



Dr. Bernd Renger

More than Filling.



Fallen beim Fill & Finish...

Symposium der Fachgruppe
Arzneimittelkontrolle/ Pharmazeutische
Analytik der DPhG
10./11. Oktober 2008, Bonn



Topics

- Vetter Pharma
- Aseptisch vorgefüllte Injektionssysteme
- Mögliche Interaktionen
- Ausgewählte Beispiele

Vetter - Zahlen & Fakten



- Hauptsitz in Ravensburg
- Ca. 1.900 Mitarbeiter
- Gesamtkapazität bis zu 400 Millionen Produktionseinheiten pro Jahr
- 21 Kundenprodukte mit FDA-Zulassung
- 140 Patente, u.a. Lösungen zum Schutz gegen Nachahmung und Fälschung
- Globale Erfahrung und Expertise mit Zulassungsbehörden (FDA, EMEA, Kanada, Russland, Brasilien, Mexiko, Saudi Arabien, Iran, Algerien, Süd Korea, Taiwan...)
- Spezialist auf dem Gebiet der aseptischen Abfüllung und Lyophilisierung

3 /



Vetter - Verarbeitete Systeme

Verarbeitete Applikationssysteme für flüssige und lyophilisierte Arzneimittel



Doppelkammer-spritze mit Lyophilisat/Lösungsmittel, flüssig/flüssig: Vetter Lyo-Ject®
Füllvolumen: 0,5ml - 5ml



Doppelkammer-karpule mit Lyophilisat/Lösungsmittel, flüssig/flüssig: V-LK®
Füllvolumen: 0,5ml - 1,3ml



Einkammerspritze mit Originalitätsverschluss V-OVS®
Füllvolumen: 0,5ml - 10ml



Einkammerspritze mit eingeklebter Nadel RNS / V-OVS NS®
Füllvolumen: 0,1ml - 1,1ml



Einkammer-karpule
Füllvolumen: 0,1 ml - 3,2 ml



Vial (flüssig, lyophilisiert)
Füllvolumen: 2,0ml - 30,0ml

4 /



Vorteile vorgefüllter Systeme

- Optimaler Wirkstoffeinsatz
- Schnelle und einfache Anwendung am Patienten (Convenience) → Life Cycle Management
- Höhere Arzneimittelsicherheit
- Bei Lyophilisaten: Schonende und sichere Rekonstitution

Risiken vorgefüllter Systeme

”There are distinct advantages of prefilled syringes and autoinjectors, yet many challenges are before us, both from a development and regulation perspective, particularly involving drug/device interactions”

Ravi Harapanhalli, CDER Office of New Drug Assessment, CMC Branch, 2007

Risiken

- Sterilität bei aseptischen Prozessen
- Partikel
- Licht
- Temperatur
- Wechselwirkungen mit dem Applikationssystem

Risiken

Interaktionen sensibler Produkte wie monoklonale Antikörper, rekombinanten Proteine (Wachstumshormone, EPO...) mit und durch

- Glasoberfläche, "imbedded impurities", Silikon
- Stopfen – Feuchtigkeit, Füllstoffe, "leachables", Silikon
- Nadel- & Klebematerial
- Scherkräfte (Rühren, Pumpen, Filtrieren)
- Abrieb aus Prozessequipment (Pumpen...)

Risiken

Mögliche Auswirkungen dieser Interaktionen

- Absorptionsphänomene
- Dimerisierung, Aggregation → Trübung → Partikelbildung
- Oxidationsreaktionen
- Aktivierung von Proteasen
- Strukturveränderungen
- hämolytische Effekte

Der “Tungsten Issue”

2003 wurden bei einem rekombinanten Interferon, abgefüllt in Fertigspritzen, erhöhte Werte von “subvisible particles“ beobachtet. Kurz darauf wurden auch vermehrt Spritzen mit weißen Proteinpartikel gefunden

- SEC → erhöhte Aggregation
- Keine Daten zur Verträglichkeit und Sicherheit
- Grenzwerte der Zulassung - basierend auf Entwicklungschargen – wurden weit übertroffen
- Anfangsverdacht → Abfüllprozess beim Lohnhersteller
- Marktversorgung musste aufrecht erhalten werden!

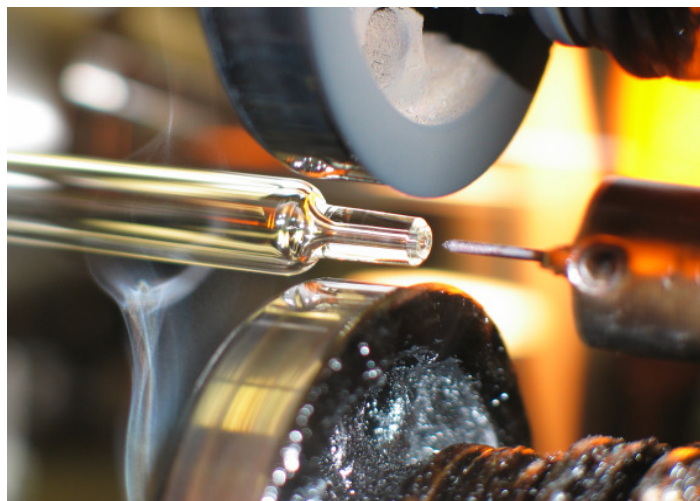
Der "Tungsten Issue"

Die mit der FDA abgesprochenen (!) Untersuchungen umfassten alle denkbaren Parameter des Produktes, des Abfüllprozesses und der eingesetzten Materialien. Ergebnis:

- Ausgangsstoffe oder produktberührenden Materialien → Keine Änderungen
- Herstellprozess (Silikonisierung, mechanischer Stress durch Pumpen etc.) → Keine Änderungen
- Nach mehreren Monaten wurden in den Proteinpartikeln mit EDX (Energy Dispersive X-Ray) Wolfram gefunden
- Untersuchung auf Wolfram → veranlasst durch "rumors" → analoge Probleme eines anderen Unternehmens

Glaskörper

Formung des Konus



Glaskörper

Formung des Konus



13 /



Wolfram in der Spritzenherstellung

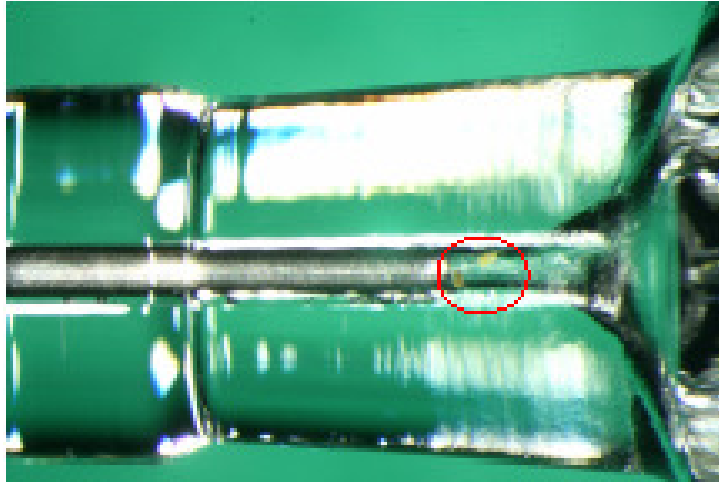
Die Formung des Konus erfolgt bei ca. 1.200 °C. Der Konuskanal wird mittels eines Pins aus Wolfram hergestellt.

- Der Pins muss innerhalb weniger Stunden (3 - 4 h) ersetzt werden, da er abgetragen wird
- Konuskanal → oft metallische Wolframpartikel → meist im Glas eingeschlossen ("imbedded particles")
- Zusätzlich enthalten Spritzenkörper je nach Lieferant, Herstelllinie, Art der Spritze (mit oder ohne einklebte Nadel = "staked needle") lösliche Wolframsalze unterschiedlicher Oxidationsstufen, meist Wolframate
- Mengen: bis zu > 800 ng, Durchschnitt Luerkonus-Spritzen: 400 ng - ICPMS)

14 /



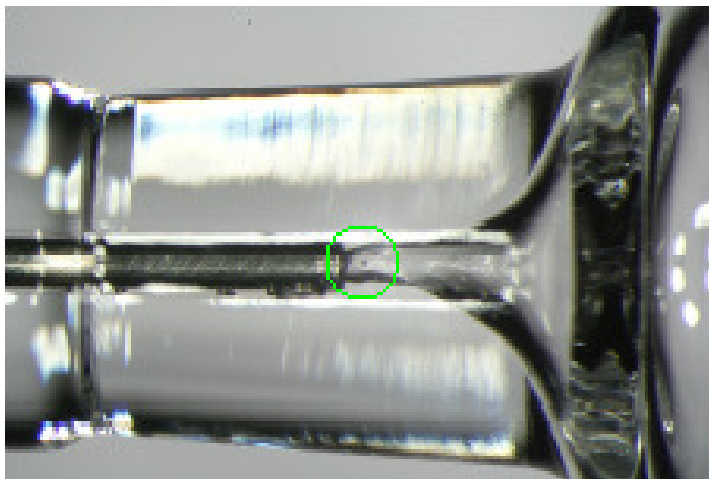
Wolfram in der Spritzenherstellung



15 /



Wolfram in der Spritzenherstellung



16 /



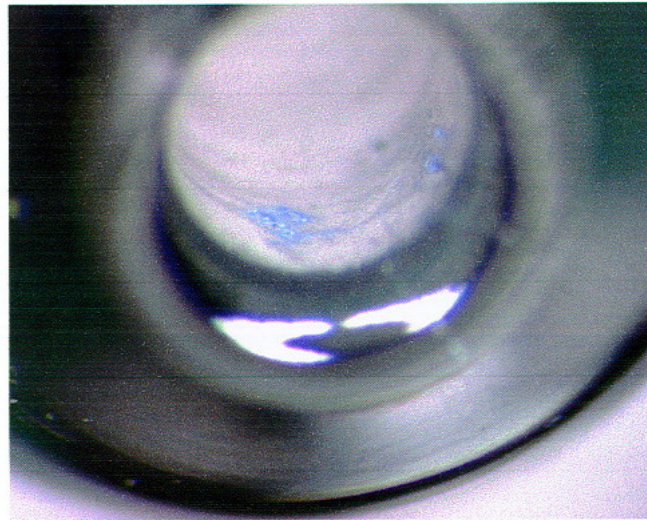
Der "Tungsten Issue"

- Die Wolframate werden im weiteren Waschprozess weitgehend aber nicht vollständig entfernt → Durchschnitt 7 ng/Spritze → weit unter allen Grenzwerten (Catalysts, Genotoxic Impurities)
- Durch bessere Prozessführung – Temperaturkonstanz, Frequenz der Pinerneuerung etc. – konnte inzwischen die Wolframbelastung stark reduziert werden
- Weitergehende Optimierungen – u.a. Überlagerung mit Stickstoff – führt zu "low tungsten" Spritzenkörpern
- Im Fall des Interferons konnte gezeigt werden, dass Wolframsalze ab einer bestimmten Konzentration die Bildung von Aggregaten induziert (~ ab 20 ng/Spritze)

Der "Tungsten Issue"

- Es konnte nie geklärt werden, warum dieses Phänomen nicht schon während der Stabilitätsstudien und in früheren Chargen aufgetreten ist
 - Das Produkt wurde auf Wolframfreie Spritzen umgestellt
- Aber:
- Wolframfreie Spritzen werden mit Werkzeugen aus Platin und Iridium hergestellt!
 - Spritzen, die mit Wolframcarbid ("hard metal") Pins hergestellt werden enthalten zusätzlich Kobalt!

Kobalt in der Spritzenherstellung



19 /



Red Cell Aplasia

Ab 1998 mit Kumulation in 2002 wurden bei subkutaner Anwendung eines rekombinanten humananalogen EPOs, abgefüllt in Fertigspritzen, vermehrt (~ 75 Fälle) eine seltene Form der Anämie ("Pure Red Cell Aplasia") beobachtet

- Meist Dialysepatienten → klarer Zusammenhang mit EPO Gabe → EPO stimuliert offenbar die Bildung von Antikörpern
- Vermuteter Grund → Schädigung des EPO Moleküls
- Anfangsverdacht → Abfüllprozess beim Lohnhersteller

20 /



Red Cell Aplasia

Unter Einsatz von 100 Mitarbeitern und 100 Mio. \$ wurden Untersuchung des EPOs, aller eingesetzten Materialien sowie aller denkbaren Parameter im Abfüllprozess durchgeführt. Ergebnis:

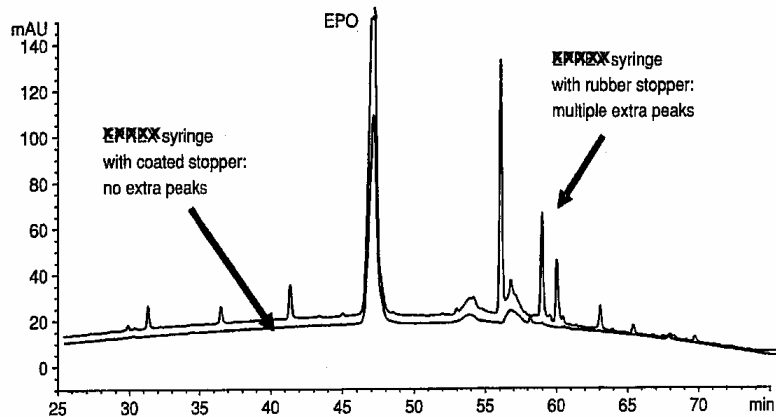
- Keinerlei Veränderung des Wirkstoffmoleküls
- Daher kein *direkter* Einfluss des Herstellprozesses. Variabilität der Silikonisierung ohne Einfluss
- Aber - das erste Auftreten der PRCA in 1998 korrelierte zeitlich mit einer erfolgten Änderung der Zusammensetzung – HSA wurde durch Polysorbat 80 ersetzt

Red Cell Aplasia

- Durch Polysorbat 80 konnte im Tierversuch keine Antikörperbildung stimuliert werden
- Einsatz einer neuen sensitiven RP HPLC zeigt nach 18 Monaten in der Neuformulierung das Auftreten von Leachables aus dem Stopfen (1-2 µg/Spritze)
- Im Tierversuch konnte nachgewiesen werden, dass diese Leachables (u.a. 2,2-Methylen-bis-4-*tert*-amylphenol) bei subkutaner Gabe als Adjuvans bei der Bildung von Antikörpern wirken
- Nach Ersatz der Stopfen durch FluoroTec® Stopfen wurden fast keine Fälle von PRCA mehr beobachtet

Leachables

Boven, Kidney Int. 2005 Jun;67 (6):2346-53



23 /



PTFE beschichtete Stopfen – immer optimal?

Im Jahr 2003 fiel während der Stabilitätsprüfungen aus Humanplasma gewonnener, gefriergetrockneter Gerinnungsfaktoren in Vials ein störender Fremdgeruch auf

- Der Effekt trat vor allem nach > 9 Monaten Lagerzeit bei erhöhter Temperatur auf. Zum Teil hob sich die Teflonschicht vom Stopfen ab. Beim Aufstechen dieser Blasen trat ein charakteristischer Geruch auf
- Diesen typischen Geruch zeigten auch die Stopfen selbst in ihrer Verpackung auf. Da diese normalerweise in Reinräumen und unter Laminar Flow geöffnet werden, wurde dieser Effekt vorher nicht registriert
- Vermuteter Grund → Monomere → Kleber?

24 /



PTFE beschichtete Stopfen – immer optimal?

- Stopfen und Lyophilisate → Headspace GC
- Ergebnis: Buten, *tert*-Butanol und *iso*-Propanol in Konzentrationen von bis > 800 ppm im Stopfenmaterial und > 50 ppm in den Lyophilisaten
- Diese Befunde wurden vom Hersteller als “typisch und unbedenklich“ bewertet
- Wiederholung der biologischen und toxikologischen Prüfungen nach USP <87> und JP Chapter 49 → keine Auffälligkeiten, Stopfen entsprechen

PTFE beschichtete Stopfen – immer optimal?

- Gleiches Phänomen → parallel in einem anderen Unternehmen: Wfl Stabilitäten in Vials mit PTFE beschichteten Stopfen entsprachen nach wenigen Monaten nicht im Prüfpunkt TOC
- Nachgewiesen wurden mit GC/MS *tert*-Butanol, *iso*-Propanol, (Konzentrationen 8 - 15 ppm) sowie einige ganz Reihe weiterer “exotische“ Verunreinigungen u.a. bis zu 20 ppm N,N-Dibutylformamid
- Abbruch der Stabilitäten, Wechsel des Stopfens
- Die Plasmaproducte wurden nach Einholen eines toxikologischen Gutachtens weiter mit den PTFE beschichteten Stopfen hergestellt

PTFE gecoatete Stopfen – immer optimal?

- Generell gelten PTFE gecoateten Stopfen (z.B. FluoroTec®) als absolut inert und werden fast schon “automatisch“ bei empfindlichen Produkten eingesetzt
- Achtung bei Produkten, die mit Buten (aus dem Vulkanisierprozess) oder Alkoholen reagieren können!

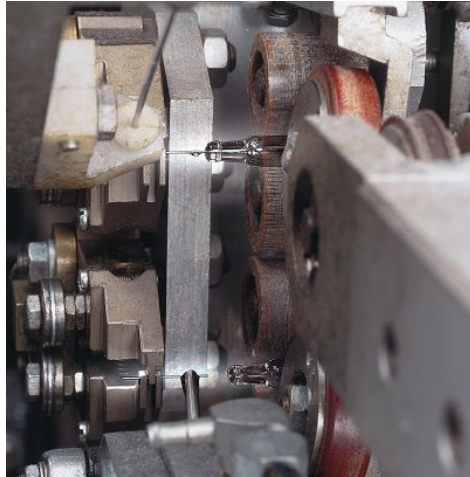
Geleimt - Acrykleber

Im Rahmen der HPLC-Stabilitätsanalytik eines GnRH Antagonisten abgefüllt in Fertigspritze mit “staked needle“ wurde 1999 im Bereich eines der Synthesenebenprodukte ein weiterer, schlecht abtrennbarer Peak gefunden. In der Einreichung wurde dieser Peak als Diastereomer gemeldet.

- Aber: Peak nimmt mit Lagerungsdauer zu → kein Synthesenebenprodukt!
- Identifiziert als Reaktionsprodukt des Wirkstoffs mit dem Klebstoffmonomer Acrylsäure
- Durch direkte, unabhängige Synthese aus Acrylsäure und dem Wirkstoff bestätigt

Geleimt - Acrykleber

Einkleben der Nadel



- Glaskörper vereinzeln
- Nadeln vereinzeln
- Acrylatkleber dosieren
- Zusammenfügen

Geleimt - Acrykleber

- Gefundene Mengen nach 5 Monaten bei 40 °C:
 - unsilikonisierte Spritzen ca. 2 – 2.8%
 - silikonisierte Spritzen 0.4 – 0.6%
 - SCF-Spritzen ca. 0.2% (Ethylenoxid sterilisiert)
- Auswege
 - Änderung der UV Polymerisierung
 - Verbesserung Waschprozess
 - Optimierung Silikonisierung
- Lösung: Kombination der Varianten 1) + 2)

Zink Migration

1995 wurden bei der i.v. Form eines neuen Protonenpumpenhemmers im Rahmen der on-going Stabilitäten des Lyophilisates bemerkt, dass nach Rekonstitution zuerst (~ 9 Monate bei RT Lagerung) die "subvisible particles", später (> 12 Monate bei RT Lagerung) auch die sichtbaren Partikel nicht mehr den vorgegebenen Grenzwerten entsprachen

- sichtbare Partikel → kleine „Mikrokristalle“ mit einer Umhüllung aus Silikontröpfchen („Amöbenartig“)
- Toxikologische Auswirkungen umstritten, da das Produkt nicht s.c. sondern i.v. verabreicht wird
- Elementaranalyse der Mikrokristalle → Zink

Zink Migration

- Einzige mögliche Zinkquelle → Halobutyl-Stopfen
- Auswaschen bei Gefriertrocknung oder durch festes Lyophilisat während der Lagerung?
- Wirkstoff bildet mit Zink unlösliche Chelate, diese fallen aus und bilden „Keime“ für die Anlagerung von Silikonöl
- Silikonöl ist wie Zink inhärenter Bestandteil der Rezeptur der Stopfen
- Entwicklung einer alternativen Rezeptur mit EDTA zur Vermeidung von Ausfällungen
- Verwendung von PTFE beschichteten Stopfen

Aluminium Migration?

Seit 2005 wird bei einem rekombinanten humananalogen Hormon – nur in der niedrigsten abgefüllten Konzentration – ein Ansteigen eines Nebenproduktes (→ oxidiertes Methionin in der Seitenkette) direkt nach Herstellung und weiter zunehmend über die Laufzeit beobachtet

- Grenzwert kann in einzelnen Chargen nach 18 – 20 Monaten erreicht werden. Laufzeit ist 24 Monate
- Pathophysiologische Signifikanz → eher unkritisch?
- Grenzwert – 50% des nach Arzneibuch erlaubten Levels – ist eingereicht und daher zwingend einzuhalten

Aluminium Migration?

Unterstützt vom US – Mutterkonzern wurden seit dem durch den Kunden umfangreiche Untersuchungen aller denkbaren Parameter in der Produktion, der eingesetzten Materialien und des eingesetzten Equipments durchgeführt. Ergebnis:

- Ausgangsstoffe oder produktberührenden Materialien → Keine Änderungen oder Ursachen
- Kein erkennbarer Einfluss durch Peroxide oder andere Oxidationsprodukte des eingesetzten Polysorbats
- Herstellprozess (Silikonisierung, mechanischer Stress durch Pumpen etc.) → Keine Änderungen oder Ursachen

Aluminium Migration?

- Level oxidiertes Methionin → unabhängig von Stickstoffüberlagerung oder Restsauerstoffgehalt
- Mengen an oxidierten Methionin → unterschiedlich je nach Reinraum in dem abgefüllt wurde
- Weitergehende Untersuchungen der Lösung auf alle als mögliche Ursache verdächtige Schwermetalle → keine signifikanten Korrelationen
- Einziger Unterschied: Spritzen mit höheren Level oxidiertem Methionin → enthalten ca. doppelte Menge Aluminium

Aluminium Migration?

- Menge Aluminium
 - Sehr niedrig ~ 200 ng/mL
 - Stark schwankend – pro Bestimmung, von Charge zu Charge und von Spritze zu Spritze
- Aufwändige Untersuchung aller möglicher Kontaminationsquellen für Aluminium
- Stopfen enthalten kein Aluminiumsilikat, aber ca. 40% Magnesiumsilikat
- Spritzen werden nach dem Silikonisieren in Aluminium - Sterilkästen autoklaviert

Aluminium Migration?

- Basierend auf einer Risikobewertung wurden mehrerer Parameter im Herstellungsprozess geändert
- Seit dem liegen die Werte für oxidiertes Methionin wieder im erwarteten Bereich
- Ein klarer "Root Cause" wurde nicht gefunden, ein Mechanismus der Oxidation von Methionin vermittelt durch Aluminium ist nicht bekannt

Alkaliborate

Glasart I aus Borsilikatglas → Inertheit bei niedrig dosierten bio- und gentechnologische Produkte nicht immer ausreichend → z.B. bei niedrig konzentrierten Proteinlösungen → Adsorption des Wirkstoffes an der Glaswand!

Zusätzlich können bei der Hitzebehandlung (Formung) Alkaliborate abdampfen, die sich dann wieder auf der Glasoberfläche niederschlagen

- Wfl nach Autoklavieren → pH 5,5 → 6,5, über die weitere Laufzeit → 7,5
- Niedrig dosierte Proteine → Veränderung der Proteinstruktur!

Alkaliborate

Kristallisiertes Alkaliborat auf Glasoberfläche (Bild: Schott)



39 /



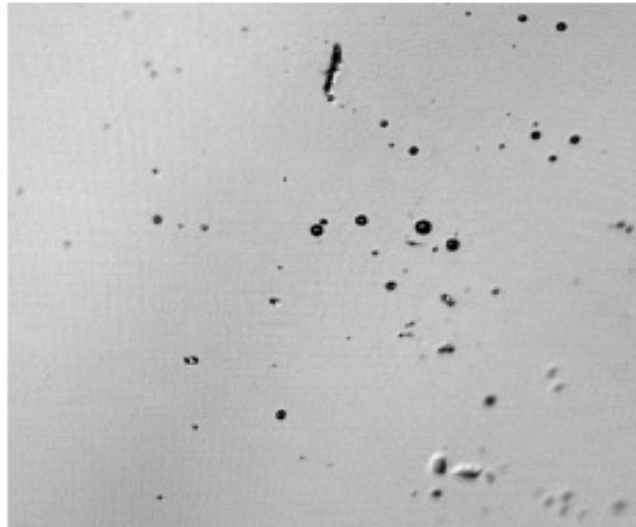
Alkaliborate

- Verhinderung der Adsorption → Zugabe HSA, BSA, Polysorbat, Natriumdodecylsulfat, EDTA...
- pH Wert Shift → speziell beschichtetes Type "1 plus" Glas
- Spezielle Innenvergütung mit Ammoniumsulfat → reagiert mit Alkalioxiden zu besser auswaschbaren Alkalisulfaten
- Aber: Die Glasoberfläche wird durch das Herauslösen der Alkalioxid rauh kann damit erneut Proteinaggregation induzieren

40 /



Glasoberfläche - unbehandelt



41 /



Silikonisierung

Die Innensilikonisierung von Glasspritzen ist zwingend erforderlich

- Reduziert Losbrech- und Gleitkräfte
- Glättet Rauigkeiten der Glasoberfläche
- "Abperlen" wässriger Lösungen → entnehmbares Volumen
- Verhindert Adsorption von Proteinen an der Glaswand
- Noch immer oft auf empirischer Basis eingesetzt

42 /



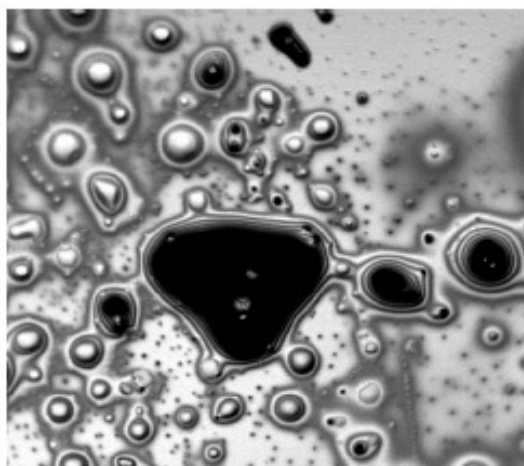
Silikonisierung

Je nach Einsatz und Spritzentyp unterschiedliche Techniken:

- 12.500 cSt oder 1.000 cSt – “Wipe-On”
- 1.000 cSt – Spray-Silikonisierung
- Für kleine Formate und “staked needle“ → Silikonöl → Autoklavenprozess
- Für Formate > 1 ml und Doppelkammersysteme → Emulsion → Heißlufttunnel (~ 300°C) → “baked silicon“
- Spray Silikonisierung liefert reproduzierbar < 0,5 mg/Spr.

Silikonisierung

Nur eine Monolayer ist an das Glas gebunden!



Silikonisierung

In den Jahren 2005 – 2006 wurden bei den ersten kommerziellen Chargen eines rekombinanten TNF Antagonisten erhöhte Werte von “subvisible particles“ beobachtet. Gleichzeitig wurden kleine, weiße Proteinpartikeln – Größe ca. 50-500 µm – gefunden.

Die Menge an “subvisible particles“ erreicht nach 3 Monaten ein Plateau. Die Menge an sichtbaren Partikeln nimmt noch einige Monate länger zu. Nach 6 Monaten Lagerung bei 2 – 8°C haben alle Karpulen deutlich sichtbare Partikel

- Anfangsverdacht → Abfüllprozess beim Lohnhersteller, Änderung der Silikonisierung

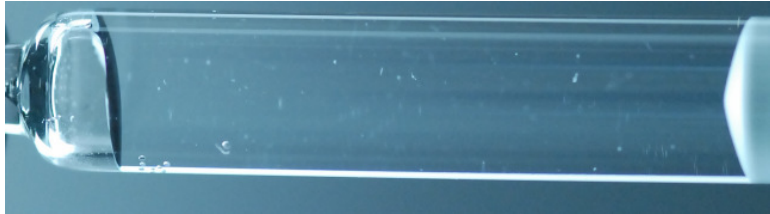
Silikonisierung

Über Monate wurde aufwändige Untersuchung durchgeführt → die Problemlösung selbst, alle denkbaren Parameter in der Produktion, alle eingesetzten Materialien und das eingesetzte Equipment. Ergebnis:

- Die faserartigen Partikel bestehen aus nativen und ungefalteten Proteinen
- In einigen Fällen ist Cellulose nachweisbar
- Die Menge pro Karpule ist verschwindend gering
- Das Produkt zeigt bei Kontakt mit Wolfram (bis 1000 ppb) keine Aggregation

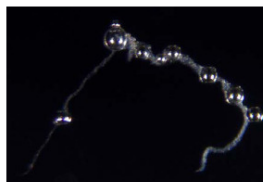
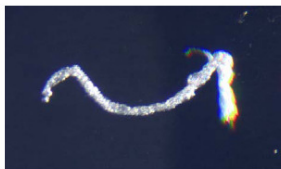
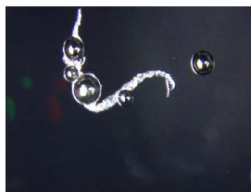
Silikonisierung

Typisches Erscheinungsbild der abgefüllten Karpule



Silikonisierung

Silikontröpfchen an Proteinstrukturen



Silikonisierung

Überprüfung aller in der Klinischen Prüfung eingesetzten Chargen → fast 100 % Partikelbildung

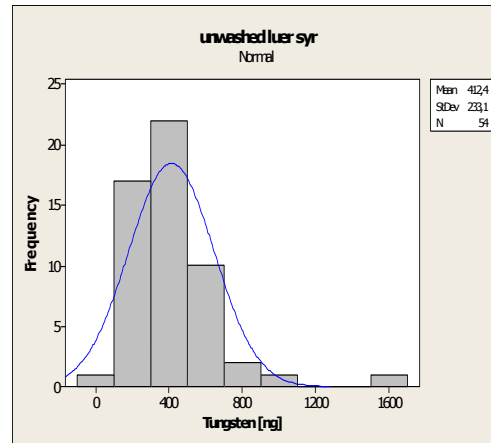
- Unabhängig vom Hersteller
- Unabhängig von den eingesetzten Materialien
- Mengenmäßig nicht erfassbar
- „Qualifiziert“ über klinische Versuche
- Multifunktionales Geschehen
 - Hohe Produktkonzentration
 - Kühlung
- Produktinhärent → Meldung FDA → Hinweis auf BPZ

...weitere Fälle und Fallen...

- Zirkoniumoxid Partikel → “Sandstrahlen“ der Stanzwerkzeuge bei der Stopfenherstellung
- Eisen Partikel → Abrieb der Stanzwerkzeuge bei der Stopfenherstellung → Verfärbungen einzelner Spritzen → z.B. Heparine
- Chrom Partikel → Abrieb von Pumpen → Aggregation und Partikelbildung
- Verändertes Spaltmaß der Pumpensätze → Aggregation und Partikelbildung → “Tornados“
- Silikonschläuche → Auswaschen des Vernetzers → Benzoessäure, Platin (!)

Die Herausforderung

- aufwändige Probevorbereitungen
- diskrete Messwerte mit starken Streuungen
- extrem niedrige Konzentrationen
- hohe Variabilität der Verfahren
- begrenzte statistische Aussagekraft
- forensische Verfahren



51 /



Fallen beim Fill & Finish...

- Boven K, Stryker S, Knight J, Thomas A, van Regenmortel M, Kemeny DM, Power D, Rossert J, Casadevall N. The increased incidence of pure red cell aplasia with an Eprex formulation in uncoated rubber stopper syringes. *Kidney Int.* 2005 Jun;67 (6):2346-53
- Rosenberg A, Worobec A. A Risk-Based Approach to Immunogenicity Concerns of Therapeutic Protein Products, Part 2: Considering Host-Specific and Product-Specific Factors Impacting Immunogenicity. *Intl. Biopharm*, Dec 2004.

52 /



Fallen beim Fill & Finish...

- Danke
- Fragen?

→ Dr. Bernd Renger, Vetter Pharma GmbH
0751 3700 22257
<bernd.renger@vetter-pharma.com>