to be physicochemical stable over the period of 28 days independent of initial carfilzomib concentration. Measured carfilzomib concentrations decreased only slightly and varied within the accuracy limits of the assay and dilution steps. A temperature-dependent difference in carfilzomib stability (refrigerated or room temperature) gets obvious after longer storage periods.

No significant changes of pH values were found in the experimental tests of reconstituted and diluted Kyprolis[®] solutions over the period of 28 days. The favorable target pH of 3.5 was achieved after reconstitution and retained after dilution with 5% dextrose as vehicle solution. Unchanged pH values confirm the stability of the carfilzomib/SBEC complex over the period of 28 days.

As carfilzomib is not photosensitive, light protection during storage is not mandatory, but light protected storage was chosen with an eye to daily practice.

Disposable plastic syringes and IV bags used as primary containers represent a source of leachables which can diffuse under certain solvent and storage conditions.¹⁶ Compounds leached into the product can affect the stability of the product and potentially increase the toxicological risk for the patient.¹⁶ However, determination of leachables was not in the scope of our study.

The present study has proven long-term physicochemical stability (28 days observation period) of Kyprolis[®] vials after first opening and ready-to-administer Kyprolis[®] preparations stored under refrigeration. Besides the physicochemical stability, microbiological stability is a crucial factor in assigning extended beyond-use-dates dates. Therefore, refrigeration of the preparations is recommended. Moreover, only if handling takes place under strict aseptic conditions, the

Table 3. Stability of diluted carfilzomib (Kyprolis®) containing solutions in plastic syringes and PO infusion bags over a period of 10 days, stored at room temperature (25°C).

Container material	Drug concentration (mg/mL)		Percentage of initial concentration remaining $\pm$ relative SD		
	Nominal	Actual Day 28	Day 31	Day 35	Day 38
Plastic syringe (n = 9)	0.8	0.76 $\pm$ 0.2	99.6 $\pm$ 0.2	98.2 $\pm$ 0.3	97.6 $\pm$ 0.4
PO infusion bag (n = 6)	0.6	0.58 $\pm$ 0.0	101.2 $\pm$ 0.0	100.1 $\pm$ 0.1	98.0 $\pm$ 0.1

Note: Concentration expressed as mean $\pm$ relative standard deviation (SD) of triplicate assays of test solutions. Drug concentrations in samples taken at time zero were designated as 100%

Table 4. pH values of reconstituted carfilzomib solutions 2 mg/mL under different storage conditions.

Storage temperature	pH values (mean $\pm$ standard deviation)						
	Day 0	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 14	Day 28
25°C	3.58 $\pm$ 0.01	3.60 $\pm$ 0.01	3.61 $\pm$ 0.01	3.64 $\pm$ 0.01	3.51 $\pm$ 0.01	3.53 $\pm$ 0.03	3.55 $\pm$ 0.04
2–8°C	3.57 $\pm$ 0.01	3.59 $\pm$ 0.01	3.64 $\pm$ 0.01	3.64 $\pm$ 0.02	3.53 $\pm$ 0.02	3.54 $\pm$ 0.01	3.57 $\pm$ 0.01

Note: pH values expressed as mean $\pm$ standard deviation of triplicate measurements of three test solutions (n = 9).

Table 5. pH values of carfilzomib infusion solutions in ready-to-administer plastic syringes (0.8 mg/mL) or infusion bags (0.6 mg/mL), stored under refrigeration (2–8°C).

Storage temperature	Test solution container material	pH values (mean $\pm$ standard deviation)						
		Day 0	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 14	Day 28
2–8°C	Plastic syringe 0.8 mg/mL	3.50 $\pm$ 0.01	3.49 $\pm$ 0.02	3.54 $\pm$ 0.02	3.65 $\pm$ 0.02	3.62 $\pm$ 0.02	3.69 $\pm$ 0.01	3.59 $\pm$ 0.02
	PO infusion bag 0.6 mg/mL	3.59 $\pm$ 0.02	3.61 $\pm$ 0.01	3.65 $\pm$ 0.01	3.65 $\pm$ 0.01	3.55 $\pm$ 0.01	3.54 $\pm$ 0.01	3.58 $\pm$ 0.01

Note: pH values expressed as mean $\pm$ standard deviation of triplicate measurements of three test solutions (n = 9).

prolonged use of these solutions can be recommended. Material and treatment expenses can be reduced because the remaining reconstituted solutions can be depleted and are not to be discarded.

Conclusion

Reconstituted carfilzomib containing parenteral solutions are stable in glass vials after first opening and plastic syringes as well as diluted infusion solutions in plastic syringes and PO infusion bags over a period of at least 28 days when stored light protected under refrigeration (2–8°C). When stored at room temperature (25°C), reconstituted and diluted carfilzomib solutions are physicochemically stable over 14 days and 10 days, respectively. For microbiological reasons, storage under refrigeration is recommended. The given physicochemical stability of carfilzomib

infusion solutions allows cost-saving pharmacy-based centralized preparation of ready-to-administer preparations.

Acknowledgements

Kyprolis® 60 mg vials were provided by Amgen GmbH, Germany.

Declaration of Conflicting Interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The author(s) disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

References

1. EPAR. Kyprolis, INN-carfilzomib-EMA, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003790/WC500197692.pdf (2016, accessed 1 January 2017).
2. Dou QP and Zonder JA. Overview of proteasome inhibitor-based anti-cancer therapies: perspective on bortezomib and second generation proteasome inhibitors versus future generation inhibitors of ubiquitin-proteasome system. *Curr Cancer Drug Targets* 2014; 14: 517–536.
3. Lewis E, Schwonek P, Dalziel S, et al. Cyclodextrin complexation methods for formulating peptide proteasome inhibitors. *Patent Application, USA*, <http://www.freshpatents.com/-dt20150423ptan20150111838.php> (2015, accessed 1 January 2017).
4. Sestak V, Roh J, Klepalova L, et al. A UHPLC-UV-QTOF study on the stability of carfilzomib, a novel proteasome inhibitor. *J Pharm Biomed Anal* 2016; 124: 365–373.
5. SmPC. Kyprolis, http://pi.amgen.com/~media/amgen/repositories/pi-amgen-com/kyprolis/kyprolis_pi.ashx (2016, accessed 1 January 2017).
6. Hayes ME, Noble CO and Szoka FC Jr. Remote loading of sparingly water-soluble drugs into liposomes. *Patent Application, USA*, <http://www.freshpatents.com/-dt20140807ptan20140220111.php> (2014, accessed 1 January 2017).
7. Garg A, Le H-T, Gao D, et al. Effect of captisol and pH on the stability of carfilzomib (CFZ) in drug product under oxidative degradation, <http://abstracts.aaps.org/Verify/AAPS2015/PosterSubmissions/W5165.pdf> (accessed 1 January 2017).
8. Product Specification. 20 mL BD Luer-Lok™ tip syringe, <http://catalog.bd.com/nexus-ecat/getProductDetail?productId=302830&parentCategory=1204&parentCategoryName=Syringes&categoryId=1218&categoryName=General%20Use%20Syringes&searchUrl=> (accessed 1 January 2017).
9. Product Specification. Original-Perfusor®-Spritze, <https://www.bbraun.de/de/products/b0/original-perfusor-spritzen50ml.html> (accessed 1 January 2017).
10. Product Specification. Freeflex® 250 mL dextrose, http://www.freseniuskabi-productpartnering.com/files/Factsheet_5_Freeflex.pdf (accessed 1 January 2017).
11. Product Specification. Injekt®-F, <http://www.bbraun.at/cps/rde/xchg/cw-bbraun-de-at/hs.xsl/products.html?prid=PRID00000579> (accessed 1 January 2017).
12. ICH. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1), http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf (1996, accessed 1 January 2017).
13. Wang Z, Yang J, Kirk C, et al. Clinical pharmacokinetics, metabolism, and drug-drug interaction of carfilzomib. *Drug Metab Dispos* 2013; 41: 230–237.
14. Yang J, Wang Z, Fang Y, et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, metabolism, distribution, and excretion of carfilzomib in rats. *Drug Metab Dispos* 2011; 39: 1873–1882.
15. Challa R, Ahuja A, Ali J, et al. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. *AAPS Pharm Sci Technol* 2005; 6: E329–E357.
16. Trittler R, Hauck A and Hug MJ. Leachables /extractables in der aseptischen Produktion in Krankenhausapotheken. *Krankenhauspharmazie* 2016; 37: 479–484.

2.3 Physikalisch-chemische Stabilität von Decitabin

2.3.1 Decitabin – ein DNA-Methyltransferase-Inhibitor

Akute myeloische Leukämie

Die AML kann in jedem Lebensalter auftreten, die Inzidenz steigt allerdings mit dem Alter (3). Charakteristisch ist die Vielzahl unreifer myeloischer Vorläuferzellen im Knochenmark. Diese sogenannte Blasten vermehren sich sehr schnell und schränken die normale Blutbildung ein. Verschiedene Symptome wie z. B. Abwehrschwäche, Atemnot und Anämie können auftreten. Da AML innerhalb weniger Monate zum Tod führen kann, ist nach Diagnosestellung schnellstmöglich die Behandlung einzuleiten. Klinisch werden AML und MDS durch die Blastenzahl (20%) abgegrenzt. Mit Bezug auf die zugelassene Indikation von 5-Azacytidin (Vidaza®) werden Patienten mit bis 30% Blasten oft weiterhin dem MDS zugeordnet (39, 40).

Therapie der AML

Der natürliche Verlauf der AML führt fünf Monate nach den ersten Symptomen bei der Hälfte der Patienten zum Tode. Erst nach Einführung intensiver Chemotherapien mit Cytarabin und anderen Antimetaboliten wurden komplette Remissionen und Langzeiterfolge erreicht. Bei Patienten unter 60 Jahren liegen die Raten kompletter Remissionen inzwischen bei über 70%, die Rate anhaltender Remissionen nach fünf Jahren über 30%. Die Heilungsrate kann durch Konsolidierung mit allogener SZT weiter gesteigert werden (41).

Insgesamt besteht die Chemotherapie in kurativer Intention aus insgesamt vier bis fünf intensiven Therapiekursen. Die Induktionstherapie dient der deutlichen Reduktion der Tumorlast und damit dem Erreichen einer kompletten Remission. Das Ziel der Konsolidierungstherapie ist es, ein Rezidiv der AML dauerhaft zu verhindern.

Weniger effektiv ist die intensive Chemotherapie bei Patienten über 60 Jahren. Die Rate kompletter Remissionen liegt bei etwa 50%, die Rate anhaltender Remissionen bei 15% (40). Zu beachten ist auch die unter der intensiven Chemotherapie erhöhte therapieassoziierte Mortalität bei älteren und komorbiden Patienten.

Die Therapie der AML sollte möglichst immer an einem hämatologisch-onkologisch erfahrenen Zentrum erfolgen. Nicht selten sind die Patienten in Therapiestudien einge-

schlossen. Die Therapiekonzepte können daher im Einzelnen voneinander abweichen.

Wirkung von Decitabin

Decitabin ist ein DNA-hypomethylierender Wirkstoff. Es gehört chemisch zur Gruppe der Pyrimidin-Analoga und ist somit verwandt mit 5-Azacytidin (Vidaza®). Der wesentliche pharmakologische Wirkmechanismus ist die Hemmung der DNA-Methyltransferase mit DNA-Hypomethylierung und zytotoxischen Effekten aber auch die Induktion von Differenzierung und Apoptose (42). Die antineoplastische Wirkung ist dosisabhängig (43). Bemerkenswert ist, dass die Hypomethylierung nicht auf einen Zellzyklus beschränkt ist, sondern auch nach mehreren Zellzyklen bestehen bleibt (44).

Im Fertigprodukt Dacogen® ist der Wirkstoff als lyophilisiertes Pulver enthalten. Dacogen® ist zugelassen zur Behandlung erwachsener Patienten ab einem Alter von 65 Jahren mit neu diagnostizierter de novo oder sekundärer AML gemäß WHO- Klassifikation für die eine Standard-Induktionstherapie nicht in Frage kommt (42). Die Zulassung basiert auf der AML-Studie (DACO-016), an der 485 Patienten teilnahmen (45). Die Behandlung mit Decitabin führte zu einer signifikanten Verbesserung der Remissionsrate im Vergleich zur Therapie mit Cytarabin und supportiver Therapie. Die Überlebenszeit verlängerte sich um 2,7 Monate. Die Therapieergebnisse sind bei Patienten mit AML und MDS vergleichbar. Auch hier wurden Remissionsraten von 15-20% erreicht. Die progressionsfreie Überlebenszeit wurde in einer europäischen Studie mehr als verdoppelt (45).

Während eines Behandlungszyklus wird Dacogen® als intravenöse Infusion täglich über eine Stunde in einer Dosis von 20 mg/m² KOF an fünf aufeinanderfolgenden Tagen appliziert. Die Tagesmaximaldosis von 20 mg/m² KOF sowie die Gesamtdosis pro Behandlungszyklus von 100 mg/m² KOF darf nicht überschritten werden. Es wird eine Behandlungsdauer von mindestens vier Behandlungszyklen empfohlen (42).

Herstellung von Dacogen®-Zubereitungen

Die physikalisch-chemische Instabilität von Azanucleosid-Analoga ist bekannt (46, 47). Laut der Fachinformation sollte die mit 10 ml sterilem Wasser für Injektionszwecke rekonstituierte Stammlösung innerhalb von 15 Minuten mit Infusionslösungen verdünnt werden. Die zubereitete, verdünnte Infusionslösung kann vor der Gabe für maximal eine Stunde bei RT (20-25 °C) aufbewahrt werden. Falls die Gabe nicht innerhalb von einer

Stunde vorgesehen ist, muss das Konzentrat innerhalb von 15 Minuten nach Rekonstitution mit vorgekühlten (2-8 °C) Infusionsflüssigkeiten verdünnt werden. Die verdünnte Infusionslösung kann gekühlt für maximal drei Stunden und anschließend für maximal eine Stunde vor der Gabe bei RT gelagert werden (48). Der für die Herstellung zuständige Apotheker trägt die Verantwortung, die empfohlenen Aufbewahrungszeiten und -bedingungen einzuhalten und sicherzustellen, dass die Rekonstitution unter aseptischen Bedingungen erfolgt.

Gegenstand der nachfolgend in Form einer veröffentlichten Originalpublikation dargestellten Studie war die Bestimmung der physikalisch-chemischen Stabilität von mit kaltem Lösungsmittel rekonstituierten Decitabin-haltigen Lösungen und applikationsfertigen Zubereitungen in PE/PP-Infusionsbeuteln über einen Zeitraum von maximal 48 Stunden. Darüberhinaus wurde die Langzeitstabilität von eingefrorenen (-25 °C) rekonstituierten Dacogen®-Lösungen in Plastik-Einmal-Spritzen als Primärbehältnis über einen Zeitraum von 28 Tagen untersucht.

2.3.2 Physicochemical stability of reconstituted Decitabine (Dacogen®) solutions and ready-to-administer infusion bags when stored refrigerated or frozen

Sun Hee Kim*, Rita Marina Heeb and Irene Krämer

Physicochemical Stability of Reconstituted Decitabine (Dacogen®) Solutions and Ready-to-Administer Infusion Bags when Stored Refrigerated or Frozen

<https://doi.org/10.1515/pthp-2017-0025>

Received August 28, 2017; revised October 16, 2017; accepted October 23, 2017

Abstract

Background: Profound knowledge about the physicochemical stability is necessary in order to determine the “beyond-use-dates” of ready-to-administer preparations after reconstitution and dilution. This is especially true for unstable azanucleoside drugs like decitabine. The aim of this study was to determine the physicochemical stability of decitabine after reconstitution and dilution of Dacogen® 50 mg lyophilized powder. Decitabine concentration of Dacogen® powder reconstituted with cold water for injections (5 mg/mL) has been determined after storage in the original vials under refrigeration for 48 hours and in single use syringes in a freezer at –25 °C for 28 days. Concentration of diluted decitabine infusion solutions (0.5 mg/mL) prepared in prefilled 0.9 % NaCl polyolefine (PO) infusion bags has been determined after storage under refrigeration (2–8 °C) for 48 hours.

Methods: To determine the stability of frozen Dacogen® solutions the powder was reconstituted with 10 mL of cold (2–8 °C) sterile water for injections, transferred into 1 mL plastic polycarbonate (PC)/polypropylene (PP) syringes and stored at –25 °C. Decitabine concentrations were determined on day 0, 22 and 28 after thawing at room temperature immediately before assaying. In parallel, pH-values were determined.

To determine the stability of reconstituted Dacogen® 50 mg powder in the original glass vials, three Dacogen® 50 mg vials were aseptically reconstituted with 10 mL of cold sterile water. The reconstituted solutions were stored under refrigeration and decitabine

concentrations were determined at 0, 3, 7, 12 and 24 hours after reconstitution. The pH-values were determined at 0, 7 and 24 hours.

Diluted Dacogen® test solutions were aseptically prepared by adding 2 mL of the reconstituted Dacogen® solution from each of the three vials to 18 mL cold (2–8 °C) 0.9 % NaCl solution in prefilled multi-layer PO infusion bags of the nominal value 50 mL. Test solutions of the nominal concentration 0.5 mg/mL were stored under refrigeration.

Decitabine concentrations were determined at 0, 5, 8, 12, 24 and 48 hours after preparation. The pH-values were determined at 0, 8, 24 and 48 hours. Each sample was assayed by a validated stability-indicating reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) assay with photodiode array detection.

Results: When test solutions of reconstituted Dacogen® solution were stored frozen at –25 °C, decitabine concentrations decreased less than 2% and no degradation products were detected in the HPLC chromatograms over the storage period of 28 days.

In reconstituted test solutions in glass vials and in diluted test solutions in infusion bags stored under refrigeration decitabine concentrations remained above 90% of the initial concentration for 12 hours and 24 hours, respectively. Several peaks of degradation products were observed which explicitly increased over time.

In all test solutions the pH-values amounted to pH 7 and remained unchanged. No particulate matter and no colour changes were observed over the test period.

Conclusions: Reconstituted decitabine solution (Dacogen® 50 mg powder) stored in 1 mL PC/PP syringes and frozen at –25 °C is physicochemically stable for at least 28 days. Decitabine solution in glass vials after reconstitution with cold sterile water for injections and in PO infusion bags after dilution with cold 0.9 % NaCl solution and stored under refrigeration is physicochemically stable for approximately 12 hours and 24 hours, respectively. The results of our study facilitate the preparation of Dacogen® powder in pharmacy based centralized preparation units.

*Corresponding author: Sun Hee Kim, Department of Pharmacy, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg-University, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, Germany, E-mail: sunhee.kim@unimedizin-mainz.de

Rita Marina Heeb, Irene Krämer, Department of Pharmacy, University Medical Center Mainz, Johannes Gutenberg-University, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, Germany, E-mail: rita_marina.heeb@unimedizin-mainz.de; irene.kraemer@unimedizin-mainz.de

Keywords: decitabine, physicochemical stability, reconstitution, ready-to-administer infusion bag, reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC)

Introduction

Dacogen® 50 mg powder for concentrate for solution for infusion containing decitabine as active pharmaceutical ingredient is indicated for the treatment of adult patients with newly diagnosed de novo or secondary acute myeloid leukaemia (AML), who are not candidates for standard induction chemotherapy [1]. Recent clinical evidence has shown it to be effective in producing remissions lasting several months or disease stabilization in a subset of this population [2].

The azanucleoside derivatives decitabine (5-aza-2'-deoxycytidine, NSC 127716) and azacytidine (5-azacytidine, NSC 102816, marketed as Vidaza®), are analogues of the natural nucleoside 2'-deoxycytidine (chemical structures compare Figure 1). Decitabine exerts its antineoplastic effects after phosphorylation and direct incorporation into DNA and inhibition of DNA methyltransferase, causing hypomethylation of DNA and cellular differentiation or apoptosis. Aberrant DNA hypermethylation in the promoter regions of certain genes, such as tumor-suppressor genes, and their consequent silencing is a characteristic of leukemias and myelodysplastic syndromes (MDS) [3]. Decitabine-induced hypomethylation in neoplastic cells may restore normal function to genes that are critical for the control of cellular differentiation and proliferation. In rapidly dividing cells, the cytotoxicity of decitabine may also be attributed to the formation of covalent adducts between DNA methyltransferase and decitabine incorporated into DNA [1].

Each single-use vial of Dacogen® 50 mg contains decitabine as sterile lyophilized powder. Potassium dihydrogen phosphate (E340), sodium hydroxide (E524) and hydrochloric acid for pH-adjustment (target pH=6.7 to 7.3) are used as excipients. Decitabine is sparingly soluble in water. Compatibility of the reconstituted solution with 0.9 % sodium chloride (0.9 % NaCl) or 5 % dextrose solutions for injection in infusion bags and typical infusion systems (syringe, infusion sets) is given. Control of leachables is not required. Light protection during handling and administration is not necessary [1].

According to the SmPC, last updated in 2017, 50 mg Dacogen® powder has to be reconstituted with 10 ml of sterile water for injections. The concentrated solution (5 mg/mL) must be further diluted with cold (2–8 °C) vehicle solutions within a period of 15 minutes. The diluted infusion solutions can be stored at 2–8 °C for maximum 3 hours, followed by up to 1 hour at room temperature (RT, 20–25 °C) before administration over 3 hours [4]. In the earlier SmPC version, published in 2012, cold Ringer's lactate solution was also mentioned as vehicle solution and a longer stability period was indicated for the diluted infusion solutions (compare Table 1). In the FDA approved prescribing information of Dacogen® for injection 0.9 % NaCl, 5 % dextrose or Lactated Ringer's Injection are recommended as vehicle solutions and once more different stability information is indicated (compare Table 1) [5]. According to the manufacturer, decitabine exhibits 2 % loss in 15 min and 5–6 % loss in 45 minutes in reconstituted solutions (5 mg/mL) when stored at RT [6]. Decitabine losses in diluted infusion solutions amount to 8–9 % over a 3 hour period when stored at RT and about 2 % over a period of 7 hours when stored under refrigeration [6]. In the latter case during subsequent administration at RT

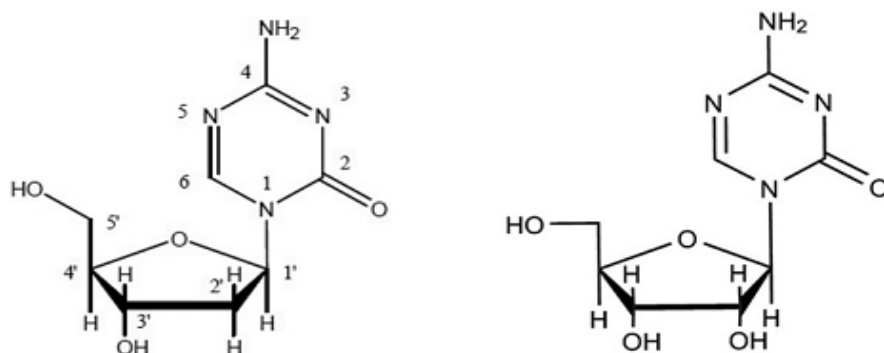


Figure 1: Chemical structure of decitabine (NSC 127716, 5-aza-2'-deoxycytidine) (left) and azacytidine (NSC 102816, 5-azacytidine) (right).

Table 1: Stability information of Dacogen® powder after reconstitution and dilution.

Reference	Reconstituent	Vehicle solution	Decitabine concentration in diluted solutions	Stability of reconstituted Dacogen® solution	Stability of diluted Dacogen® solution
SmPC (EMA, 2017)	10 mL of sterile water for injections	Cold (2–8 °C) 0.9 % NaCl or 5 % dextrose solutions	0.1–1.0 mg/mL	15 min	Max 3 hours at 2–8 °C, followed by up to 1 hour at RT (20–25 °C) before administration
SmPC (EMA, 2012)	10 mL of sterile water for injections	Cold (2–8 °C) 0.9 % NaCl, 5 % dextrose or Ringer's lactate solutions	0.1–1.0 mg/mL	15 min	Max 7 hours at 2–8 °C, followed by up to 2 hours at RT (20–25 °C) before administration
Prescribing information (FDA, 2006)	10 mL of Sterile Water for Injection (USP)	Cold (2–8 °C) 0.9 % NaCl, 5 % dextrose or lactated Ringer's injection	0.1–1.0 mg/mL	15 min	Max 7 hours at 2–8 °C (36°F - 46°F), until administration
Fernández-Ginés et al. (2017)	10 mL of sterile water for injections	Not applicable	Not applicable	7 hours at (4 ± 2 °C)	Not applicable
Patel (2006)	10 mL of Sterile Water for Injection (USP)	0.9 % NaCl, 5 % dextrose and lactated Ringer's solution at RT	0.1 and 1.0 mg/mL	1 hour at RT	3 hours at RT
		Cold (2–8 °C) 0.9 % NaCl, 5 % dextrose and lactated Ringer's solution	0.1 and 1.0 mg/mL		10 hours (7 hours refrigerated and 3 hours at RT)

over 3 hours the decitabine concentration remained at or above 92 % [6].

By a literature research two poster presentations regarding the stability of Dacogen® preparations were identified [7, 8]. Patel studied the stability of reconstituted Dacogen® powder stored at RT and diluted solutions (0.1 and 1.0 mg/mL) using either vehicle solutions stored at RT or prechilled (2–8 °C) [8]. More recently the stability of reconstituted Dacogen® powder stored refrigerated in polyethylene (PE) syringes and determined by a nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) spectroscopy assay was presented [7]. The currently available stability information regarding Dacogen® preparations is compiled in Table 1.

The storage periods of maximum 15 minutes and 4 hours indicated in the SmPC by the manufacturer obstruct the centralized aseptic preparation of ready-to-administer Dacogen® containing parenteral solutions. Extended in-use-stability data could improve the feasibility and efficiency of pharmacy based aseptic preparation. The purpose of this study is to determine the physicochemical stability of Dacogen® powder for concentrate for solution for infusion after reconstitution in the original vials and in single-use plastic syringes as primary containers. Furthermore, the impact of using prechilled water for injections for reconstitution and storage of reconstituted Dacogen® solution at decreased

temperatures (– 25 °C) over a period of 28 days has been investigated. Diluted infusion solutions has been prepared in prefilled 0.9 % sodium chloride infusion bags, stored under refrigeration (2–8 °C) and physicochemical stability determined over a period of 48 hours.

Chemical stability of decitabine was determined with a stability-indicating reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) assay based on the known method published by Yuan et al. [9]. Physicochemical stability was determined by visual inspection as well as pH measurement of the products.

Materials and methods

Stability of frozen Dacogen® test solutions

One vial of commercially available Dacogen® 50 mg powder for concentrate for solution for infusion, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, DE (lot-no.: GEZTJ00 (30th April 2019)) was reconstituted with 10 mL of cold (2–8 °C) sterile water for injections (lot-no.: 20170117–01, in-house production, UM Mainz, DE) using cannulas (BD MicrolanceTM) and 10 mL 3-piece plastic syringes (BD PlastipakTM 10 mL Luer-LokTM syringe). The barrel and the plunger of the used 10 mL syringes are made of polypropylene (PP) and siliconized

[10]. Nine test solutions were prepared by withdrawing 1 mL aliquots of the reconstituted solution with cannulas into 1 mL 3-piece plastic syringes (BD 1 mL syringe Luer-Lok™ Tip). The barrel of the 1 mL Luer-Lock syringes is made of polycarbonate (PC) and the plunger is made of PP [10]. The syringes were capped with Luer lock combi-stoppers made of PE (lot-no. 17D01A8171, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, DE). Six syringes were immediately frozen and stored at -25°C . From the remaining three syringes 100 μL aliquots were withdrawn and diluted with 900 μL cold water HPLC grade (lot-no.: 7T012578, AppliChem GmbH, Darmstadt, DE) and assayed immediately. On day 22 and 28 of storage three syringes each were thawed at RT (25°C) for 5 minutes and diluted aliquots were assayed immediately. The pH-values were determined in each test solution prepared on day 0 or thawed on day 22 and 28.

Stability of reconstituted and diluted Dacogen® solutions

Preparation of test solutions

In order to determine the stability of reconstituted Dacogen® 50 mg powder in the original glass vials, three Dacogen® 50 mg vials (lot-no.: GEZTJ00 (30th April 2019)) were aseptically reconstituted with 10 mL of cold ($2-8^{\circ}\text{C}$) sterile water for injections (lot-no.: 20170117-01) using cannulas (BD Microlance™3) and 10 mL 3-piece plastic syringes (BD Plastipak™ 10 mL Luer-Lok™ syringe). The reconstituted solutions were stored light protected under refrigeration ($2-8^{\circ}\text{C}$). Diluted Dacogen® test solutions were aseptically prepared by adding 2 mL of the reconstituted Dacogen® solution from each of the three vials to 18 mL cold ($2-8^{\circ}\text{C}$) 0.9 % NaCl solution in prefilled multi-layer polyolefine (PO) infusion bags of the nominal value 50 mL (lot-no.: 13KMS171, Isotonische Kochsalzlösung freeflex®, Fresenius SE & Co, Bad Homburg von der Höhe, DE). Prior to the addition, superfluous vehicle solution was withdrawn and discarded. The diluted test solutions in infusion bags of the nominal concentration 0.5 mg/mL were stored under refrigeration ($2-8^{\circ}\text{C}$) and light protection.

Sample preparation

Samples of the reconstituted solutions were taken immediately after reconstitution and after 3, 7, 12 (day 0) and 24 hours (day 1). At each predetermined interval 0.2 mL

aliquots were withdrawn from each vial in triplicate using cannulas and 1 mL 3-piece plastic syringes (BD 1 mL syringe Luer-Lok™ Tip). Between sampling intervals the vial stoppers were covered with a plastic film, consisting of paraffin wax and PO (ParafilmM®, Bemis Company, Neenah, Wisconsin, US). The aliquot syringes were capped with Luer lock combi-stoppers, immediately frozen and stored at -25°C . On the date of analysis each sample was thawed at RT (25°C) for 5 minutes. Aliquots of 100 μL reconstituted Dacogen® solution (5 mg/mL decitabine) were withdrawn and mixed with 900 μL cold ($2-8^{\circ}\text{C}$) water HPLC grade (lot-no.: 7T012578, AppliChem GmbH, Darmstadt, DE) to achieve a concentration of 0.5 mg/mL decitabine (one dilution step) and directly assayed. At hour 0, 7 and 24 one additional sample was withdrawn and the pH-value determined.

Samples of the diluted test solutions were taken immediately after preparation and after 5, 8, 12 (day 0), 24 (day 1) and 48 hours (day 2). At each predetermined interval 1 mL aliquots were withdrawn in triplicate from each bag using cannulas and 1 mL 3-piece plastic syringes. Samples were immediately frozen, stored and thawed prior to analysis in the same manner as samples of reconstituted solutions. 10 μL aliquots were immediately assayed without further dilution step. After 0, 8, 24 and 48 hours one additional sample was withdrawn and the pH-values were determined.

Each sample was assayed once by a validated stability-indicating reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) assay with photodiode array detection (PDA) to analyze the concentration and purity of decitabine. Whenever samples were taken the vials and syringes were visually checked for colour changes or particulate matter.

Determination of the chemical stability

HPLC Assay

The HPLC system consisted of a Waters Alliance 2695 pump and a Waters photodiode array detector 996 (Waters, Eschborn, DE). The Waters Empower Pro, Empower Build 1154 Software, version 5.00.00.00 (Waters, Eschborn, DE) was used for data evaluation.

The separation was performed with a C18 column (Kromasil C18, 250 mm x 4.6 mm, 5 μm , lot-no.: 27161926/27161920/27142515, MZ-Analysentechnik GmbH, Mainz, DE), which was maintained at 25°C . The mobile phase consisted of 98% 0.01 molar buffer solution

pH = 6.0 (dipotassium hydrogen phosphate (lot-no.: 0000715183, AppliChem, Darmstadt, DE) water HPLC grade (lot-no.: 7T012578, AppliChem GmbH, Darmstadt, DE) and hydrochloric acid 1 mol/L Titrisol® (lot-no.: HC562719, Merck, Darmstadt, DE)) and 2% acetonitrile optigrade (lot-no.: SZBG279A, Sigma-Aldrich, Steinheim, DE). The overall run time was 13 minutes with a flow rate of 1.8 mL/min. 10 µL samples were injected by an autosampler. The flushing solution consisted of 95% water HPLC grade and 5% acetonitrile optigrade.

The detection wave length was set at 240 nm. The identity of the decitabine peak was confirmed by concentration dependent peak area and PDA-chromatograms (Figure 2).

Validation of the RP-HPLC assay

The method was validated on the basis of the ICH Q2 (R1) Guidelines [11] for stability studies and followed as far as technically feasible.

Suitability

Suitability of the HPLC method was proven by analyzing "heat" degraded samples of reconstituted Dacogen® 50 mg powder for concentrate for solution for infusion solutions. The reconstituted solution with nominal concentration of 5 mg/mL was diluted with water HPLC grade

to achieve the concentration of 1 mg/mL decitabine and stored at RT over 30 hours.

Linearity

In order to study the linearity of the assay standard concentrations ($n=7$) were prepared by diluting reconstituted Dacogen® solution with cold (2–8 °C) water HPLC grade to achieve the following concentrations: 0.75 mg/mL, 0.6 mg/mL, 0.55 mg/mL, 0.5 mg/mL, 0.45 mg/mL, 0.4 mg/mL, 0.25 mg/mL.

Three test solutions were prepared per concentration. Each test solutions was immediately frozen at –25 °C, thawed at RT (25 °C) and directly assayed. Aliquots of the calibration standards were injected once. The line of best fit was constructed by analyzing plots of peak area versus the nominal decitabine concentrations.

Accuracy

Accuracy was evaluated with two different concentration levels (100 %: 1 mg/mL and 80%: 0.8 mg/mL) and 12-fold injection.

1 mg and 0.8 mg decitabine (5-aza-2'-deoxycytidine $\geq 97\%$) from Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Munich, DE (lot-no.: SLBS4457/SLBQ1508V) were exactly weight with a Sartorius MSA2.7S-OCE-DM Cubis Ultra Micro Balance (Sartorius Lab Instruments, Göttingen, DE) and dissolved in 1 mL cold (2–8 °C) buffer solution pH = 7.4 (potassium dihydrogen phosphate R, lot-no.: 0000550126,

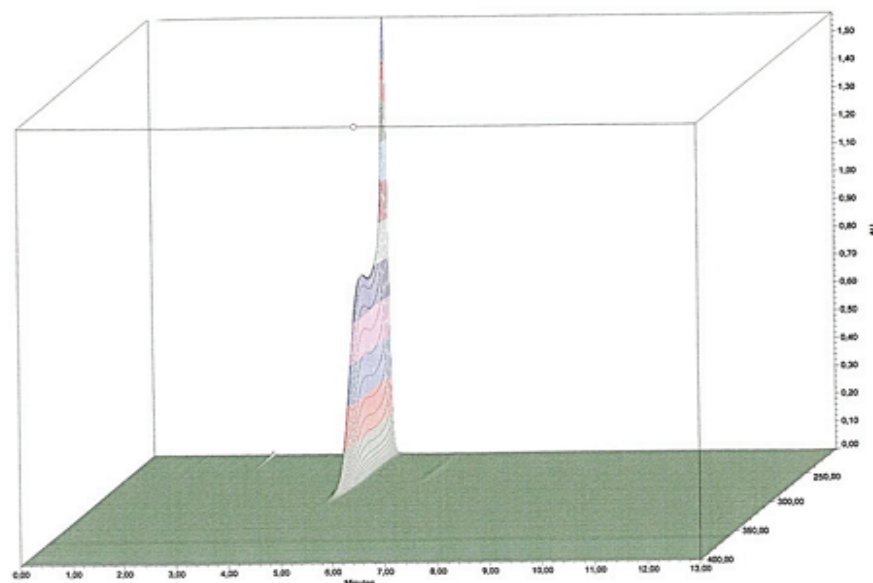


Figure 2: PDA chromatogram of a freshly prepared 0.5 mg/mL decitabine solution (Dacogen®).

Applchem, Darmstadt, DE and sodium hydroxide solution 1 mol/L Titrisol®, lot-no.: HC681977, Darmstadt, DE).

Intra- and Inter-day precision

The intra-day precision of the assay method was evaluated by carrying out 12 independent assays of decitabine solution prepared with cold (2–8 °C) buffer solution pH=7.4 at two concentration levels (1 mg/mL and 0.8 mg/mL).

For inter-day precision at each concentration level a single injection of diluted decitabine solution and cold (2–8 °C) buffer solution pH=7.4 was assayed daily on three consecutive days.

Limit of detection (LOD) and Limit of quantification (LOQ)

The limit of detection and the limit of quantification were calculated by the equation $LOD = 3.3 SD/s$ and $LOQ = 10 SD/s$, respectively. In the equation s represents the slope of the calibration curve and SD the standard deviation of the peak area.

Determination of the physicochemical stability

pH-values were measured once in undiluted aliquots taken from the test solutions at the predetermined intervals using a pH 210 Microprocessor pH-meter (Hanna Instruments, Kehl am Rhein, DE) with a InLab Ultra-Micro pH-glass electrode (Mettler Toledo Inlab Ultra-micro pH, Gießen, DE). The instrument was calibrated with Hamilton Duracal buffer pH 4.01 ± 0.01 and pH 7.01 ± 0.01.

Whenever samples were taken the vials were visually checked for colour changes and particulate matter.

Results

RP-HPLC assay

In the present study a modified HPLC assay based on a known method was implemented and validated by using the medicinal product Dacogen® and decitabine powder.

Suitability

Temperature and pH dependent decomposition instability of azanucleoside drug substances such as azacytidine and decitabine are obvious. Forced degradation of decitabine was therefore limited to “heat” degradation. Storage of the reconstituted Dacogen® powder diluted with water HPLC grade at RT for 30 hours caused significant degradation. The resulting peaks of degradation products did not interfere with the decitabine parent peak (retention time 4.5 minutes) (compare Figure 3).

Linearity

The correlation coefficient of $R^2 = 0.9989$ proved linearity over the concentration range. The equation of the calibration curve was $y = 9.04e + 006x - 5.75e + 004$.

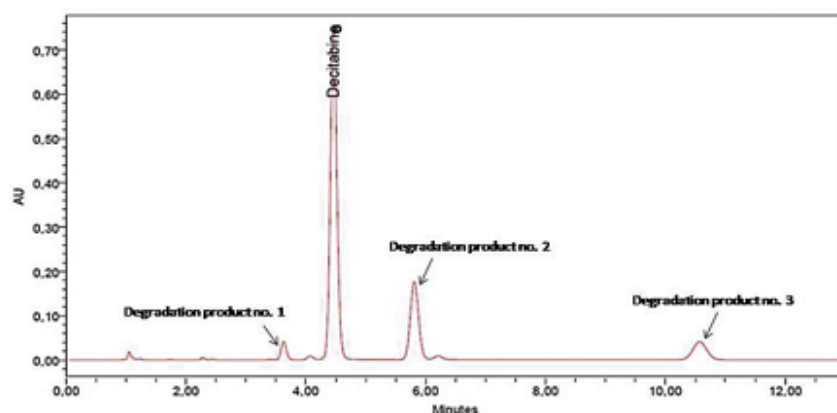


Figure 3: Representative HPLC-chromatogram of decitabine solution (Dacogen®) 1 mg/mL after a 30 hours storage-period stored at RT (25 °C).

Accuracy

The mean recovery was $99\% \pm 4.3\%$ ($n = 12$).

The accuracy was $98.5\% \pm 2.1\%$ for 1 mg/mL and $99.4\% \pm 2.6\%$ for 0.8 mg/mL decitabine solutions.

Intra- and Inter-day precision

The % RSD (Relative Standard Deviation) of the intra- and inter-day assays were 6.05% for 1 mg/mL and 4.90% for 0.8 mg/mL as well as 6.18% for 1 mg/mL and 5.74% for 0.8 mg/mL decitabine.

Limit of detection (LOD) and Limit of quantification (LOQ)

The LOD and the LOQ amounted to 0.029 mg/mL and 0.089 mg/mL of decitabine, respectively.

Chemical stability of decitabine solutions

When test solutions of reconstituted Dacogen® solution were stored frozen at -25°C no degradation products

were detected in the HPLC chromatograms over the storage period of 28 days. In addition the concentrations of decitabine decreased less than 2% over the test period. Measured concentrations of decitabine in the test solutions are presented in Table 2.

In samples taken from the reconstituted Dacogen® solutions 5 mg/mL in glass vials stored under refrigeration ($2-8^\circ\text{C}$) several peaks of degradation products were observed. These peaks matched with the peaks spotted during degradation at RT (see Figure 3) and increased over the storage period of 24 hours.

The same degradation peaks were observed in samples taken from diluted Dacogen® solutions in PO infusion bags stored under refrigeration. The peaks increased over the storage period of 48 hours. Especially the degradation products eluted with the retention time 3.6, 5.8 and 10.6 min (degradation product no. 1 to 3) explicitly increased over time (see Figures 4 and 5). Measured concentrations of decitabine in the various test solutions are presented in Tables 3, 4 and in Figures 6 and 7.

In reconstituted test solutions in glass vials or in diluted test solutions in infusion bags stored under

Table 2: Stability and pH-values of decitabine containing solutions (Dacogen®) in plastic syringes stored frozen (-25°C) over a period of 28 days. Concentration expressed as mean $\pm$ RSD of single assays of three test solutions ($n = 3$). pH-values expressed as mean $\pm$ SD of single measurement of three test solutions ($n = 3$).

Primary package of test solutions	Drug concentration [mg/mL]		% Initial concentration remaining $\pm$ relative SD	
	Nominal	Actual Day 0	Day 22	Day 28
Plastic syringe (PC/PP)	5.0	4.9 ± 0.4	98.4 ± 0.4	98.8 ± 0.5
pH-value (mean $\pm$ SD)		7.06 ± 0.1	7.08 ± 0.1	7.06 ± 0.1

Note: Drug concentrations in samples taken at time zero were designated as 100%.

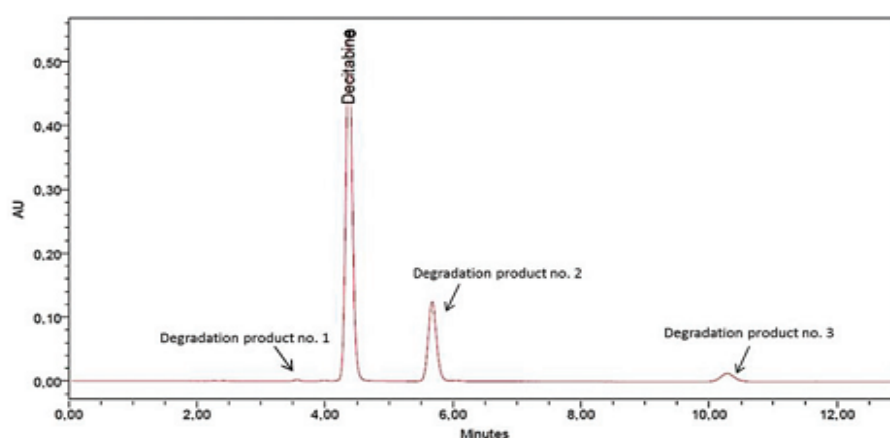


Figure 4: Representative HPLC-chromatogram of reconstituted decitabine solution (Dacogen®) 5mg/mL in glass vials after a 24 hours storage-period stored under refrigeration ($2-8^\circ\text{C}$).

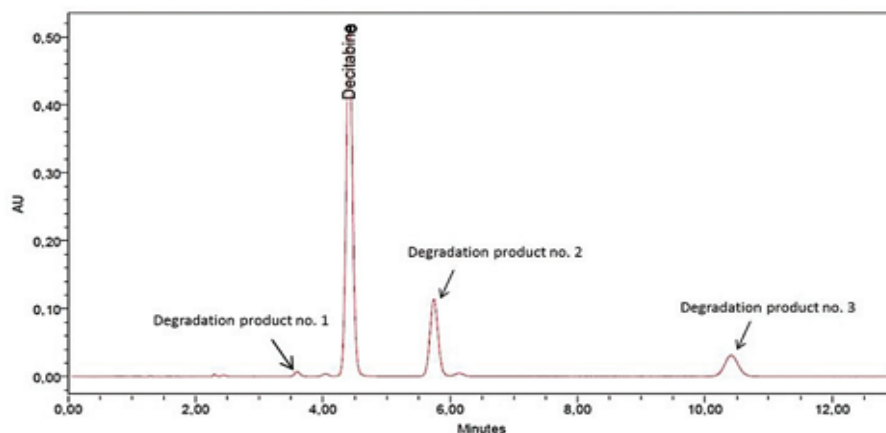


Figure 5: Representative HPLC-chromatogram of diluted decitabine solution (Dacogen®) 0.5 mg/mL in PO infusion bags after a 48 hours storage-period stored under refrigeration (2–8°C).

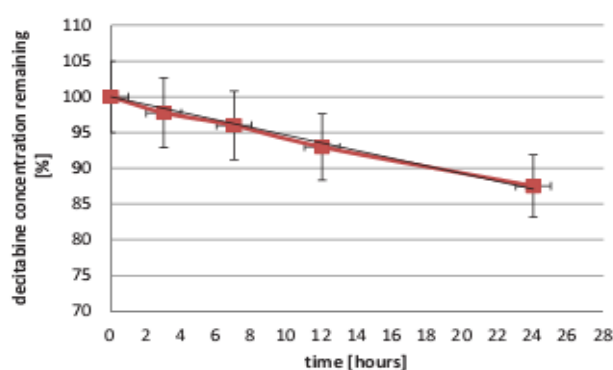


Figure 6: Remaining decitabine concentration and 95% to 105% confidence interval in reconstituted Dacogen® solution in glass vials stored under refrigeration (2–8°C) over a period of 24 hours (n = 9). Calculated t_{95} - and t_{90} -value amount to 9.3 and 18.6 hours according to the line of best fit, respectively.

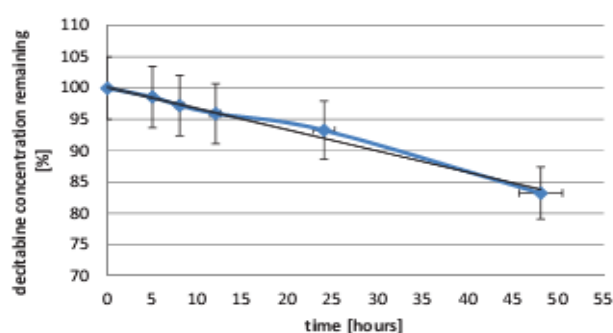


Figure 7: Remaining decitabine concentration and 95% to 105% confidence interval in diluted Dacogen® solution in PO infusion bags stored under refrigeration (2–8°C) over a period of 48 hours (n = 9). Calculated t_{95} - and t_{90} -value amount to 15 and 30 hours according to the line of best fit, respectively.

refrigeration the measured decitabine concentrations remained above 90% of the initial concentration for 12 hours or 24 hours (Tables 3 and 4). Calculated t_{90} values of decitabine amounted to about 19 hours and 30 hours for reconstituted and in diluted test solutions, respectively.

Physicochemical stability of decitabine solutions

In none of the test solutions particulate matter or colour changes were observed over the test period. The mean pH-values amounted to about pH 7 in concentrated and diluted solutions thereby matching the target range of 6.7 to 7.3. The decomposition rate is known to be lowest at pH 7.0 [12]. The pH slightly varied in the reconstituted test solutions (Tables 2 and 3) and in the ready-to-administer preparations stored in PO infusion bags as primary containers (Table 4) but remained in fact unchanged over the observation test period.

Discussion

Stability of azanucleoside drugs

The chemical instability of azanucleoside drugs like decitabine (5-aza-2'-deoxycytidine) and azacytidine (5-azacytidine) is well-known [12, 13]. Medicinal products containing these active substances therefore have to be handled with considerable care in the clinic, primarily in pharmacy-based centralized preparation units. The main concern is

Table 3: Stability and pH-values of reconstituted decitabine (Dacogen®) solution in glass vials stored under refrigeration (2–8 °C) over a period of 24 hours. Concentration expressed as mean $\pm$ RSD of a single assay of three samples of each test solution ($n=3$). pH-values expressed as mean $\pm$ SD of single measurement of three test solutions ($n=3$).

Test solution	Drug concentration [mg/mL]		% Initial concentration remaining $\pm$ relative SD			
	Nominal	Actual 0 hour	3 hours	7 hours	12 hours	24 hours
Glass vial 1	5.0	4.8 $\pm$ 0.9	96.9 $\pm$ 0.5	95.4 $\pm$ 0.6	91.9 $\pm$ 0.2	86.0 $\pm$ 0.1
Glass vial 2		4.8 $\pm$ 0.6	99.2 $\pm$ 0.8	95.6 $\pm$ 0.3	92.7 $\pm$ 0.5	88.3 $\pm$ 0.1
Glass vial 3		4.8 $\pm$ 0.3	97.2 $\pm$ 2.4	97.0 $\pm$ 0.3	94.3 $\pm$ 0.4	88.3 $\pm$ 0.2
pH-value (mean $\pm$ SD)		7.06 $\pm$ 0.2	n. d.	7.05 $\pm$ 0.1	n. d.	7.05 $\pm$ 0.0

Note: Drug concentrations in samples taken at time zero were designated as 100%.

Table 4: Stability and pH-values of diluted decitabine (Dacogen®) containing solution in PO infusion bags over a period of 48 hours, stored under refrigeration (2–8 °C). Concentration expressed as mean $\pm$ RSD of a single assay of three samples of each test solution ($n=3$). pH-values expressed as mean $\pm$ SD of single measurement of three test solutions ($n=3$).

Test solution	Drug concentration [mg/mL]		% Initial concentration remaining $\pm$ relative SD				
	Nominal	Actual 0 hour	5 hours	8 hours	12 hours	24 hours	48 hours
Infusion bag 1	0.5	0.45 $\pm$ 1.7	100.7 $\pm$ 2.0	97.9 $\pm$ 2.0	99.3 $\pm$ 0.7	96.2 $\pm$ 0.1	87.1 $\pm$ 1.5
Infusion bag 2		0.48 $\pm$ 0.3	97.6 $\pm$ 0.1	96.9 $\pm$ 0.3	95.0 $\pm$ 0.2	91.8 $\pm$ 0.1	80.9 $\pm$ 0.3
Infusion bag 3		0.49 $\pm$ 0.4	97.5 $\pm$ 0.5	96.8 $\pm$ 0.1	93.6 $\pm$ 0.2	91.8 $\pm$ 0.2	81.6 $\pm$ 0.3
pH-values (mean $\pm$ SD)		6.93 $\pm$ 0.1	n. d.	6.95 $\pm$ 0.0	n. d.	6.95 $\pm$ 0.2	6.9 $\pm$ 0.1

Note: Drug concentrations in samples taken at time zero were designated as 100%.

the rapid loss of activity and diminishing clinical efficacy. Increasing toxicity is of less concern as toxicity of the degradation products is not expected [1, 14].

Lin et al. investigated the chemical decomposition of decitabine [12] under various conditions. In alkaline solutions, decitabine undergoes a reversible hydrolytic reaction to form *N*-(formylamidino)-*N'*- β -D-2-deoxyribofuranosylurea, which by the irreversible loss of the formyl group, results 1- β -D-2'-deoxyribofuranosyl-3-guanylurea. The opening of the triazine ring is facilitated by a hydroxyl ion nucleophilic attack. In neutral solutions additional degradation products got obvious, which were not identified [12]. Decitabine degradation highly depends on temperature and pH-value. The compound is most stable in neutral solution and when stored at low temperature. When Stresemann et al. studied the stability of decitabine powder in neutral aqueous solutions (0.45 mg/mL) with a capillary electrophoresis assay and UV detection at 254 nm, the half-times (t_{50}) were 7 days at 4 °C, 4 days at 20 °C and 21 hours when stored at 37 °C [13].

The commercially available Dacogen® 50 mg lyophilized powder is formulated with potassium dihydrogen phosphate (E340) and sodium hydroxide to guarantee an optimal pH-value after reconstitution and dilution [4, 5]. Furthermore according to the SmPC

reconstituted Dacogen® solution should be immediately diluted with prechilled (2–8 °C) vehicle solutions in order to increase the stability. However the stability is only indicated up to 15 minutes for the reconstituted Dacogen® powder and 4 hours for the diluted Dacogen® solution [4]. The study design was primarily based on this information about the instability of the medicinal product.

Preparation of test solutions and samples

According to the EPAR, Dacogen® 50 mg lyophilized powder should be reconstituted with 10 mL of sterile water for injections. There is no information about the physico-chemical stability of the reconstituted solution, if prechilled sterile water for injections is used for reconstitution and the solution is immediately stored in the refrigerator. According to the SmPC of Vidaza® 25 mg/mL powder for suspension for injection containing 5-azacytidine as active pharmaceutical ingredient, cold water for injections should be used for reconstitution [15]. Consequentially we decided to dissolve the Dacogen® 50 mg lyophilized powder with prechilled sterile water for injections.

In the EPAR and US SmPC it is also given that the vehicle solutions (0.9% NaCl, 5% dextrose (or Lactated Ringer's injection)) should be prechilled. In our study prechilled 0.9% NaCl solution was chosen as vehicle solution because of the most appropriate properties. 5% dextrose and Ringer's lactate infusion solution are less considerable in practice and the latter one is less suitable because of the ion content. Because of the known accelerated decomposition of decitabine at RT, the test solutions were only stored refrigerated.

To prove the accuracy of the HPLC assay, we also used decitabine powder which was dissolved in prechilled phosphate buffer solution pH=7.4. This favourable solvent and refrigeration were used throughout our experiments. The retained decomposition of decitabine dissolved in the phosphate buffer solution pH 7.4 was shown by Lin et al. [12]. Furthermore water HPLC grade for diluting Dacogen® solutions was refrigerated to reduce the degradation process of decitabine test solutions during sample preparation and assaying.

To determine the stability of the Dacogen® solutions samples were withdrawn at predetermined intervals and immediately frozen and stored at -25 °C. Freezing samples at -25 °C to disrupt the decomposition of decitabine in Dacogen® solutions refers to the proven stability of frozen decitabine solution at -70 °C and in liquid nitrogen [12, 13]. Consequently the number of Dacogen® vials to be reconstituted for the stability study could be minimized. We also have to admit that the restricted number of test solutions limits our study results. The reason is the high price of the Dacogen® medicinal product and limited financial resources associated with this investigator initiated study.

HPLC assay

In the present study a modified HPLC assay based on a known HPLC-method was implemented and validated. According to the HPLC method of Yuan et al. [9] the Kromasil C18 250 mm×4.6 mm, 5 µm column was used. The mobile phase equally consisted of phosphate buffer solution pH=6.0, but was completed with 2% acetonitrile in order to decrease the retention time of decitabine. For the same purpose, a flow rate of 1.8 mL/min was chosen. The overall run time should be shortened as much as possible to inhibit the degradation process during assaying. Because of the short in-use-stability of 15 minutes indicated in the SmPC [4], the overall run time of 13 minutes with a retention time of 4.5 minutes was a critical point of stability testing of the Dacogen®

solutions. The high flow rate affected the column in different degrees depending on the batch related specification of the Kromasil column. To minimize the damage of the column, it is recommended to increase a low initial flowrate of 0.5 mL/min stepwise to 1.8 mL/min during equilibration. To minimize the strain on the performance of the column, post hoc the decision was made to dilute the samples to a concentration of 0.5 mg/mL decitabine. Subsequently the concentration differed from the concentrations used during the validation tests. However reproducibility is obvious by the minimum RSD of the concentrations determined.

The detection wavelength of 240 nm was chosen as a compromise of optimum absorption of decitabine at 254 nm and the absorption of potential degradation products at 220 nm. In our studies the degradation product no. 2 with a retention time of 5.8 minutes (see Figures 3, 4 and 5) most likely corresponds to the ring open form of decitabine which is chromophoric at 254 nm. The degradation product no. 1 presumably corresponds to 1-β-D-2'-deoxyribofuranosyl-3-guanylylurea, which is chromophoric at 220 nm.

The method revealed to be stability-indicating. In the resulting chromatograms, the sharp peak of decitabine (R_t about 4.5 min) was clearly separated from the degradation products. The degradation pathway and the highly temperature- and pH-dependent decomposition of decitabine are already described elsewhere [12, 13, 16]. Because of the rapid degradation of decitabine, suitability of the HPLC assay was only investigated by gently "heat" degraded samples. Furthermore the pH-value of the samples is predetermined by the formulation of Dacogen®.

The validation of the HPLC assay was originally planned by dissolving decitabine powder with cold buffer solution pH=7.4 and without freezing the samples. However, assaying of frozen Dacogen® solution revealed to be more favourable and convenient. Therefore suitability and linearity of the HPLC assay were proved with frozen samples of Dacogen® solutions. Each sample was assayed immediately after thawing. SDs amounting to 5% when testing the accuracy are probably caused by individual weighing of 1 mg decitabine samples and rapid decomposition of the substance.

Physicochemical Stability of reconstituted Dacogen® solution

Measured decitabine concentrations in reconstituted Dacogen® solution stored frozen at -25 °C in single-use

syringes decreased only slightly and varied within the accuracy limits of the assay and dilution steps. Physicochemical stability is given over a storage period of 28 days. For azacytidine suspension increased stability was also shown when stored at -20°C compared to refrigeration [17].

In reconstituted Dacogen® solutions prepared with prechilled water and stored refrigerated in glass vials, measured decitabine concentrations fell below the 90 % limit after 24 hours. Having notice of this fact, we stopped the experiment after 24 hours. The calculated t_{95} - and t_{90} -value amounts to 9.3 and 18.6 hours according to the line of best fit and taking the initially measured concentration as 100 %. When t_{90} was calculated by taking the nominal decitabine concentration as 100 %, the interval came to 16 hours. According to these results, the reconstituted Dacogen® solutions can be declared as physicochemical stable over the storage period of 12 hours. During the studies of Patel [8] reconstitution of Dacogen® powder with non-prechilled water for injections resulted in 5 % degradation after 60 minutes. The reconstitution of Dacogen® with prechilled water for injections is obviously related to increased stability and highly recommended.

As indicated in the EPAR, the pH-values of reconstituted Dacogen® solution amount to 6.7–7.3. In our study the measured pH-values uniformly amounted to $\text{pH}=7$ and remained unchanged over the observed test period. This was also the case for reconstituted Dacogen® solutions when stored frozen. Changes of the pH-value caused by degradation products were not expected because of phosphate buffer present in the Dacogen® formulation.

Physicochemical Stability of diluted Dacogen® solution

Diluted Dacogen® solutions in prefilled 0.9 % NaCl solution in PO infusion bags stored under refrigeration revealed to be physicochemical stable over a storage period of 24 hours (93 % remaining decitabine concentration). The pH-values remained unchanged. The calculated t_{95} - and t_{90} -value amount to 15 and 30 hours when taking the initially measured concentration as 100 %, respectively. Taking the nominal concentration as 100 %, the t_{90} came to 26 hours. These results correspond to the findings of Patel [8]. In his studies, independent of the initial decitabine concentration (0.1 and 1.0 mg/mL) and the type of vehicle solution (0.9 % NaCl, 5 %

dextrose, lactated Ringer's solution) the remaining decitabine concentration amounted to 92 % after 10 hours of refrigerated storage [8].

Different stability of reconstituted and diluted Dacogen® solutions

While for the diluted Dacogen® infusion solutions (0.5 mg/mL) a t_{90} of 30 hours was calculated, the t_{90} of reconstituted Dacogen® solution (5 mg/mL) amounted to only 19 hours. Of note, the SmPC recommends to use the diluted solution within 4 hours and reconstituted solution within 15 minutes [4]. The same phenomenon was reported by Patel, i. e. 10 hours physicochemical stability for diluted solutions and 1 hour for the reconstituted solution [8]. However, there was no difference in stability when Patel tested diluted Dacogen® solutions of the concentration 1 mg/mL and 0.1 mg/mL. Therefore we studied only the mean concentration of 0.5 mg/mL decitabine recommended in the SmPC for diluted solutions (1 mg/mL = upper limit, 0.1 mg/mL = lower limit). The different stability of the reconstituted Dacogen® solutions and the tenfold diluted infusion solutions can be explained by higher concentrations of degradation inducing hydroxyl and hydrogen ions deriving from the phosphate buffer in the reconstituted solution.

Practical aspects

According to our results remaining reconstituted Dacogen® solutions can be transferred into single-use 1 mL syringes as primary packaging, stored frozen at -25°C up to 28 days and further used. It is more easy and logical to freeze Dacogen® glass vial when the residual volume is greater than 1 mL. However, if the volume in the vial is greater than the needed volume for the next preparation, the usability of the residual thawed volume is questionable. There are no published data about the stability of re-frozen and re-thawed Dacogen® solution. A favourable solution is to freeze maximum 1 mL volumes in order to reduce the wasting. After thawing at RT the reconstituted solutions must be diluted immediately. Because of the rapid degradation of decitabine the storage of Dacogen® solutions at RT is not recommended and was not in the scope of our stability study. As decitabine is not photosensitive, light protection during storage is not mandatory, but light protected storage was guaranteed in the freezer and refrigerator. In general, besides the

physicochemical stability, microbiological stability is a crucial factor in assigning extended beyond-use-dates. In the case of Dacogen® preparations this is only relevant for the frozen reconstituted solutions because of the limited physicochemical stability under refrigeration. Anyway handling of intravenous preparations has to be done under strict aseptic conditions. Material and treatment expenses can be reduced because remaining reconstituted solutions can be stored frozen and are not to be discarded.

Conclusion

Decitabine solution (Dacogen® 50 mg powder for concentrate for solution for infusion) is physicochemically stable in glass vials after reconstitution with cold (2–8 °C) sterile water for injections and in PO infusion bags after dilution with cold 0.9 % NaCl solution for 12 hours and 24 hours when stored under refrigeration (2–8 °C), respectively. Reconstituted decitabine solution stored in PC/PP syringes of the nominal volume 1 mL and frozen at –25 °C is physicochemically stable for at least 28 days. The residual Dacogen® solution in glass vials can be transferred into 1 mL single-use syringes, stored frozen and further used after thawing at RT. The results of our study facilitate the preparation of Dacogen® lyophilized powder in pharmacy based centralized preparation units.

Acknowledgement: The authors thank Dr. rer. nat Judith Thiesen for checking the manuscript and fruitful discussions.

Conflicts of interest: The author states no conflict of interest. The author has read the journal's Publication ethics and publication malpractice statement available at the journal's website and hereby confirms that she complies with all its parts applicable to the present scientific work.

References

1. EPAR, Dacogen® 50 mg powder for concentrate for solution for infusion [Internet]. 2012 Jul Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002221/WC500133571.pdf. Accessed 8 Jul 2017.
2. Malik P, Cashen AF. Decitabine in the treatment of acute myeloid leukemia in elderly patients. *Cancer Manag Res*. 2014;6:53–61.
3. Baylin BS. DNA methylation and gene silencing in cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2005;2:4–11.
4. Summary of Product Characteristics, Dacogen® 50 mg powder for concentrate for solution for infusion [Internet]. 2017 Jul [about 27 p.]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002221/WC500133569.pdf. Accessed 7 Aug 2017.
5. Highlights of Prescribing Information, Dacogen® (decitabine) for Injection [Internet]. 2006 [about 9 p.]. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021790s006lbl.pdf. Accessed 7 Aug 2017.
6. Compounding today, Dacogen® [Internet]. [about 2 p.]. Available at: <http://compoundtoday.com/index.cfm>. Accessed 7 Aug 2017.
7. Fernández-Ginés FD, García-Muñoz S, Rodríguez-Cuadros TB, Sierra-García F, Molina Cuadrado E. Stability of intravenous injection of decitabine stored in polyethylene syringes. Poster presentation EAHP, Nice 2017. Accessed 10 Jul 2017.
8. Patel KR. Reconstitution and preparation stability of decitabine for injection. Poster presentation ASHP Midyear Clinical Meeting 41, 2006 Accessed 7 Aug 2017.
9. Yuan Y, Zhu M. Determination of Decitabine for Injection by HPLC [Internet]. 2012 Jul [about 1 p.]. Northwest Pharmaceutical Journal. Available at: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-XBYZ201206015.htm. Accessed 8 Jul 2017.
10. Product Specification [Internet]. Becton Dickinson BD. BD Plastipak™ 1 ml, 3 ml, 10 ml, 20 ml Luer-Lok™ syringe; [about p.]. Available at: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=6784>. revised 2015 Jul 1. Accessed 8 Jul 2017.
11. ICH Harmonised Tripartite Guideline [Internet]. Geneva (CH) international council for harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1); [about 17 p.]. Available at: http://www.ich.org/fileadmin/Public/Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf. revised 1996 Nov 6. Accessed 8 Jul 2017.
12. Lin KT, Momparler RL, Rivard GE. High-performance liquid chromatographic analysis of chemical stability of 5-aza-2'-deoxycytidine. *J Pharm Sci*. 1981;70(11):1228–32.
13. Stresemann C, Lyko F. Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine. *Int J Cancer*. 2008 Apr;123:8–13.
14. Karahoca M, Momparler RL. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in the design of its dose-schedule for cancer therapy. *Clin Epigenetics*. 2013;5(1):1–16.
15. Summary of Product Characteristics Vidaza® 25mg/mL powder for suspension for injection [Internet]. 2013 Nov [about 34 p.]. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000978/WC500050239.pdf. Accessed 10 Jul 2017.
16. Neupane YR, Srivastava M, Ahmad N, Soni K, Kohli K. Stability indicating RP-HPLC method for the estimation of decitabine in bulk drug and lipid based nanoparticles. *Int J Pharm Sci Res*. 2014;5(7):294–302.
17. Duriez A, Vigneron JH, Zenier HA, May I, Demoré BM. Stability of azacytidine suspensions. *Ann Pharmacother*. 2011; 45(4):546.

3. In-Line-Filtration von Zytostatikazubereitungen zur parenteralen Applikation

3.1 Partikelkontamination und Filtration von Infusionslösungen

Die häufigste Applikationsart von Tumortheraeutika ist die parenterale Verabreichung in Form einer Injektion oder Infusion. Die applikationsfertigen Zytostatikazubereitungen werden unter streng aseptischen Bedingungen in Einmal-Plastik-Spritzen oder Infusionsbeuteln als Primärbehältnis in der patientenindividuellen Dosis zubereitet. Dabei ist die Herstellungsanweisung gemäß der Fachinformation zu beachten. Die Kompatibilität des Wirkstoffes und/oder des als Ausgangsmaterial eingesetzten Fertigarzneimittels mit dem verwendeten Material (Primärpackmittel, Spikes, Infusionssets etc.) muss bei jeder einzelnen Zubereitung und Applikation überprüft werden.

Partikelkontamination in der Zytostatika-Lösung

In ausgewählten Fällen müssen Filter bei der Zubereitung und/oder Applikation verwendet werden, um eine Partikelkontamination zu vermeiden. Gemäß dem Europäischen Arzneibuch müssen Parenteralia der Prüfung auf Partikelkontamination-Sichtbare Partikeln (2.9.20) entsprechen (49). Mögliche Ursachen für Partikelkontamination können Glassplitter, Kunststoffabrieb und Stopfenfragmente sein (50). Partikel, die sich insbesondere in den Zubereitungen von schwerlöslichen Arzneistoffen in Form von Wirkstoffpartikeln befinden können, müssen ebenfalls zurückgehalten werden. Einige Fertigarzneimittel können Lösungsvermittler als Hilfsstoffe enthalten, die mit Bestandteilen von Plastikeinmalspritzen oder Infusionsbeuteln partikuläre Inkompatibilitätsprodukte bilden können. Alle Formen von Partikeln, die nicht durch einen Filter zurückgehalten werden, gelangen direkt in den menschlichen Körper und können verschiedene Komplikationen wie z. B. Organschäden verursachen (51).

In-Line-Filter für die Applikation von Zytostatikazubereitungen

Bei einigen Tumortheraeutika wird in den Fach- und Gebrauchsinformationen die Verwendung eines In-Line-Filters während der Applikation vorgeschrieben. Ein solches In-Line-Filtersystem besteht aus verschiedenen Komponenten (Konnektor, Schlauchverbindung, Filtergehäuse und -membran). Der In-Line-Filter dient dem Zurückhalten von

Partikeln und besitzt eine Porenweite von 0,2 oder 1,2 μm . Filter mit der Porenweite 0,2 μm (auch deklariert als 0,22 μm) entfernen die Partikel am effektivsten und halten Bakterien und Pilze zurück.

Je nach Formulierung des Arzneimittels (Lösung, Emulsion, Suspension, Liposomen) muss die passende Porengröße für die Zubereitung und/oder Applikation ausgewählt werden. Wichtig ist hier auch das Material, aus welchem das In-Line-Filterset besteht, da es an den produktberührenden Oberflächen zu Adsorptions-, Absorptions- und Leaching-Effekten der Arzneimittel mit den Kunststoffen kommen kann.

Die Auswahl eines geeigneten Filters für Tumortherapeutika sollte zunächst unter fachlichen Gesichtspunkten, insbesondere der Kompatibilität, getroffen werden. Sind mehrere Filtersysteme geeignet, spielt die Verfügbarkeit eine Rolle und nicht zuletzt auch der Preis. Um die Therapiesicherheit zu gewährleisten, ist es sinnvoll, bereits bei der Herstellung in der zentralen Zytostatikazubereitung jeder Zubereitung, die über einen In-Line-Filter appliziert werden muss, das passende Filterset beizupacken. So kann für jeden Patienten die richtige Applikation mit dem richtigen Applikationszubehör gewährleistet werden.

In der nachfolgenden Publikation wurden die Anforderungen an die Materialeigenschaften der Filtersysteme für den jeweiligen Wirkstoff und die Eigenschaften von ausgewählten, auf dem deutschen Markt verfügbaren Filtersets analysiert, um die Auswahl valide durchführen zu können. Ziel ist es, im stressigen Klinikalltag einen schnellen Überblick zu ermöglichen, Verwechslungen zu vermeiden und die Arzneimitteltherapiesicherheit zu gewährleisten.

3.2 Auswahl und Umgang mit In-Line-Filtern zur parenteralen Applikation von Tumortheraeutika

Übersicht

Auswahl und Umgang mit In-Line-Filtern zur parenteralen Applikation von Tumorthapeutika

Sun Hee Kim, Bettina Stollhof und Irene Krämer, Mainz

Bei einigen Tumorthapeutika wird in den Fach- und Gebrauchsinformationen die Verwendung eines In-Line-Filters während der Applikation vorgeschrieben. Die Angaben zur Auswahl des geeigneten Filters sind nicht immer eindeutig. Um die Auswahl valide durchführen zu können, wurden die Anforderungen an die Materialeigenschaften der Filtersysteme für das jeweilige Arzneimittel und die Eigenschaften von ausgewählten, auf dem deutschen Markt verfügbaren Filtern analysiert. Aus dem Abgleich der Anforderungen und Eigenschaften der Filtersysteme resultierte eine Positivliste geeigneter Filtersysteme für die jeweiligen Arzneimittel. Zur Verbesserung der Arzneimitteltherapiesicherheit wird die Konnektion oder das Beipacken eines geeigneten Filtersystems zu der applikationsfertigen Zubereitung in der zentralen Zytostatikazubereitung empfohlen.

Wissenschaftlich
begutachtet
peer-reviewed

Schlüsselwörter: Tumorthherapie, Parenteralia, In-Line-Filter, Applikation

Krankenhauspharmazie 2018;39:11–18.

Bei einigen Tumorthapeutika wird in den Fach- und Gebrauchsinformationen während der Applikation die Verwendung eines In-Line-Filters vorgeschrieben. Ein solcher In-Line-Filter besteht aus verschiedenen Komponenten (Abb. 1) und kann zwischen Infusionsbehälter und Infusionssystem oder patientennah nach dem Infusionssystem angebracht werden. Der In-Line-Filter dient dem Zurückhalten von Partikeln, die sich insbesondere in den Zubereitungen von schwerlöslichen Arzneistoffen in Form von Wirkstoffpartikeln befinden können [6]. Andererseits können Fertigarzneimittel Lösungsvermittler als Hilfsstoffe enthalten, die mit verschiedenen Kunststoffen, beispielsweise von Plastikeinmalspritzen oder Infusionsbeuteln, partikuläre Inkompatibilitätsprodukte bilden. Weitere Ursachen für Partikelkontaminationen können Glassplitter [31], Kunststoffabrieb [47] und Stopfenfragmente [36] sein. Bei Proteinarzneimitteln wie intravenös zu applizierenden Antikörper-Zubereitungen können unsichtbare und sichtbare Aggregate bis hin zu sichtbaren proteinösen Partikeln (z. B. bei Panitumumab) entstehen, sodass eine Filtration während der Applikation notwendig wird. Die partikulären Verunreinigungen sind von unterschiedlicher Größe. Man unterscheidet die mit bloßem Auge sichtbaren Partikeln der Größe $\geq 50 \mu\text{m}$ von den unsichtbaren Partikeln im Bereich 2 bis $50 \mu\text{m}$.

Alle Formen von Partikeln, die nicht durch einen Filter zurückgehalten werden, gelangen direkt in den menschlichen Körper und können verschiedene Komplikationen wie Organschädigungen, Phlebitis, Atemnotsyndrom [49], Lungenerkrankungen [34], Myokarditis [23] und Hautausschlag [15] auslösen. Insbesondere schwerkranke Patienten können davon betroffen sein. Bei Patienten können schon Partikel, die nur $1,5 \mu\text{m}$ groß sind, zur Verlegung von Gefäßen führen, während dies bei Gesunden erst ab einer Partikelgröße von $6 \mu\text{m}$ beschrieben wurde [4, 25]. Eine prospektive, monozentrische, kontrollierte klinische Studie von Boehne et al. zeigt, dass die Verwendung von In-Line-Filtern in der pädiatrischen Intensivstation die Risiken von respiratorischen, renalen und hämatologischen Dysfunktionen senken kann. In der Patientengruppe ohne In-Line-Filtration der Infusionslösungen kamen diese Organdysfunktionen häufiger vor [9]. Weitere Publikationen

Sun Hee Kim, Zytostatika-Abteilung, Apotheke der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz, E-Mail: sunhee.kim@unimedizin-mainz.de
Dr. Bettina Stollhof, Prof. Dr. Irene Krämer, Apotheke der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz

Übersicht In-Line-Filter für die parenterale Applikation



Abb. 1. Schematische Darstellung eines In-Line-Filtersystems, beispielsweise SmartSite® Low Sorbing Set von CareFusion, BD seit 2015 (1 = weiblicher Luer-Lock-Konnektor, 2 = Filtergehäuse und -membran, 3 = Schlauchverbindung, 4 = Schlauchklemme, 5 = nadelfreier Konnektor, 6 = männlicher Luer-Lock-Konnektor) [7]

zu dieser Thematik liegen vor [5, 20]. Angesichts der breitgefächerten Komplikationen ist anzunehmen, dass Partikelkontaminationen die Krankenhausverweildauer verlängern und zu zusätzlichen Behandlungskosten führen oder beitragen.

In-Line-Filter können auch die Infusion von mikrobiologischen Kontaminationen und Luft aus Infusionslösungen vermeiden und damit die Patientensicherheit erhöhen. Außerdem stellen verstopfte Filter ein Frühwarnsystem für nicht-sichtbare Ausfällungen in inkompatiblen Infusionszubereitungen dar [4, 24]. Dieser Artikel fokussiert sich auf Tumortheraeutika, die entsprechend ihrem Zulassungsstatus während der Applikation oder auch Zubereitung durch Partikelfilter zu filtrieren sind.

Filter zur Vorbereitung einer Infusionslösung wie Filterspikes oder Filterkanülen enthalten Filtermembranen der Porenweite $\leq 5 \mu\text{m}$. Für integrierte Filter in der Tropfkammer des Infusionssystems empfehlen internationale Standards (ISO 8536-4) einen $15\text{-}\mu\text{m}$ -Partikelfilter. In-Line-Filter, die zwischen dem Infusionsbehälter und dem Infusionszugang angebracht werden, besitzen eine Porenweite von $0,2$ oder $1,2 \mu\text{m}$. Filter mit der Porenweite $0,2 \mu\text{m}$ entfernen die Partikel am effektivsten und halten Bakterien und Pilze zurück. Sie sind jedoch nicht für jede Arzneiform geeignet. Je nach Formulierung des Arzneimittels (Lösung, Emulsion, Suspension, Liposomen) muss die passende Porengröße für die Zubereitung und/oder Applikation ausgewählt werden. Viele liposomale Arzneimittel wie liposomales Cytarabin [29], liposomales Daunorubicin [18] oder liposomales Doxorubicin [21] dürfen aufgrund der Liposomengröße nicht über In-Line-Filter appliziert werden [32]. Die Applikation von liposomalen Arzneimitteln kann über Filter der Porenweite $15 \mu\text{m}$ ohne nachteiligen Einfluss auf die Liposomenformulierung erfolgen. In-Line-Filter der Porengröße $1,2 \mu\text{m}$ sind für Lipidemulsionen geeignet, da die Lipidtröpfchen der durchschnittlichen Größe $0,5 \mu\text{m}$ den Filter passieren können. Für lipidhaltige Arzneimittel oder Lipidemulsionen wird grundsätzlich die Applikation über die sogenannten „Fettfilter“ ($1,2 \mu\text{m}$) empfohlen, um möglicherweise vorhandene, aber nicht sichtbare Partikel zu eliminieren. Höher-viskose Lösungen lassen sich ebenfalls leichter über Filter dieser Porengröße applizieren.

Neben der Porenweite der Filtermembran spielt das Material der Filtermembran eine wichtige Rolle bei der Auswahl des geeigneten Filters. Gängige Filtermaterialien sind Kunststoffe wie Polyethersulfon (PES) oder Polyester (PET=Polyethylenterephthalat). Bei den meisten Filtersystemen besteht die Belüftungsmembran aus Polytetrafluoroethylen (PTFE). Darüber hinaus sind die Zusammensetzung und Eigenschaften des Filtergehäuses und der integrierten Schlauchsysteme zu beachten (Abb. 1). An den produktberührenden Oberflächen kann es zu Adsorptions-, Absorptions- und Leaching-Effekten durch Interaktion der Arzneimittel mit den Kunststoffen kommen. Zur näheren Charakterisierung des Filtersystems werden Eigenschaften wie „frei von“ Polyvinylchlorid (PVC-frei), Diethylhexylphthalat (DEHP-frei), Polyurethan (PUR-frei) und Latex (latexfrei) angegeben.

Bei zentraler Zytostatikazubereitung bietet es sich an, jeder Zubereitung, die über einen In-Line-Filter appliziert werden muss, das passende Filtersystem beizupacken. Alternativ kann bereits im Rahmen der Zubereitung eine Verbindungsleitung mit integriertem In-Line-Filter direkt am Beutel angeschlossen werden. Diese sind vorab mit Trägerlösung zu benetzen. Mit diesen Maßnahmen kann für jeden Patienten die richtige Applikation mit dem richtigen Applikationszubehör gewährleistet werden. Zudem kann die Vorratshaltung in den Applikationsbereichen reduziert und insgesamt wirtschaftlicher gestaltet werden.

Um die Auswahl valide durchführen zu können, wurden die Anforderungen an die Materialeigenschaften der Filtersysteme für den jeweiligen Wirkstoff und die Eigenschaften von ausgewählten, auf dem deutschen Markt verfügbaren Filtern analysiert. Aus dem Abgleich der Anforderungen und Eigenschaften der Filtersysteme resultiert eine Positivliste geeigneter Filtersysteme für die jeweiligen Arzneimittel.

Methodisches Vorgehen

Für eine Auswahl von in Deutschland verfügbaren In-Line-Filtersets der Porenweite $0,2 \mu\text{m}$ und $1,2 \mu\text{m}$ zur parenteralen Applikation wurden die relevanten Eigenschaften tabellarisch zusammengestellt.

Es wurden sieben verschiedene Filtersets betrachtet: SmartSite® Low Sorbing Set (CareFusion, BD seit 2015), Sterifix® PVC-frei $0,2 \mu\text{m}$ (B. Braun), I.V.STAR® 10 (Codan), Infufil Air, 96 h (Fresenius), Intrapur® Lipid (B. Braun), I.V. STAR® F 10 (Codan) und Lipifil Air, 24 h (Fresenius). Als Quellen dienten Publikationen und von Herstellern auf Anfrage erhaltene Informationen.

Basierend auf den Daten der STABIL-Liste® (7. Auflage 2015) wurden die parenteral zu applizierenden Zytostatika identifiziert, bei welchen die Verwendung eines In-Line-Filters vorgegeben wird. Zusätzlich wurden Gemtuzumab-

Übersicht In-Line-Filter für die parenterale Applikation

Ozogamicin und Daratumumab aufgenommen. Die in den Fachinformationen der entsprechenden Fertigarzneimittel enthaltenen Vorgaben zur Beschaffenheit des Filtersystems (Materialien, Porenweite, niedrige Protein-Bindungskapazität) wurden tabellarisch zusammengestellt.

Die Anforderungen an die Filtersets und die Eigenschaften der sieben ausgewählten Filtersets wurden analysiert und auf Eignung geprüft. Bei Übereinstimmung wurde das Filterset für das jeweilige Arzneimittel in die Positivliste geeigneter Filtersysteme aufgenommen.

Ergebnisse und Diskussion

Von den 107 geprüften Tumortheraeutika sollen 19 über einen In-Line-Filter appliziert werden. In deren Fachinfor-

mationen werden die Anforderungen an die Beschaffenheit des Filtersystems unterschiedlich detailliert beschrieben (Tab. 2). Es werden teilweise nur Angaben zur Porenweite oder nur zu dem Material der Filtermembran gemacht.

In Tabelle 1 sind die Eigenschaften der sieben ausgewählten Filtersets entsprechend den Herstellerangaben zusammengestellt. Bei Übereinstimmung der Anforderungen und Eigenschaften wurde das Filtersystem für das jeweilige Arzneimittel in Tabelle 2 (letzte Spalte) als geeignetes Filterset entsprechend der Nummerierung von Tabelle 1 aufgenommen.

Nachfolgend werden weitergehende Informationen dargestellt und diskutiert.

Tab. 1. Eigenschaften von ausgewählten, in Deutschland vermarkteten In-Line-Infusionsfiltersets

Produkt	Name	Hersteller (Art.-Nr.)	Porenweite, Filtermembran	Größe der Filterfläche	Totvolumen	Max. Einsatzdauer	Deklarierte Eigenschaften
1	SmartSite® Low Sorbing Set	BD (20350E-0006)	■ 0,2 µm ■ PES (Filtermembran) ■ PTFE (Belüftungsmembran)	10 cm²	5 ml	Keine Daten	■ DEHP-frei ■ Latexfrei ■ Niedrige Protein-Bindungskapazität ■ PUR-haltig ■ PVC-haltig
2	Sterifix® PVC-frei 0,2 µm	B. Braun (4184637)	■ 0,2 µm ■ PES (Filtermembran) ■ PTFE (Belüftungsmembran)	10 cm²	3,46 ml	24 h	■ DEHP-frei ■ Latexfrei ■ Niedrige Protein-Bindungskapazität ■ PUR-haltig ■ PVC-frei
3	IV.STAR® 10	Codan (76.3364)	■ 0,2 µm ■ PES (Filtermembran) ■ PTFE (Belüftungsmembran)	10 cm²	2,9 ml	96 h	■ DEHP-frei ■ Latexfrei ■ Niedrige Protein-Bindungskapazität ■ PVC-haltig
4	Infufil Air, 96 h	Fresenius Kabi (2909602)	■ 0,2 µm ■ PES (Filtermembran) ■ PTFE (Belüftungsmembran)	12 cm²	3 ml	96 h	■ DEHP-frei ■ Latexfrei ■ Niedrige Protein-Bindungskapazität ■ PVC-haltig
5	Intrapur® Lipid 1,2 µm	B. Braun (4099702)	■ 1,2 µm ■ PES (Filtermembran) ■ PTFE (Belüftungsmembran)	10 cm²	3,46 ml	24 h	■ DEHP-frei ■ Latexfrei ■ Niedrige Protein-Bindungskapazität
6	I.V. STAR® F 10	Codan (76.3333)	■ 1,2 µm ■ PES (Filtermembran) ■ PTFE (Belüftungsmembran)	10 cm²	2,9 ml	96 h	■ DEHP-frei ■ Latexfrei ■ Niedrige Protein-Bindungskapazität ■ PVC-haltig
7	Lipifil Air, 24 h	Fresenius Kabi (2909301)	■ 1,2 µm ■ PET (Filtermembran) ■ PTFE (Belüftungsmembran)	13,5 cm²	2,6 ml	24 h	■ Protein-Bindungskapazität nicht bekannt ■ PUR-haltig ■ PVC-frei

DEHP: Diethylhexylphthalat; PES: Polyethersulfon (ungeladen); PET: Polyethylenterephthalat (Polyesterprodukt); PTFE: Polytetrafluoroethylen; PUR: Polyurethan; PVC: Polyvinylchlorid

Übersicht In-Line-Filter für die parenterale Applikation

Tab. 2. Anforderungen an In-Line-Filter laut Fachinformation für ausgewählte Arzneimittel zur Tumorthherapie (alphabetisch sortiert nach Wirkstoffen) und Zuordnung geeigneter Filtersysteme

Wirkstoff	Handelsname	Anforderungen an das Filtersystem ^a	Geeignete Filtersysteme aus Tab. 1*
Aflibercept	Zaltrap® [39]	0,2-µm-Filter aus PES - Inkompatibel: PVDF, Nylon	1–4
Belinostat	Beleodaq® [41]	0,2-µm-Filter - Inkompatibel: –	1–4
Blinatumomab	Blincyto® [2]	0,2-µm-Filter, pyrogenfrei, niedrige Protein-Bindungskapazität - Benötigt eine spezielle Infusionspumpe – eventuell ist in der entsprechenden Kassette bereits ein Filter enthalten - Inkompatibel: DEHP	1–4
Cabazitaxel	Jevtana® [38]	0,2-µm-Filter - Inkompatibel: PUR, (PVC)	3, 4
Clofarabin	Evoltra® [37]	0,2-µm-Filter - Hinweise zur Filtrierung des Konzentrats laut Fachinfo beachten! - Inkompatibel: –	1–4
Daratumumab	Darzalex® [22]	0,2-µm-Filter aus PES, niedrige Protein-Bindungskapazität - Inkompatibel: –	1–4
Gemtuzumab-Ozogamicin	Mylotarg® [48]	0,2- bis 1,2-µm-Filter aus PES (Supor®) oder 1,2-µm-Filter aus hydrophilen Acryl-Copolymer (Versapor®) oder 0,8-µm-Filter aus Cellulose-Acetat-Nitrat-Mischester oder 0,2-µm-Filter aus Cellulose-Acetat - Inkompatibel: –	1–6
Ipilimumab	Yervoy® [11]	0,2- bis 1,2-µm-Filter aus PES oder 0,2-µm-Filter aus Nylon - jeweils pyrogenfrei, niedrige Protein-Bindungskapazität - Inkompatibel: –	1–6
Nivolumab	Opdivo® [10]	0,2- bis 1,2-µm-Filter, geringe Protein-Bindungskapazität, pyrogenfrei - Inkompatibel: –	1–6
Paclitaxel	Pactitaxel-Gry® [44]	≤0,2-µm-Filter - Inkompatibel: DEHP-haltiges PVC - Kurze Zu- und Abflussschläuche aus PVC in Filtervorrichtungen führten zu keiner signifikanten Freisetzung von DEHP [6]	1–4
Paclitaxel albumin-gebunden	Abraxane® [12]	15-µm-Filter (integriert in der Tropfkammer der Infusionssysteme) - Nicht über In-Line-Filter <15 µm applizieren! - Inkompatibel: –	Keine
Panitumumab	Vectibix® [3]	0,2 µm, niedrige Protein-Bindungskapazität - Inkompatibel: –	1–4
Pembrolizumab	Keytruda® [28]	0,2- bis 5-µm-Filter, niedrige Protein-Bindungskapazität - Inkompatibel: –	1–6
Pixantron	Pixuvri® [14]	0,2-µm-Filter aus PES - Inkompatibel: –	1–4
Ramucirumab	Cyramza® [16]	0,2-µm-Filter, niedrige Protein-Bindungskapazität - Inkompatibel: –	1–4
Trastuzumab Emtansin	Kadcyla® [35]	0,2-µm-Filter aus PES (wenn Infusionslösung mit 0,9% NaCl-Lösung verdünnt wurde) - Inkompatibel: –	1–4

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Übersicht In-Line-Filter für die parenterale Applikation**Tab. 2.** Anforderungen an In-Line-Filter laut Fachinformation für ausgewählte Arzneimittel zur Tumorthherapie (alphabetisch sortiert nach Wirkstoffen) und Zuordnung geeigneter Filtersysteme (Fortsetzung)

Wirkstoff	Handelsname	Anforderungen an das Filtersystem ^a	Geeignete Filtersysteme aus Tab. 1 ^b
Temsirolimus	Torisel® [33]	■ 0,2- bis 5-µm-Filter aus PES ■ Inkompatibel DEHP (aus PVC)	1–6
Thiotepa	Tepadina® [1]	■ 0,2-µm-Filter	1–4

PVDF: Polyvinylidenfluorid; DEHP: Diethylhexylphthalat; PES: Polyethersulfon; PET: Polyethylenterephthalat (Polyesterprodukt);

PTFE: Polytetrafluorethylen; PUR: Polyurethan; PVC: Polyvinylchlorid

^aFilter mit Porenweiten von 0,2 µm oder 0,22 µm werden vereinfacht als 0,2-µm-Filter benannt

^bFilter Nummer

1: SmartSite® Low Sorbing Set

2: Sterifix® PVC-frei 0,2 µm

3: I.V.STAR® 10

4: Infufil Air, 96 h

5: Intrapur® Lipid 1,2 µm

6: I.V. STAR® F 10

7: Lipifil Air, 24 h

Einsatz von Filtern bei der Zubereitung

Bei einigen Tumorthapeutika sollte auch bei der Zubereitung bzw. Vorbereitung zur Anwendung der Infusionslösungen ein Filter benutzt werden.

Der Wirkstoff Arsenitrioxid wird als Trisenox®-Konzentrat in einer Borsilikat-Glasampulle vermarktet. Nachdem die Glasampulle aufgebrochen ist, sollte das Konzentrat vor der Verdünnung mit einer Filterkanüle der Porenweite ≤ 5 µm filtriert werden, um eventuell vorhandene Glassplitter zu entfernen [45]. Dieses Vorgehen ist generell bei der zentralen Zubereitung von Arzneimitteln in Glasbrechampullen zu empfehlen.

Die Fachinformation von Evoltra® [37] schreibt vor, dass das Clofarabin-Konzentrat durch einen sterilen 0,2-µm-Spritzenfilter gefiltert und anschließend mit einer 0,9% NaCl-Infusionslösung verdünnt werden sollte. Wenn die Verwendung eines 0,2-µm-Spritzenfilters nicht möglich ist, muss das Konzentrat mit einer Filterkanüle der Porenweite 5 µm gefiltert, verdünnt und laut Fachinformation anschließend über einen In-Line-Filter (0,22 µm) appliziert werden. Da Filter der Porengröße 0,22 µm auf dem deutschen Markt nicht verfügbar sind, müssen Filter der Porengröße 0,2 µm zum Einsatz kommen. Warum eine Sterilfiltration des sterilisierten Infusionskonzentrats (indem man das Konzentrat sterilfiltriert zur Trägerlösung gibt oder während der Applikation sterilfiltriert) erforderlich ist, ist nicht bekannt.

In jeder Packung Mepact® ist neben dem Mifamurtid-Konzentrat ein apyrogener, latexfreier, steriler Einmalfilter enthalten, der bei der Rekonstitution und Entnahme des gelösten Konzentrats verwendet werden sollte [42]. Die Porengröße des hydrophilen Filters beträgt 3 µm, des hydrophoben integrierten Luftfilters 0,2 µm [43]. Laut Herstellerinformation dient dieser Filter dazu, Liposomen > 3 µm,

die Embolien verursachen könnten, aus der rekonstituierten Suspension zurück zu halten.

Das BfArM hat im März 2017 einen Informationsbrief bezüglich des Erwinase®-Engpasses und der Handhabung der Erwinase®-Chargen 179a* und 180a* herausgegeben [8]. Da diese Chargen Partikel enthalten können, sollte man als Vorsichtsmaßnahme eine 5-µm-Filter-Nadel benutzen, um das rekonstituierte Produkt aus der Durchstechflasche zu entnehmen. Sollten sich sichtbare Partikel darin befinden, sollte dies beim BfArM gemeldet werden.

Es bleibt zu beachten, dass das Fertigarzneimittel Spectri-la®, das aus Escherichia coli-Zellen mittels rekombinanter DNA-Technologie gewonnene Asparaginase enthält, nicht filtriert wird [27].

Porenweite der In-Line-Filtersysteme

Alle zu filtrierenden Arzneimittel (mit Ausnahme des albumingebundenen Paclitaxels) können über einen 0,2-µm-Filter appliziert und damit sterilfiltriert werden (Tab. 2). Albumingebundenes Paclitaxel soll laut Fachinformation als rekonstituierte Suspension mittels eines Infusionsbestecks mit integriertem 15-µm-Filter appliziert werden [12]. Das bedeutet, dass kein In-Line-Filter eingesetzt werden darf, sondern ein Infusionsbesteck, das üblicherweise in der Tropfkammer einen Filter der Porengröße 15 µm enthält, passend ist.

Protein-Bindungskapazität der In-Line-Filter

Bei einigen der zu filtrierenden Arzneimittel handelt es sich um Proteinarzneimittel, meist Antikörperzubereitungen. Diese neigen zur Bildung von (Mikro-)Aggregaten und daher wird die Filtration im Rahmen der Applikation empfohlen. Allerdings kann sich die Filtration auch nachteilig auf die physikalische Stabilität der Arzneimittel auswirken.

Übersicht In-Line-Filter für die parenterale Applikation

So können Adsorptionsphänomene am Filtermaterial und Scherstress durch die Filtration auftreten, wodurch es zu Wirksamkeitsverlusten kommen kann. Für einige Protein-arzneimittel wird daher die Verwendung eines Filters mit niedriger Protein-Bindungskapazität gefordert. Von den sieben betrachteten Filtersystemen enthalten sechs eine hydrophile PES-Filtermembran, die eine niedrige Proteinbindungskapazität hat. Diese Filter (Produkt 1–6) können als geeignet für Filtration von Proteinarzneimitteln eingestuft werden.

Bei Proteinarzneimitteln wird auch diskutiert, ob die Entnahme aus den Originalbehältnissen mit Spikes aus Plastikmaterialien erfolgen darf. Das Abraten von Spikes begründet sich aber eher mit der Gefahr, dass Partikel aus dem Stopfen ausgestanzt werden und diese als fremde Oberfläche zur Adsorption der Proteinarzneimittel führen können. Eine mögliche Inkompatibilität mit dem Spikematerial scheint eher nachrangig zu sein. Andererseits erzeugt man mit dem größeren Lumen des Spikes geringeren mechanischen Stress für das Protein als mit englumigen Kanülen. Das Aufziehen mit Chemospikes, die einen 5-µm-Filter im Flüssigkeitskanal enthalten, erscheint nicht sinnvoll, da es einen zusätzlichen Kraftaufwand für die herstellende Person darstellt und sich bei anschließender In-Line-Filtration während der Applikation erübrigt. Die im Chemoprotect® Spike von Codan enthaltene Polyamid-(Nylon-) Filtermembran hat eine niedrige Proteinbindungskapazität. Ergebnisse aus experimentellen Untersuchungen zur Kompatibilität der Proteinarzneimittel mit den Spikes sind nicht bekannt.

Sterilität, Pyrogenfreiheit und Endotoxinabscheidung von In-Line-Filtersystemen

Üblicherweise sind die in der Infusionstherapie zur Anwendung kommenden In-Line-Filter steril und pyrogenfrei und auch als solches gekennzeichnet. Die Filtersysteme werden in der Verpackung sterilisiert (Gammastrahlen, Ethylenoxid oder Autoklavierung) und gemäß Arzneibuch auf Sterilität und Endotoxine (Pyrogenfreiheit) geprüft. Davon muss unterschieden werden, dass es Filtersysteme mit einer hydrophilen, positiv geladenen Nylonfiltermembran gibt, die neben dem Siebeffekt auch eine Endotoxinabscheidung durch Bindung leisten können. Auf dem Markt befinden sich Filter der Porengröße 0,2 µm und 1,2 µm mit diesen Membranen. Die Bindung von aus gramnegativen Bakterien freigesetzten Endotoxinen an patientennah angebrachten In-Line-Filtersystemen mit positiv geladener Filtermembran ermöglicht es, die Standzeit der Infusionssysteme zu verlängern. Die Applikation von Proteinarzneimitteln über diese Filter ist nicht geprüft. Theoretisch könnte es zur Adsorption von Proteinen an den geladenen Filter kommen.

Inkompatibilitäten

Wenn Inkompatibilitäten zwischen einem Arzneimittel und Bestandteilen des Filtersystems vorliegen, müssen diese bei der Auswahl (z. B. DEHP bei Paclitaxel und Temsirolimus, PUR bei Cabazitaxel und PVC bei Cabazitaxel und Temsirolimus) berücksichtigt werden (Tab. 2). In der Vergangenheit wurde in PVC-Leitungen als Weichmacher DEHP verwendet. Es ist bekannt, dass lipophile Arzneimittel und Arzneimittel, die Lösungsvermittler enthalten, DEHP herauslösen können. Das DEHP-Leaching ist einerseits von den Produkteigenschaften und andererseits von Faktoren wie der Größe der Kontaktfläche, Temperatur und Flussrate bzw. Kontaktzeit abhängig. Das DEHP-Leaching durch Paclitaxel aus Infusionszubehör wurde intensiv untersucht. So wurde gezeigt, dass es bei kurzen PVC-Leitungen zu keiner signifikanten Freisetzung von DEHP kommt [44]. Bei simulierter Infusion von 250 ml einer Paclitaxelhaltigen Infusionslösung der Konzentration 1,2 mg/ml innerhalb von drei Stunden über ein PVC-haltiges Intrafix® AIR P (B. Braun) Infusionssystem wurden 15 mg DEHP herausgelöst [26]. Bei Verwendung eines IVEX-2-Filter-Sets mit einer kürzeren PVC-Leitung wurden 10 mg DEHP herausgelöst [45].

Der Hersteller von Jevtana® (Wirkstoff Cabazitaxel) gibt an, dass der In-Line-Filter PVC enthalten darf, allerdings keine PVC-Infusionsbeutel als Primärbehältnis für die Zubereitungen eingesetzt werden dürfen [38, 40]. Bezüglich der herausgelösten Menge von DEHP gibt es keinen großen Unterschied zwischen den Lösungsvermittlern Macroglycerolricinoleat und Polysorbat [19]. Im Vergleich zur Menge von Polysorbat 80 in Paclitaxel-Gry® ist in Jevtana® eine viel geringere Menge des Lösungsvermittlers Macroglycerolricinoleat 35 (Cremophor® EL) enthalten, sodass das Risiko für DEHP-Leaching mit Jevtana®-Zubereitungen geringer sein sollte.

Die Problematik des DEHP-Leachings und die Diskussion um die Toxizität des DEHP hat dazu geführt, dass die meisten Hersteller heute die PVC-Infusionsleitungen DEHP-frei herstellen. Das trifft auch für alle hier betrachteten Filtersysteme zu. So sind die heute im Markt befindlichen Intrafix® AIR P Filter DEHP-frei. Beim I.V.STAR® 10 (Codan) und Infufil Air 96 h (Fresenius) wird als Weichmacher ersatzweise TOTM (Tris(2-ethylhexyl)trimellitat) eingesetzt. Seit dem 21. März 2010 müssen alle Medizinprodukte, die Phtalate als Weichmacher enthalten, gekennzeichnet sein (Medizinprodukteverordnung 93/42/EWG). PVC-Produkte ohne entsprechende Deklaration enthalten also keine Phtalate.

Totvolumen von In-Line-Filtersystemen

Als ein Auswahlkriterium ist auch das Totvolumen verschiedener Filter zu betrachten. Beispielsweise hat der

Übersicht In-Line-Filter für die parenterale Applikation

I.V.STAR® 10 ein Totvolumen von 2,9 ml und das SmartSite® Low Sorbing Set von 5 ml (Tab. 1). Wenn das Volumen der zu verabreichenden Infusionslösung klein ist, beispielsweise 100 ml applikationsfertige Panitumumab-Zubereitung, kann die applizierte Dosis durch ein großes Totvolumen zu einem relevanten Anteil reduziert werden. In diesen Fällen sollte das Infusionssystem nachgespült werden, oder um das Risiko einer Kontamination zu vermeiden, ein Filtersystem mit kleinerem Totvolumen verwendet werden.

Standzeit von In-Line-Filtern

Für unterschiedliche Filter wird eine unterschiedliche maximale Einsatzdauer, auch als Standzeit bezeichnet, vom Hersteller empfohlen (Tab. 1). Die Standzeit gibt an, über welchen Zeitraum eine Filtration sicher gewährleistet werden kann. Wird der In-Line-Filter speziell für die Infusion des Antitumorzumittels angebracht, ist die Standzeit als unkritisch anzusehen. Erfolgt die Applikation über einen aus anderen Gründen bereits installierten Infusionsfilter (z. B. Infusionstherapie im Rahmen der Stammzelltransplantation oder bei Intensivpatienten), ist dessen Standzeit maßgeblich.

Auswahl des In-Line-Filtersystems

Die Auswahl eines geeigneten Filters für Tumortheraeutika sollte zunächst unter fachlichen Gesichtspunkten, insbesondere der Kompatibilität, getroffen werden. Sind mehrere Filtersysteme geeignet, spielt die Verfügbarkeit eine Rolle und nicht zuletzt auch der Preis.

Bei einzelnen Produkten wird ein geeigneter Filter mit jeder Packung des Fertigarzneimittels geliefert. Die überzähligen Filter können, sofern kompatibel, für andere Produkte genutzt werden. So werden beispielsweise in der Universitätsmedizin Mainz die jeder Lieferung von Opdivo® und Keytruda® beigegepackten Intrapur® Lipid 1,2-µm-Filter überwiegend genutzt. Bestellt werden zusätzlich die Infufil Air 96-h-Filter mit der Porengröße 0,2 µm. Wirkstofflösungen, die sowohl über 0,2 µm als auch über 1,2 µm Porengröße filtriert werden dürfen, erhalten bevorzugt die kostenlosen Intrapur® Lipid 1,2-µm-Filter beigegepackt. Dieses Vorgehen erachten wir als gerechtfertigt, da eine Partikelfiltration und nicht eine Sterilfiltration das Ziel ist.

Beim Einsatz von bereits erwähnten Sicherheitsinfusionssystemen stehen beispielsweise integrierte I.V.STAR® 10 Filter im Connect Z® von Codan oder integrierte Sterifix® Filter im Cyto-Set® Mix bzw. ProSet Cyto-Set® Mix von B. Braun zur Verfügung. Wie in Tabelle 1 dargestellt, ist der integrierte I.V. Star® 10 Filter in Connect Z® (Art.-Nr. 76.4445) aufgrund der Filtereigenschaften universell verwendbar. Der in Cyto-Set® Mix (Art.-Nr. A2903N) und ProSet Cyto-Set® Mix (Art.-Nr. 4188926) enthaltene Sterifix® Filter ist wie in der Tabelle 1 dargestellt PUR-haltig und

damit nur für Cabazitaxel ungeeignet. Für die Cabazitaxel-Applikation gibt es eine PVC-haltige aber PUR-freie Variante (Art.-Nr. 4188925). Beim Einsatz von sonstigen Sicherheitsinfusionssystemen mit integriertem Filter ist die Kompatibilität mit der zu applizierenden Wirkstofflösung entsprechend zu prüfen.

Interessenkonflikterklärung

Die Autoren geben an, dass keine Interessenkonflikte bestehen.

Evaluation and handling of in-line IV infusion filters for parenteral administration of anticancer drug products

For several anticancer drug products in-line IV infusion filters are to be used during administration. For these medicinal products the specifications of suitable filter systems were retrieved from the product information. Of note, for seven in-line filter systems which are available on the German market, characteristic features were compiled, e.g. pore size, type of filter membrane, absence of certain materials, protein binding capacity and dead volume. Suitable filter systems were identified for the individual medicinal product by matching the requirements and the specifications of the in-line-filters. Medication safety can be increased by enclosing or connecting the right in-line filter system to the right ready-to-administer antineoplastic preparation in the pharmacy-based centralized cytotoxic preparation unit.

Key words: antineoplastic medicinal products, in-line IV filter systems, administration

Literatur

1. ADIENNE S.r.l.S.U., Fachinformation Tepadina® 100 mg Pulver für ein Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 02/2016.
2. Amgen Europe B.V., Fachinformation Blincyto® 38,5 Mikrogramm Pulver für ein Konzentrat und Lösung zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 05/2016.
3. Amgen GmbH, Fachinformation Vectibix® 20 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 03/2015.
4. Anonymous. Risks due to particles in infusion therapy – experts promote use of infusion filters (Transl: Gefahren durch Partikel in der Infusionstherapie – Experten fordern Einsatz von Infusionsfiltern). Krankentpfl | 2004;4:297.
5. Antonelli M, Bonten M, Cecconi M, Chastre J, et al. Year in review in intensive care medicine 2012: III. Noninvasive ventilation, monitoring and patient-ventilator interactions, acute respiratory distress syndrome, sedation, paediatrics and miscellaneous. Intensive Care Med 2013;39:543–57.
6. B. Braun Melsungen AG, Partikelkontamination. [https://www.sichereinfusionstherapie.de/documents/french/Partikelkontamination\(1\).pdf](https://www.sichereinfusionstherapie.de/documents/french/Partikelkontamination(1).pdf). (Zugriff am 31.07.2017).
7. BD, Informationsschreiben über SmartSite Extension Set: 20350E-0006, persönliche Mitteilung von BD, datiert auf 19.06.2017.
8. BfArM, Information über den Lieferengpass von Erwinase® 10000 I.E./Durchstechflasche Pulver zur Herstellung einer Injektionslösung https://www.bfarm.de/SharedDocs/Risikoinformationen/Pharmakovigilanz/DE/RHR/2017/info-erwinase-lieferengpass.pdf?__blob=publicationFile&v=5, 23.03.2017.
9. Boehme M, Jack T, Köditz H, et al. In-line filtration minimizes organ dysfunction: New aspects from a prospective, randomized, controlled trial. BMC Pediatrics 2013;13:21.
10. Bristol-Myers Squibb GmbH & Co. KGaA, Fachinformation Opdivo® 10 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 05/2016.
11. Bristol-Myers Squibb GmbH & Co. KGaA, Fachinformation Yervoy® 5 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 04/2016.
12. Celgene Europe Limited, Fachinformation Abraxane® 5 mg/ml Pulver zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 06/2015.
13. CODAN I.V.STAR® 10, Produktinformation über Proteinbindung des In-fusionsfilters, Beschreibung der Supor Filtermembran, vom 11.08.2011, übermittelt an die Autoren am 23.06.2016.
14. CTI Life Sciences Limited, Fachinformation Pixuvri® 29 mg Pulver für ein Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 03/2014.
15. Ellenbogen R, Rubin L. Injectable fluid silicone therapy. Human morbidity and mortality. JAMA 1975;234:308–9.

Übersicht In-Line-Filter für die parenterale Applikation

16. Eli Lilly Nederland B.V., Fachinformation Cymarza® 10 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 01/2016.
17. Fresenius Kabi, Stellungnahme über die Proteinbindung von Filtermaterialien, schriftliche Mitteilung an die Autoren, Brief datiert auf den 03.03.2015.
18. Galen Limited, Fachinformation DaunoXome® 2-mg/ml-Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 07/2014.
19. Hashima Y, Seshimo F, Higuchi T, Yamazaki H. Development of a simple method for predicting the levels of di(2-ethylhexyl) phthalate migrated from PVC medical devices into pharmaceutical solutions. *Int J Pharm* 2005;298:126–42.
20. Jack T, Boehme M, Brent BE, Hoy L, et al. In-line filtration reduces severe complications and length of stay on pediatric intensive care unit: a prospective, randomized, controlled trial. *Intensive Care Med* 2012;38:1008–16.
21. Janssen-Cilag International NV, Fachinformation Caelyx® 2 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 04/2016.
22. Janssen-Cilag International NV, Fachinformation Darzalex® 20 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 06/2016.
23. Kossovsky N, Cole R, Zackson DA. Giant cell myocarditis associated with silicone. An unusual case of biomaterials pathology discovered at autopsy using X-ray energy spectroscopic techniques. *Am J Clin Pathol* 1990;93:48–52.
24. Kuramoto K, Shoji T, Nakagawa Y. Usefulness of the final filter of the IV infusion set in intravenous administration of drugs – contamination of injection preparations by insoluble microparticles and its causes. *Yakugaku Zasshi* 2006;126:289–95.
25. Lehr HA, Brunner J, Rangonwala R, Kirkpatrick CJ. Particulate matter contamination of intravenous antibiotics aggravates loss of functional capillary density in postischemic striated muscle. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:514–20.
26. Maas B, Huber C, Krämer L. Plasticizer extraction of Taxol®-in-fusion solution from various infusion devices. *Pharm World Sci* 1996;18:78–82.
27. Medac Gesellschaft für klinische Spezialpräparate mbH, Fachinformation Spectrila® 10000 E Pulver für ein Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 01/2016.
28. Merck Sharp & Dohme Limited, Fachinformation Keytruda® 50 mg Pulver für ein Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 04/2016.
29. Pacira Limited, Fachinformation Depocyte® 50 mg Injektionssuspension, Stand 06/2015.
30. PALL Corporationen, Informationen über das Filtermaterial PES. <http://www.pall.de/main/laboratory/product.page?id=gr78lid>. (Zugriff am 22.06.2016).
31. Panknin H-T. Filter in der Infusionstherapie: Randomisierte Studie belegt Reduktion von Komplikationen. *Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung*, Sonderdruck. <http://www.panknin-medkongress.de/publikationen.html>. (Zugriff am 28.07.2017).
32. Pattni BS, Chupin VV, Tochilin VP. New developments in liposomal drug Delivery. *Chem Rev* 2015;115:10938–66.
33. Pfizer Limited, Fachinformation Torisel® 30 mg Konzentrat und Verdünnungsmittel zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 01/2016.
34. Rodriguez MA, Martinez MC, Lopez-Artiguez M, Lusia M, et al. Lung embolism with liquid silicone. *J Forensic Sci* 1989;34:504–10.
35. Roche Registration Limited, Fachinformation Kadcyla® 100 mg/160 mg Pulver zur Herstellung eines Infusionslösungskonzentrats Stand 02/2016.
36. Roth JV. How to enter a medication vial without coring. *Anesth Analg* 2007;104:1615.
37. Sanofi-aventis groupe, Fachinformation Evoltra® 1 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 01/2016.
38. Sanofi-aventis groupe, Fachinformation Jevtana® 60 mg Konzentrat und Lösungsmittel zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 04/2016.
39. Sanofi-aventis groupe, Fachinformation Zaltrap® 25 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 05/2016.
40. Sanofi, Stellungnahme über Infusionsbeutel und Infusionsbesteck Jevtana®, schriftliche Mitteilung an die Autoren, Brief datiert auf den 14.03.2017.
41. Spectrum Pharmaceuticals, Inc., Prescribing Information Beleodaq® (belinostat) for injection, for intravenous administration, Stand 07/2014.
42. Takeda France SAS, Fachinformation Mepact® 4 mg Pulver zur Herstellung eines Infusionsdispersionskonzentrates, Stand 12/2013.
43. Takeda, Stellungnahme über den Filter von Mepact®, schriftliche Mitteilung an die Autoren, Brief datiert auf den 03.07.2017.
44. TEVA B.V., Fachinformation Paclitaxel-GRY® 6 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 03/2016.
45. TEVA B.V., Fachinformation Trisenox® 1 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung, Stand 11/2016.
46. Trissel LA, XU Q, Kwan J, Martinez JE. Compatibility of paclitaxel injection vehicle with intravenous administration and extension sets. *Am J Hosp Pharm* 1994;51:2804–10.
47. Walpot H, Franke RP, Burdard WG, Agtemkamp C, et al. The filter effectiveness of common 15-micron filters (DIN 58362). II: Scanning electron microscopy and roentgen analysis. *Infusionstherapie* 1989;16:133–9.
48. Wyeth Pharmaceuticals Company (Pfizer, Inc.), Prescribing Information Mylotarg® (gemtuzumabozogamicin for Injection), Stand 08/2015.
49. Yorioka K, Oie S, Oomaki M, Imamura A, et al. Particulate and microbial contamination in in-use admixed intravenous infusions. *Biol Pharm Bull* 2006;29:2321–3.

4. Zusammenfassung

Physikalisch-chemische Stabilität von Zytostatika-Zubereitungen

Für die Untersuchungen der physikalisch-chemischen Stabilität von Zytostatika-Zubereitungen wurde jeweils eine geeignete RP-HPLC Methode, basierend auf bekannten Methoden entwickelt und gemäß ICH Q2 (R1) Guideline mit dem jeweiligen Fertigarzneimittel validiert. An den vorab festgelegten Messzeitpunkten wurden Gehalts- und Reinheitsbestimmungen der Testlösungen mittels HPLC durchgeführt, die pH-Werte bestimmt und auf Farbänderungen bzw. sichtbare Partikel kontrolliert.

Zur Festlegung der Haltbarkeit sollte neben der physikalischen und chemischen Stabilität auch die mikrobiologische Stabilität herangezogen werden. Um diese zu verbessern, sollte die Lagerung der Anbrüche und hergestellten Zubereitungen im Kühlschrank bevorzugt werden. Für alle Testlösungen wurden die Stabilität daher bei Kühlagerung und wahlweise bei Raumtemperatur- oder Tiefkühlagerung bestimmt.

Plerixafor-haltige (Mozobil®) Zubereitungen

Das Bicyclamderivat Plerixafor (Mozobil®) fördert die Mobilisierung von Blutstammzellen nachhaltiger als G-CSF alleine. So können auch bei ‚Poor-Mobilizern‘ genügend Stammzellen gesammelt werden. Der Gehalt an Plerixafor in Mozobil®-Lösungen in Originalglasvials und in den applikationsfertigen Plastik-Einmalspritzen blieb unabhängig von der Lagertemperatur über den gesamten Untersuchungszeitraum von drei Monaten nahezu unverändert bei $100 \pm 6,4\%$. Zudem konnte keine relevante Zunahme der Peaks von Zersetzungsprodukten in den Chromatogrammen detektiert werden. In keiner der Untersuchungslösungen zeigten sich Farbänderungen oder sichtbare Partikel. Der mittlere pH-Wert blieb über den Untersuchungszeitraum hinweg nahezu unverändert (pH=6,7).

Mozobil® Injektionslösung 20 mg/mL ist in Originalglasvials nach Erstanbruch und aufgezogen in 2-teiligen Einmal-Spritzen über einen Zeitraum von drei Monaten bei Kühlagerung und RT physikalisch-chemisch stabil.

Carfilzomib-haltige (Kyprolis®) Zubereitungen

Der selektive Proteasominhibitor Carfilzomib (Kyprolis®) wird zur Behandlung von Patienten mit rezidiviertem, progredientem Multiplem Myelom nach mindestens einer Vortherapie eingesetzt. Als Testlösungen wurden rekonstituierte Kyprolis®-Lösungen in Original-

glasvials bzw. in Plastik-Einmalspritzen (2 mg/mL) und mit G5 verdünnte Lösungen in Plastik-Einmalspritzen (0,8 mg/mL) und PP/PE Infusionsbeuteln (0,6 mg/mL) hergestellt. Untersucht wurde die Stabilitäten der rekonstituierten Lösungen bei zwei verschiedenen Lagerbedingungen (Originalglasvials kühl, Plastik-Einmalspritzen bei RT) und der verdünnten Lösungen bei Kühlagerung und anschließender Lagerung bei RT über einen Zeitraum von maximal 28 Tagen. Bei Kühlagerung blieben der Carfilzomib-Gehalt und die pH-Werte über 28 Tage nahezu unverändert ($100 \pm <6\%$). In den bei 25 °C gelagerten, rekonstituierten Lösungen reduzierte sich der Carfilzomib-Gehalt ab Tag 14 auf $\leq 90\%$. Verschiedene Peaks von Abbauprodukten wurden in den HPLC-Chromatogrammen detektiert.

Mit Hilfe der Arrhenius-Gleichung wurde die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante des Carfilzomib-Abbaus bestimmt. Bei beiden verdünnten Carfilzomib-Lösungen besteht eine Linearität zwischen der Gehaltsänderung von Carfilzomib und der Zeit (Reaktion erster Ordnung). In keiner der Untersuchungslösungen zeigten sich Farbänderungen oder Partikelbildung über 28 Tage. Die rekonstituierte Kyprolis®-Lösung ist über 14 Tage und die mit G5 verdünnten Infusionslösungen sind über mindestens 10 Tage bei RT stabil. Kühl gelagerte Kyprolis®-Lösungen in Originalbehältnissen, Plastikeinmalspritzen und Infusionsbeuteln (PP/PE) sind unabhängig der Carfilzomib-Konzentration und dem Primärpackmittel über 28 Tage physikalisch-chemisch stabil.

Decitabin-haltige (Dacogen®) Zubereitungen

Decitabin (Dacogen®), ein DNA-Methyltransferase-Inhibitor, ist zur i.v.-Behandlung der AML bei Patienten über 65 Jahren als Zweitlinientherapie zugelassen. Decitabin ist in wässrigen Lösungen sehr instabil. Die Testlösungen von Dacogen® wurden daher mit vorgekühltem (2-8 °C) sterilen Wasser für Injektionszwecke unter aseptischen Bedingungen rekonstituiert (5 mg/mL) und über einen Untersuchungszeitraum von 24 Stunden kühl gelagert. Die verdünnten Decitabin-Lösungen in PE/PP-Infusionsbeuteln (0,5 mg/mL) wurden mit ebenfalls mit vorgekühlter (2-8 °C) NaCl 0,9%-Lösung hergestellt und über einen Zeitraum von 48 Stunden kühl gelagert. Darüber hinaus wurde die Langzeitstabilität von eingefrorenen (-25 °C), rekonstituierten Decitabin-Lösungen in 1 mL-Plastik-Einmalspritzen über einen Zeitraum von 28 Tagen untersucht.

In allen Testlösungen blieb der pH-Wert unverändert (pH=7). Es wurden keine Farbänderungen oder Partikel beobachtet. In kühlgelagerten rekonstituierten bzw. verdünnten Testlösungen lag der Decitabin-Gehalt nach 12 bzw. 24 Stunden über 90% der Initial-

konzentration. Verschiedene Peaks von Abbauprodukten wurden detektiert, die mit der Zeit zunahmen. In den eingefrorenen Testlösungen blieben der Carfilzomib-Gehalt und die pH-Werte über 28 Tage nahezu unverändert ($\pm 2\%$). Es wurden keine Peaks von Abbauprodukten beobachtet. Mit vorgekühltem Wasser für Injektionszwecke rekonstituiertes Dacogen[®] und anschließend mit vorgekühlter NaCl 0,9% zubereitete Dacogen[®]-Infusionslösungen in PP/PE-Infusionsbeuteln sind bei Kühl Lagerung physikalisch-chemisch für zwölf bzw. 24 Stunden stabil. Die rekonstituierte Dacogen[®]-Lösung ist über 28 Tage im Tiefkühlschrank ($-25\text{ }^{\circ}\text{C}$) stabil. Anbrüche können portioniert in Plastik-Einmalspritzen aufgezogen, tiefgekühlt aufbewahrt und für die nächste Zubereitung nach dem Auftauen verwendet werden.

Auswahl und Umgang mit Filtern zur Zubereitung und parenteralen Applikation von Tumortheraeutika

Für einige Tumortheraeutika sind laut Fach- und Gebrauchsinformation Filter bei der Zubereitung und/oder Applikation zu verwenden, um mögliche Partikelkontamination zu beseitigen. Je nach Formulierung des Arzneimittels und Eigenschaften des Fertigarzneimittels, muss die passende Porengröße bzw. kompatibles Filtermaterial für die Zubereitung und/oder Applikation ausgewählt werden.

Bei der Applikation von Tumortheraeutika werden In-Line-Filter zwischen Infusionsbehälter und Infusionssystem oder patientennah nach dem Infusionssystem angebracht. Auf dem deutschen Markt stehen Filter der Porenweite $0,2\text{ }\mu\text{m}$ (oder $0,22\text{ }\mu\text{m}$) und $1,2\text{ }\mu\text{m}$ zur Verfügung. Um die Auswahl der geeigneten Filter valide durchführen zu können, wurden die Anforderungen an die Materialeigenschaften der Filtersysteme für den jeweiligen Wirkstoff und die Eigenschaften von ausgewählten, auf dem deutschen Markt verfügbaren Filtersets analysiert. Bei Übereinstimmung wurde das Filterset für das jeweilige Arzneimittel in eine Positivliste geeigneter Filtersets aufgenommen.

Von den 107 geprüften Tumortheraeutika sollen 19 über einen In-Line-Filter appliziert werden. Für die Analyse wurde zunächst die Porenweite des Filters berücksichtigt. Es wurde kritisch beurteilt, ob das Filtersystem PVC-/DEHP-frei ist. I.V.STAR[®] 10 von Codan und Infufil Air, 96h von Fresenius Kabi stellen gemäß der deklarierten Eigenschaften geeignete Filtersysteme mit der Porengröße von $0,2\text{ }\mu\text{m}$ dar. Wenn das Produkt auch über einen $1,2\text{ }\mu\text{m}$ Filter gefiltert werden darf, können Intrapur[®] Lipid $1,2\text{ }\mu\text{m}$ von B. Braun und I.V.Star[®] F 10 von Codan verwendet werden. Beim albumingebundenen Paclitaxel (Abraxane[®]) kann ein Infusionsbesteck ohne zusätzlichen In-Line-Filter einge-

setzt werden, da der 15 µm Filter in der Tropfkammer (falls ein Filter vorhanden ist) die richtige Porengröße hat. Beim Einsatz von Sicherheitsinfusionssystemen mit integriertem Filtersystem ist die Kompatibilität mit der zu applizierenden Wirkstofflösung entsprechend zu prüfen. In der Regel sind die handelsüblichen Filtersysteme eingebaut und gelten die oben gegebenen Empfehlungen analog.

5. Literaturverzeichnis

Die Literaturquellen der eingereichten oder publizierten Veröffentlichungen sind an dieser Stelle nicht aufgelistet (siehe dazu in der jeweiligen Originalpublikation).

1. Schröter C, Lanz S. Medikamentöse Tumorthérapien. Chemotherapien, Antihormontherapien, Immuntherapien. Ein Ratgeber der Krebsliga für Betroffene und Angehörige. Krebsliga Schweiz. 2012(2):1-76.
2. Freund M, Lüftner D. Herausforderung demografischer Wandel. Bestandsaufnahme und künftige Anforderungen an die onkologische Versorgung. Gesundheitspolitische Schriftenreihe der DGHO. 2013;1:1-164.
3. Barnes B, Bertz J, Buttmann-Schweiger N, Fiebig J, Jordan S, Kraywinkel K, et al. Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016. 2016:1-274.
4. WHO. GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx. 2016 Oct; [cited 2017 Oct 01].
5. NCI. NCI Dictionary of Cancer Terms. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms?cdrid=45368>. 2016 Oct; [cited 2017 Oct 01].
6. Tobias JS, Hochhauser D. Cancer and its Management. 7th ed. In: Wiley-Blackwell. John Wiley & Sons, Ltd. 2014;7:560-85.
7. Tobias JS, Hochhauser D. Cancer and its Management. 7th ed. In: Wiley-Blackwell. John Wiley & Sons, Ltd. 2014;7:545-60.
8. Friedrich C. Von der Immunologie bis zu Salvarsan. Pharmazeutische Zeitung online <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=26432>. 2004;11.
9. Pfreundschuh M. Prinzipien der medikamentösen Tumorthérapie. In: Schmoll HJ, Höffken K, Possinger K. Kompendium Internistische Onkologie. 2006:651-702.
10. Efferth T. e-Vorlesung: Onkologie. Johannes Gutenberg Universität Mainz. Sommersemester 2011.
11. BMJV. Verordnung zum Schutz vor Gefahrstoffen (Gefahrstoffverordnung-GefStoffV). https://www.gesetze-im-internet.de/gefstoffv_2010/GefStoffV.pdf. 2010; [zitiert 2017 Okt 01]:15-6.
12. BMJV. Technischen Regeln für Gefahrstoffe. <https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRGS/TRGS-525.html>. 2014; [zitiert 2017 Okt 01]:1-27.
13. DGUV. Zytostatika im Gesundheitsdienst. Informationen zur sicheren Handhabung von Zytostatika. http://www.unfallkasse-berlin.de/fileadmin/user_data/service/broschueren/informationen-fur-beschaeftigte-in-den-betrieben/krankenhaus_und_op_personal/merkblatt__22sichere_handhabung_von_zytostatika.pdf. 2008; [zitiert 2017 Okt 01]:1-44.
14. Preiß J, Honecker F, Claßen J, Dornoff W. Zytostatikahandhabung-Umgang mit Zytostatika.

<http://www.onkologie2017.de/zytostatikahandhabung/zytostatika.htm> (aus Taschenbuch Onkologie-Interdisziplinäre Empfehlungen zur Therapie 2016/17). 2016;18.

15. BMJV. Gesetz zum Schutz vor gefährlichen Stoffen (Chemikaliengesetz-ChemG). <https://www.gesetze-im-internet.de/chemg/ChemG.pdf>. 1980; [zitiert 2017 Okt 01]:1-44.

16. Bundesapothekerkammer. Aseptische Herstellung und Prüfung applikationsfertiger Parenteralia mit CMR-Eigenschaften der Kategorie 1A oder 1B. Leitlinie der Bundesapothekerkammer zur Qualitätssicherung. 2012:1-7.

17. Stadler F. Gefährliche Verwürfe und die Rolle der Industrie. DAZ online <https://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/news/artikel/2016/02/19/die-rolle-der-industrie>. 2016.

18. Thiesen J, Sarakbi I, Krämer I. Die STABIL-Liste® 7. Auflage 2015. Krankenhauspharmazie. 2016;37:485-96.

19. Lemoli R. Risk factors for poor mobilisation and clinical options for intervention. 36th Annual Meeting of the European Group for Blood and Bone Marrow Transplantation (EBMT) in Wien, Austria. 2010.

20. Montgomery FU, Cichutek K, Scriba PC, Ehninger G. Richtlinie zur Herstellung und Anwendung von hämatopoetischen Stammzellzubereitungen. Deutsches Ärzteblatt. 2014:1-25.

21. Cellex Collection Center. Periphere Stammzellentnahme. <https://www.cellexme.de/blutstammzellspende/arten-der-entnahme/periphere-stammzellentnahme>. [zitiert 2017 Okt 01].

22. Duhrsen U, Villeval JL, Boyd J, Kannourakis G, Morstyn G, Metcalf D. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. Blood. 1988;72(6):2074-81.

23. Hoglund M. Glycosylated and non-glycosylated recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF)--what is the difference? Med Oncol (Northwood, London, England). 1998;15(4):229-33.

24. Fischer JC, Frick M, Wassmuth R, Platz A, Punzel M, Wernet P. Superior mobilisation of haematopoietic progenitor cells with glycosylated G-CSF in male but not female unrelated stem cell donors. Br J Haematol. 2005;130(5):740-6.

25. To LB, Levesque JP, Herbert KE. How I treat patients who mobilize hematopoietic stem cells poorly. Blood. 2011;118(17):4530-40.

26. EPAR. Mozobil 20 mg/ml solution for injection. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/001030/WC500030686.pdf. 2009; [cited 2017 Oct 01]:1-26.

27. Liles WC, Rodger E, Broxmeyer HE, Dehner C, Badel K, Calandra G, et al. Augmented mobilization and collection of CD34+ hematopoietic cells from normal human volunteers stimulated with granulocyte-colony-stimulating factor by single-dose administration of AMD3100, a CXCR4 antagonist. Transfusion. 2005;45(3):295-300.

28. DiPersio JF, Micallef IN, Stiff PJ, Bolwell BJ, Maziarz RT, Jacobsen E, et al. Phase III prospective randomized double-blind placebo-controlled trial of plerixafor plus granulocyte

colony-stimulating factor compared with placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for autologous stem-cell mobilization and transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* : 2009;27(28):4767-73.

29. DiPersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A, Micallef IN, Stiff PJ, Kaufman JL, et al. Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2009;113(23):5720-6.

30. Sanofi-Aventis. Fachinformation. Mozobil 20 mg/ml Injektionslösung. <https://meinsanofide/produkte/Mozobil/Downloads?id=b5c4035c-9ce3-4dda-8236-e42e7eba350f>. 2017; [zitiert 2017 Okt 01]:1-6.

31. Kortüm M, Driessen C, Einsele H, Goldschmidt H, Gonsilius E, Kropff M, et al. Multiples Myelom. Empfehlungen der DGHO für die Diagnostik und Therapie hämatologischer und onkologischer Erkrankungen. <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/multiples-myelom/@@view/html/index.html>. 2013; [zitiert 2017 Okt 01]:1-28.

32. DGHO. Stellungnahme zur Nutzenbewertung des G-BA von Arzneimitteln für seltene Leiden gemäß § 35a SGB V Carfilzomib. <https://www.dgho.de/informationen/stellungnahmen/fruehe-nutzenbewertung/Carfilzomib%20DGHO%20Stellungnahme%2020160405.pdf>. 2016; [zitiert 2017 Okt 01]:1-7.

33. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Blade J, Barlogie B, Anderson K, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006;20(9):1467-73.

34. Stewart AK, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Masszi T, Spicka I, Oriol A, et al. Carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2015;372(2):142-52.

35. Trepel M. Aktuelle Therapie des Multiplen Myeloms. Vortrag auf dem pharmazeutisch-onkologischen Kongress NZW München. 2016.

36. EPAR. Kyprolis 10/30/60 mg powder for solution for infusion. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003790/WC500197692.pdf. 2016; [cited 2017 Oct 01]:1-53.

37. Amgen-Satellitensymposium. „Tiefer, schneller, länger – was bringt die Zukunft bei der Behandlung des multiplen Myeloms?“ 32. Deutschen Krebsskongress in Berlin. http://www.myelom-deutschland.de/wp-content/uploads/2016/03/20160330_JO-Multiples-Myelom-Carfilzomib-bereichert-das-Armamentarium.pdf. 2016; [zitiert 2017 Okt 01]:1.

38. Amgen. Fachinformation. Kyprolis® 10/30/60 mg Pulver zur Herstellung einer Infusionslösung. https://fachkreiseamgende/x_download.php?t=f&n=1&id=526. 2016; [zitiert 2017 Okt 01]:1-13.

39. EPAR. Vidaza 25 mg/mL powder for suspension for injection. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000978/WC500050239.pdf. 2016; [cited 2017 Oct 01]:1-34.

40. DGHO. Stellungnahme zur Nutzenbewertung des G-BA von Arzneimitteln für seltene

- Leiden gemäß § 35a SGB V und der Dossierbewertung im IQWiG Bericht Nr. 150 Decitabin. <https://www.dghode.de/informationen/stellungnahmen/fruehe-nutzenbewertung/Decitabin%20DGHO%20Stellungnahme%2020130219.pdf>. 2013; [zitiert 2017 Okt 01]:1-7.
41. Krug U, Rolig C, Koschmieder A, Heinecke A, Sauerland MC, Schaich M, et al. Complete remission and early death after intensive chemotherapy in patients aged 60 years or older with acute myeloid leukaemia: a web-based application for prediction of outcomes. *Lancet*. 2010;376(9757):2000-8.
42. EPAR. Dacogen 50 mg powder for concentrate for solution for infusion. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002221/WC500133569.pdf. 2017; [cited 2017 Oct 01]:1-27.
43. Leone G, Teofili L, Voso MT, Lubbert M. DNA methylation and demethylating drugs in myelodysplastic syndromes and secondary leukemias. *Haematol*. 2002;87(12):1324-41.
44. Ghoshal K, Datta J, Majumder S, Bai S, Kutay H, Motiwala T, et al. 5-Aza-deoxycytidine induces selective degradation of DNA methyltransferase 1 by a proteasomal pathway that requires the KEN box, bromo-adjacent homology domain, and nuclear localization signal. *Mol Cell Biol*. 2005;25(11):4727-41.
45. Kantarjian HM, Thomas XG, Dmoszynska A, Wierzbowska A, Mazur G, Mayer J, et al. Multicenter, randomized, open-label, phase III trial of decitabine versus patient choice, with physician advice, of either supportive care or low-dose cytarabine for the treatment of older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2012;30(21):2670-7.
46. Lin KT, Momparler RL, Rivard GE. High-performance liquid chromatographic analysis of chemical stability of 5-aza-2'-deoxycytidine. *J Pharm Sci*. 1981;70(11):1228-32.
47. Stresemann C, Lyko F. Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine. *Int J Cancer*. 2008;123(1):8-13.
48. Janssen-Cilag. Fachinformation. Dacogen® 50 mg Pulver für ein Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. <http://fachinfo.de:3001/suche/fi/014210>. 2016; [zitiert 2017 Okt 01]:1-6.
49. Parenteralia (8.0/0520) Grundwerk. Ph. Eur. 2014;8:1196-9
50. BBraun. Partikelkontamination. Risikoprävention in der Infusionstherapie. [http://www.sichereinfusionstherapie.de/documents/french/Partikelkontamination\(1\).pdf](http://www.sichereinfusionstherapie.de/documents/french/Partikelkontamination(1).pdf). 2011; [zitiert 2017 Okt 01]:1-16.
51. Anonymous. Risks due to particles in infusion therapy-experts promote use of infusion filters. *Krankenpfl J*. 2004;42(3-4):97.

6. Anhang

Folgende Teile der vorliegenden Arbeit wurden vorab eingereicht oder veröffentlicht:

Publikationen

SH. Kim, J. Thiesen, I. Krämer. Physicochemical Stability of Mozobil[®] (Plerixafor) Solution for Injection in Glass Vials and Syringes over a Three-Month Storage Period. Pharmaceutical Technology in Hospital Pharmacy, online erschienen: 10. Aug. 2016, DOI: <https://doi.org/10.1515/pthp-2016-0011>

SH. Kim, I. Krämer. Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib nach Rekonstitution und in applikationsfertigen Zubereitungen. Krankenhauspharmazie 2017;38:377-82

SH. Kim, I. Krämer. Physicochemical stability of Carfilzomib (Kyprolis[®]) containing solutions in glass vials, ready-to-administer plastic syringes and infusion bags over a 28-day storage period. Journal of Oncology Pharmacy Practice, publiziert am 23. Okt. 2017, DOI: [10.1177/1078155217735881](https://doi.org/10.1177/1078155217735881)

SH. Kim, RM. Heeb, I. Krämer. Physicochemical stability of Decitabine (Dacogen[®]) containing solutions in glass vials and ready-to-administer infusion bags stored under refrigeration over a 48-hour storage period. Pharmaceutical Technology in Hospital Pharmacy, online erschienen: 4. Nov. 2017, DOI: <https://doi.org/10.1515/pthp-2017-0025>

SH. Kim, B. Stollhof, I. Krämer. Auswahl und Umgang mit In-Line-Filtern zur parenteralen Applikation von Tumorthérapeutika. Krankenhauspharmazie 2018;39:11-18, eingereicht am 7. Jul 2017, zum Druck freigegeben am 21. Dez. 2017

Posterbeiträge

ADKA, 41. Wissenschaftlicher Kongress und Mitgliederversammlung 2016 Aachen (02. bis 04. Juni 2016), Poster- Nr. 48: Physikalisch-chemische Stabilität von Plerixafor (Mozobil® Injektionslösung 20 mg/ml) nach Erstanbruch und in Einmalspritzen

ADKA, 42. Wissenschaftlicher Kongress und Mitgliederversammlung 2017 Würzburg (11. bis 13. Mai 2017), Poster-Nr. 41: Physikalisch-chemische Stabilität von Carfilzomib (Kyp-rolis®) im Originalbehältnis nach Erstanbruch und in applikationsfertigen Zubereitungen

Poster-Preis im Rahmen der 42. ADKA-Mitgliederversammlung im Bereich „Wissenschaft“

Vorträge

5. LAUD Forschungstagung 2015 Aachen (28. Nov 2015), Physikalisch-chemische Stabilität von Plerixafor (Mozobil® Injektionslösung 20 mg/ml) nach Erstanbruch

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass die vorliegende Dissertation von mir selbstständig und ohne unerlaubte Hilfsmittel oder fremde Hilfe angefertigt wurde.

Lebenslauf

Name, Vorname	Kim, Sun Hee
Geburtsdatum	18.02.1989
Anschrift	Richard-Schirrmannstr. 10 55122 Mainz sunhee.kim@unimedizin-mainz.de 0176/32624766; 06131/17-4463
Sprachkenntnisse	Koreanisch (Muttersprache), Deutsch, Englisch, Französisch
Staatsangehörigkeit	Deutsch

Schulausbildung

1995 bis 2001	Myungjung-Grundschule, Ulsan
2001 bis 2005	Freie Christliche Schule, Darmstadt
2005 bis 2008	Edith-Stein-Schule, Darmstadt
Schulabschluss	Allgemeine Hochschulreife (Abitur)

Hochschulausbildung

2008 bis 2014	Studium der Pharmazie an der Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz
01.05. bis 31.10.2013	Erste Hälfte des Praktischen Jahres in der Apotheke der Universitätsmedizin Mainz
01.11. bis 30.04.2014	Zweite Hälfte des Praktischen Jahres in der Universitätsapotheke zum Göldehen Engel, Mainz
21. 05. 2014	Approbatien als Apothekerin

Berufsausübung

Seit 01.09.2014	tätig in der Zytostatika-Abteilung der Apotheke Universitätsmedizin Mainz
-----------------	---

Promotion

Seit 01.09.2014	Doktorandin im Fachbereich Klinische Pharmazie der Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz
-----------------	--

Stand Dezember, 2017

Danksagung

Meine Promotionszeit begann im September 2014 als ich eine E-Mail von [REDACTED] über das Angebot zu einem Promotionsstudium bekommen hatte. In drei Jahren konnte ich sehr viele wertvolle Erfahrungen sammeln. Ohne Unterstützung wäre dies sicherlich nicht möglich gewesen.

Zuerst bedanke ich mich ganz herzlich bei [REDACTED] für die Aufnahme in ihren Arbeitskreis und die Betreuung meiner Untersuchungen sowie der Doktorarbeit. Ihr Engagement und Kritiken waren zielführend für meine Arbeit. In den Besprechungen, für die sie sich viel Zeit genommen hatte, konnte ich mein Wissen erweitern, worüber ich mich heute freue. Ebenso möchte ich mich für die Erstellung des Erstgutachtens herzlich bedanken.

Vielen lieben Dank auch an Herrn [REDACTED] für die Bereitschaft und Erstellung des 2. Gutachtens.

Ich möchte mich auch gerne bei [REDACTED] bedanken, die sich Zeit für meine Betreuung genommen hatte. Mit ihr konnte ich die Versuchspläne überprüfen und die Ergebnisse diskutieren. Ich bedanke mich auch für das Korrekturlesen bei den Publikationen.

Ich bedanke mich auch bei [REDACTED] für die Einweisung und Einarbeitung mit den Analytik-Geräten. Mit seiner Hilfe konnten die analytische Untersuchungen, v. a. die erste, problemlos durchgeführt werden.

Mein Dank geht auch an Sanofi GmbH und Amgen GmbH für die Bereitstellung der Themen und Material. Mit deren Hilfen konnten die Untersuchungen durchgeführt werden.

Den Kollegen und Kolleginnen der Apotheke Unimedizin Mainz möchte ich auch herzlich danken. In der Zytostatika-Abteilung habe ich als meine erste Arbeitsstelle sehr viel gelernt und Erfahrungen gesammelt. Die effektive Zusammenarbeit war mir auch eine große Freude. Ich bedanke mich auch bei anderen Doktoranden, mit denen ich (auch privat) viel zusammen unternommen habe und dabei sehr viel Spaß hatte und weiterhin haben werde.

Zuletzt möchte ich mich natürlich bei meinen Eltern, [REDACTED] und [REDACTED] bedanken, die meine Einwanderung nach Deutschland ermöglicht haben. Ohne ihre Bereitschaften und Hilfe wäre es nicht möglich gewesen, überhaupt die Chance zu haben, in Deutschland aufzuwachsen, zu studieren und zu promovieren. Ich bedanke mich auch bei meiner Großmutter [REDACTED]. In schlechten und guten Zeiten war sie immer für mich da und bereit für emotionale Telefonate. Bei [REDACTED], meiner kleinen Schwester, möchte ich mich auch für die Unterstützung und Kaffeepausen zum Aufmuntern bedanken.