



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 600 22 759 T2 2006.06.22

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 200 115 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 600 22 759.6

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US00/40446

(96) Europäisches Aktenzeichen: 00 960 177.4

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 01/007075

(86) PCT-Anmeldetag: 21.07.2000

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 01.02.2001

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 02.05.2002

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 21.09.2005

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 22.06.2006

(51) Int Cl.⁸: A61K 38/18 (2006.01)

A61K 47/18 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

198216 P 22.07.1999 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:

Aventis Pharmaceuticals Inc., Bridgewater, N.J.,
US

(72) Erfinder:
GAYED, Atef, Overland Park, US

(74) Vertreter:

Zumstein & Klingseisen, 80331 München

(54) Bezeichnung: ERYTHROPOIETIN FORMULIERUNGEN DES MEHRFACHDOSIS-TYPs

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

I. Gebiet der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Mehrfachdosisformulierungen von Erythropoietin (nachstehend „EPO“), die ein besonders vorteilhaftes Konservierungsmittel oder eine Kombination von Konservierungsmitteln umfassen. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung der Konservierungsmittel Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol und Phenylethylalkohol, einzeln oder in Kombination, in Mehrfachdosis-EPO-Formulierungen. Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin ein Fläschchen, das eine Zusammensetzung enthält, und ein Verfahren zum Inhibieren von mikrobiellem Wachstum in einer Lösung, wobei alle Zusammensetzungen oder Lösungen EPO und ein oder mehrere der Konservierungsmittel Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol und Phenylethylalkohol umfassen.

II. Hintergrund der Erfindung

[0002] Sterilität ist eine der wichtigsten Eigenschaften von parenteralen Produkten. Für parenterale Produkte, die sterilisiert werden und für Einzeldosisinjektion vorgesehen sind, ist das Halten von Sterilität eine Funktion von sowohl dem Sterilisierungsverfahren als auch der Integrität des Verpackungssystems. Für parenterale Produkte, die zum Mehrfachdosieren vorgesehen sind, müssen antimikrobielle Mittel der Produktformulierung zugesetzt werden, um das Produkt vor unvorgesehenem mikrobiellem Verunreinigen während seiner Lagerung und/oder Anwendung zu schützen.

[0003] Stabile proteinenthaltende pharmazeutische Mehrfachdosisformulierungen werden von der pharmazeutischen Industrie als besonders vorteilhaft und kommerziell attraktiv angesehen. Mehrfachdosisformulierungen sind im Allgemeinen, obwohl nicht immer, in Fläschchen (Mehrfachdosisbehälter) enthalten, die die Extraktion von Teilmengen aus der Formulierung bei verschiedenen Zeiten erlauben. Diese Systemart ist erwünscht, da Mehrfachdosen in einem einzigen Behälter enthalten sein können und erlaubt eine gesteuerte Verabreichung der pharmazeutischen Zusammensetzung, da die Formulierung in einer beliebigen Teilmenge gezogen und verabreicht werden kann.

[0004] Die Art der Verwendung von Mehrfachdosisformulierungen legt der Formulierung besondere Erfordernisse auf. Beispielsweise ist das Halten der Sterilität der Zusammensetzung eine besondere Herausforderung, angesichts der vielen Gelegenheiten zur Einführung von Mikroorganismen und anderen Verunreinigungen in die Formulierungen. Wiederholte Einführung von Fremdelementen, beispielsweise Nadeln, in den Mehrfachdosisbehälter nach Formulierung erzeugt eine Wahrscheinlichkeit des Einführens von Mikroorganismen in den Behälter. Zusätzlich und alternativ können Mikroorganismen während des Füllens der Behälter oder während des Wiederaufbaus der Formulierungen nach Lyophilisierung und vor Verabreichung eingeführt werden. Die längeren Zeiträume, über die der Behälter gelagert werden kann – insbesondere während Mehrfacheinführungen von Fremdelementen und/oder nachdem Verunreinigungen eingeführt werden können, erfordern, dass die Formulierung besondere Additive zum Sichern der Sterilität des Inhalts enthält.

[0005] Um sicherzustellen, dass Mehrfachdosisformulierungen optimal sterile Eigenschaften halten, fordern die United States Food and Drug Administration (FDA) und gesetzliche Gremien, dass alle Mehrfachdosisformulierungen Konservierungsmittel enthalten, um das Wachstum von jeglichen Mikroorganismen, die in die Formulierungen eingeführt werden können, zu verhindern oder diese abtöten. Angesichts der inhärenten Stabilität der Proteine und deren Tendenz, negativ mit konservierenden Verbindungen in Wechselwirkungen zu treten, hat sich die Entwicklung von proteinenthaltenden Mehrfachdosisformulierungen als besonders schwierig erwiesen. Mögliche negative Wechselwirkungen zwischen Konservierungsmitteln und Proteinen schließen den Abbau des Proteins, insbesondere wenn über längere Zeiträume gelagert, Inaktivierung von dem Protein, Bildung von Proteinaggregaten und andere Wechselwirkungen, die die Formulierung inaktivieren, oder Verabreichung der Formulierung an Menschen, insbesondere durch Infusion, Injektion oder andere parenterale Verabreichung, schwierig, schmerzvoll oder anderweitig unerwünscht macht, ein.

[0006] Außerdem wird bei Konservierungsmitteln selbst festgestellt, dass sie akute negative Reaktionen verursachen, wie allergische Reaktionen bei Menschen nach parenteraler Verabreichung. Idealerweise sollte das in der pharmazeutischen Mehrfachdosisproteinzzusammensetzung enthaltende Konservierungsmittel in niedriger Konzentration gegen eine breite Vielzahl von Mikroorganismen wirksam sein, in der Formulierung löslich sein, nicht toxisch, kompatibel und mit dem Protein nicht reaktiv, aktiv mit einer Langzeitstabilität und nicht reaktiv mit Verbindungen des Behälters oder Verschlusssystems sein.

[0007] Sandeep Nema et al. veröffentlichte Listen von verschiedenen Exzipienten, die in der Formulierung von injizierbaren Produkten, die in den USA vermarktet werden, enthalten sind. Die in diesem Übersichtsartikel angeführten antimikrobiellen Konservierungsmittel sind in Tabelle 1 aufgeführt:

Tabelle 1
Antimikrobielle Konservierungsmittel

Konservierungsmittel	Häufigkeit	Bereich
Benzalkoniumchlorid	1	0,02 % Gewicht/Volumen
Benzethoniumchlorid	4	0,01 %
Benzylalkohol	74	0,75-5 %
Chlorbutanol	17	0,25-0,5 %
m-Cresol	3	0,1-0,3 %
Myristyl- γ -picoliniumchlorid	2	0,0195-0,169 %
Parabenmethyl	50	0,05-0,18 %
Parabenpropyl	40	0,01-0,1 %
Phenol	48	0,2-0,5 %
2-Phenoxyethanol	3	0,50 %
Phenylquecksilbernitrat	3	0,001 %
Thimerosal	46	0,003-0,01 %

[0008] EPO ist ein Glykoprotein, das zum Stimulieren der Produktion von Hämoglobin und Erythrozyten im Knochenmark wirkt. Es wird in der Niere erzeugt und wird bei der Behandlung von Anämie, die durch eine Vielzahl von Zuständen verursacht wird, einschließlich beispielsweise Nierenversagen, umfangreich verwendet. Die Aminosäuresequenz und allgemeine Glykosylierungsmuster von EPO sind auf dem Fachgebiet bekannt. Siehe beispielsweise Miyaka et al. und US-Patent Nr. 4703008. Die Isolierung und Reinigung von EPO aus Humangeweben oder Fluids wurde von Miyake et al. beschrieben.

[0009] Die das Protein kodierende Nukleinsäuresequenz, Isolierung dieser Sequenz und Produktion des Proteins durch traditionelle Rekombinationsverfahren sind auch auf dem Fachgebiet bekannt. Siehe beispielsweise US-Patent Nr. 4703008 Lin, das die Nukleinsäuresequenz, die EPO kodiert, beschreibt, US-Patent Nr. 4337513 Sugimoto et al., das die Verwendung von Lymphoblastoidzellen zur Herstellung von EPO beschreibt, und Sherwood et al., die die Herstellung von EPO durch eine humane renale Karzinomzelllinie beschreiben. Zusätzlich ist die Produktion, Isolierung und Reinigung des Proteins auch durch Genaktivierung oder homologe Rekombination erreichbar, gefolgt von gut bekannten Isolierungs- und Reinigungstechniken.

[0010] Die Entwicklung von EPO enthaltenden Mehrfachdosisformulierungen hat sich aufgrund der besonderen Instabilität, die EPO aufweist, und seiner Tendenz, mit üblichen pharmazeutischen Bestandteilen leicht in Wechselwirkung zu treten, als besonders schwierig erwiesen, US-Patent Nr. 4806524. Untersuchungen zum Entwickeln von Mehrfachdosis-EPO-Formulierungen haben versucht, diese Probleme durch Halten der Formulierungen bei niedrigem pH-Wert oder durch Einschließen verschiedener Aminosäurekonstrukts, wobei man bei zwei Ansätzen annahm, die Stabilisierung des EPO-Proteins zu unterstützen oder durch Entwickeln von lyophilisierten Formen, worin das Konservierungsmittel aus der Formulierung vor der Verabreichung sublimiert, zu umgehen, US-Patent Nr. 5503827 (das Patent '827) Woog.

[0011] Stabile, sterile Mehrfachdosis-EPO enthaltende pharmazeutische Formulierungen gibt es wenige. Sie schließen jene Formulierungen, die in dem Patent '827 offenbart werden, ein. Die Literaturstelle '827 offenbart und beansprucht speziell Chlorethon (Chlorbutanol, 1,1,1-Trichlor-2-methyl-2-propanol), Benzalkoniumchlorid oder Benzylalkohol als Konservierungsmittel. Woog hebt die besondere Schwierigkeit des Bereitstellens einer Mehrfachdosis-EPO-Formulierung, worin die Allergieraten vermindert sind, hervor und fordert die Verwendung von speziell beanspruchten Konservierungsmitteln, die in dieser Hinsicht besonders vorteilhaft sind. Diese Literaturstelle betont weiterhin, dass aufgrund der Tendenz von Konservierungsmitteln, abzubauen und Proteine zu inaktivieren, wenn sie kombiniert werden, es sehr erwünscht ist, Kontakt zwischen dem Konservierungsmittel und dem Protein zu minimieren. Das Patent '827 offenbart weiterhin die Verwendung von verschiedenen Aminosäurenkonstrukten und anderen Additiven durch die Notwendigkeit, EPO in Lösung zu stabilisieren. Schließlich offenbart das Patent '827 in einer besonders bevorzugten Ausführungsform, dass beliebiges in der anfänglichen Formulierung verwendetes Konservierungsmittel nach Lyophilisierung der Zusammensetzung wegsublimiert. Dann kann nach Wiederaufbau weiteres Konservierungsmittel, ausgewählt aus der Gruppe, die offenbart wurde (Chlorethon), wie definiert, Benzalkoniumchlorid und Benzylalkohol eingeführt werden, jedoch sollte die injizierbare wieder aufgebaute Lösung innerhalb 30 Tagen verwendet werden.

[0012] Ein weiteres Beispiel für eine EPO-enthaltende Mehrfachdosisformulierung wird in US-Patent Nr. 5661125 (das Patent '125) beschrieben. Das Patent würdigt und bestätigt explizit andere Literaturstellen, die ausweisen, dass EPO „eine instabile Substanz, insbesondere in Lösungsform ist“ und „wenn mit bekannten Stabilisatoren kombiniert, die erhaltene Stabilität von dem EPO schwankt und unvorhersehbar ist“. Diese Literaturstelle argumentiert dann weiter für die spezielle Verwendung von Benzylalkohol, einem Paraben und/oder einem Phenol oder einer Kombination von diesen als ein Konservierungsmittel in EPO-enthaltenden Lösungen. Neben dem Bestätigen der Schwierigkeit einer Beurteilung bzw. Entwicklung verträglicher und vorteilhafter Konservierungsmittel zur Verwendung in EPO-enthaltenden Mehrfachdosisformulierungen weist diese Literaturstelle aus:

„.... nichts Spezifisches kann von der Verwendung von Konservierungsmitteln mit anderen Proteinen, die eine bestimmte konservierte Formulierung für Erythropoietin nahe legen würden, abgeleitet werden. Siehe beispielsweise Geigert, J. „Overview of the Stability and Handling of Recombinant Protein Drugs“, Journal of Parenteral Science and Technology, Band 43 (5): 220–224 (1989).“

[0013] US-5503827 offenbart pharmazeutische Mehrfachdosiszubereitungen, die Humanproteine, wie Erythropoetin, und ein Konservierungsmittel enthalten.

[0014] EP-A-0459795 offenbart eine orale Dosierungsform von Erythropoetin, die ein Tensid, wie Benzethoniumchlorid, enthält.

[0015] Folglich verbleibt ein Bedarf für eine pharmazeutische EPO-enthaltende konservierte Mehrfachdosisformulierung, die: (1) die Stabilität der Proteinkomponente und der Zusammensetzung über eine längere Lebensdauer des Produkts beibehält; (2) die Sterilität der Formulierung beibehält und die Kriterien der Pharmacopöen der USA, Europa und Japan für Konservierungsreaktionstests erfüllt; (3) in den verwendeten Konzentrationen sicher ist und (4) durch einen beliebigen parenteralen oder oralen Weg in einer wirksamen Weise verabreicht wird und Schmerz und die Möglichkeit einer negativen Reaktion, beispielsweise allergische Reaktion, bei dem Patienten minimiert.

III. Kurzdarstellung der Erfindung

[0016] Die vorliegende Erfindung stellt eine neue und besonders vorteilhafte Mehrfachdosisformulierung, die Erythropoetin und die Konservierungsstoffe Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol und Phenylethylalkohol enthält, entweder einzeln oder in Kombination bereit.

[0017] Die erfindungsgemäßen Formulierungen können in einer Vielzahl von Konzentrationen in verschiedenen Fläschchengrößen für verschiedene Verabreichungsdosierungen formuliert werden. Beispielsweise können die in der vorliegenden Erfindung offenbarten Formulierungen 10000, 20000, 40000 oder auch bis zu oder größer als 100000 Einheit/ml EPO-Konzentrationen umfassen. Sie können weiterhin beliebige Konzentrationen zwischen diesen beispielhaften Konzentrationen, wie 5000, 15000, 25000 Einheit/ml Konzentrationen und dergleichen enthalten. Außerdem können die Formulierungen in einem ½-, 1- oder 2-ml-Fläschchen oder einem Fläschchen beliebiger anderer Größe oder einem anderen vom Formulierer bevorzugten Behälter formuliert werden. Es wird dem Fachmann klar sein, dass in Abhängigkeit von den Bedürfnissen des Formulierers eine beliebige Kombination von Dosierungen und Fläschchen verwendet werden kann. Beispielsweise könnte man die gegenwärtig offenbarten Formulierungen als eine 10000 Einheit/½-ml-Konzentration in einem 1-ml-Fläschchen, eine 40000 Einheit/ml-Dosis in einem 2-ml-Fläschchen oder beliebige andere Kombination von Konzentration von EPO in beliebig großem Fläschchen herstellen. Die Zusammensetzungen können in Form einer wässrigen Lösung, einer Suspension vorliegen oder können lyophilisiert sein.

[0018] Die vorliegende Erfindung stellt in einer alternativen Ausführungsform eine pharmazeutische Trägerzusammensetzung zur Verwendung als ein Träger von EPO, umfassend die Konservierungsstoffe Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol oder Phenylethylalkohol, worin die Konservierungsstoffe in der EPO-Trägerzusammensetzung einzeln oder in Kombination enthalten sind, bereit. Die vorliegende Erfindung stellt auch ein Fläschchen, das Mehrfachdosen von EPO enthält, bereit, wobei das Fläschchen EPO und eine wirksame Menge von einem oder einer Kombination der nachstehenden Konservierungsstoffe: Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol und Phenylethylalkohol, umfasst.

[0019] In einer noch weiteren Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zum Inhibieren des mikrobiellen Wachstums in einer EPO-enthaltenden Lösung bereit, wobei das Verfahren Zusetzen von einem oder einer Kombination der nachstehenden Konservierungsstoffe: Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol und Phenylalkohol, zu der EPO-enthaltenden Lösung umfasst.

[0020] Weitere Komponenten der erfindungsgemäßen EPO-Mehrfachdosisformulierungen schließen Tenside, Puffer, Osmolalität-einstellende Mittel und Antiadsorptionsmittel ein. Besonders vorteilhafte Additive schließen Polysorbit-20, Polysorbit-80, Natriumphosphat, Natriumchlorid und Genapol ein.

[0021] Die erfindungsgemäßen Formulierungen können in fester, halbfester, flüssiger oder fluider Form, beispielsweise als Tablette, wässrige Lösung oder eine Suspension, vorliegen oder können lyophilisiert und vor der Verabreichung an einen Patienten wieder aufgebaut werden. Die Formulierungen können über einen beliebigen parenteralen Weg, einschließlich intravenös, subkutan, intramuskulär, transdermal, intraarteriell, intraperitoneal oder über pulmonare Inhalation verabreicht werden. Sie können auch oral verabreicht werden.

IV. Beschreibung der Erfindung im Einzelnen

[0022] Die vorliegende Erfindung stellt eine wesentliche Verbesserung gegenüber dem Stand der Technik bereit. Bereitgestellt werden neue pharmazeutische EPO-enthaltende Mehrfachdosisformulierungen, die Konservierungsstoffe enthalten, die individuell stabile, sterile, leicht verabreichbare Zusammensetzungen liefern. Weiterhin und besonders unerwartet offenbart die vorliegende Erfindung, dass Phenoxyethanol und Benzethoniumchlorid, wenn in Kombination in einer pharmazeutischen EPO-enthaltenden Mehrfachdosiszusammensetzung verwendet, positive synergistische Effekte aufweisen, die zu einer besonders vorteilhaften Zusammensetzung führen. Insbesondere zeigt diese Kombination von Konservierungsstoffen die nachstehenden Eigenschaften: (1) synergistischen antimikrobiellen Effekt, der eine niedrigere Konzentration an Konservierungsstoffen zulässt; (2) ausgezeichnete Stabilität des EPO bei variierenden Lagerungsbedingungen über längere Zeiträume und (3) Phenoxyethanol hat eine Stärke für einen lokalen anästhetischen Effekt, was die Zusammensetzung besonders bevorzugt zur subkutanen Verabreichung macht.

[0023] Wie hierin verwendet, haben die nachstehenden Begriffe die nachstehenden Bedeutungen:
Erythropoetin – ein Glykoprotein, das, wenn in biologisch wirksamer und glykosylierter Form, die Kapazität aufweist, die Bildung von Hämoglobin und roten Blutzellen im Knochenmark einzuleiten. Kann über Isolierung aus Humangeweben oder Fluids durch traditionelle Rekombinationsverfahren oder durch Genaktivierung erhalten werden.

Parenteral – in einigen Bedeutungen, die von dem Gastrointestinaltrakt verschieden sind, schließt intravenöse, subkutane, intramuskuläre und intramedulläre, intraarterielle, intraperitoneale und pulmonare Inhalation ein. Pharmazeutisch verträglich (oder pharmakologisch verträglich) – bezieht sich auf molekulare Einheiten und Zusammensetzungen, die keine negative, allergische oder andere Gegenreaktion erzeugen, wenn, falls geeignet, an ein Tier oder einen Menschen verabreicht.

Pharmazeutisch verträglicher Träger – schließt jedes und alle Lösungsmittel, Dispersionsmedien, Beschichtungen, antibakterielle und antifungale Mittel, isotonische und absorptionsverzögernde Mittel und dergleichen ein, die als Medien für eine pharmazeutisch verträgliche Substanz verwendet werden können.

Einheit – eine Einheit für biologische Wirksamkeit, wie durch das exhypoxische polyerythematische Mausbiosay bestimmt und verglichen mit den Standards der Weltgesundheitsorganisation.

[0024] Beliebige Zahlenwerte, die hierin angeführt werden, schließen alle Werte von dem niedrigsten Wert bis zu dem höchsten Wert an Inkrementen einer Einheit ein, vorausgesetzt, dass es eine Trennung von mindestens zwei Einheiten zwischen beliebigem niedrigeren Wert und beliebigem höheren Wert gibt. Wenn beispielsweise ausgewiesen ist, dass die Konzentration einer Komponente oder ein Wert einer Verfahrensvariablen, wie beispielsweise Osmolalität, Temperatur, Druck, Zeit und dergleichen, beispielsweise 1 bis 90, vorzugsweise 20 bis 80, bevorzugter 30 bis 70, ist, ist es vorgesehen, dass Werte, wie 15 bis 85, 22 bis 68, 43 bis 51, 30 bis 32 usw., ausdrücklich in dieser Beschreibung angegeben sind. Für Werte, die weniger als 1 sind, wird eine Einheit als 0,0001, 0,001, 0,01 oder 0,1 als geeignet angesehen. Dies sind nur einige Beispiele dafür, was speziell vorgesehen ist, und alle möglichen Kombinationen von Zahlenwerten zwischen dem niedrigsten Wert und dem höchsten Wert, die angegeben werden, werden als ausdrücklich in dieser Anmeldung in einer ähnlichen Weise ausgewiesen betrachtet.

A. Konservierungsstoffe: Phenoxyethanol und Benzethoniumchlorid

[0025] Die zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung erachteten Konservierungsstoffe sind vorzugsweise Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol und Phenylethylalkohol, beliebige Varianten von diesen Konservierungsstoffen und deren Strukturanalogen. Es ist insbesondere denkbar, dass in beliebiger von diesen Konservierungsstoffen als der einzige Konservierungsstoff in den gegenwärtig offenbarten Formulierungen verwendet werden kann, oder sie können vorteilhaft in Kombination miteinander angewendet werden. Wie hierin gezeigt, erweisen sich die erfindungsgemäßen Formulierungen unter Verwendung einer Kombination

von Phenoxyethanol und Benzethonium-chlorid als besonders bevorzugt.

[0026] Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol und Phenylethylalkohol können in den gegenwärtig offenbarsten Formulierungen in einer beliebigen wirksamen Menge verwendet werden. Die gesamte Konservierungsstoffkonzentration liegt vorzugsweise zwischen etwa 0,01 % und etwa 4,0 % der Gesamtformulierung. Besonders vorteilhafte Konzentrationen des Gesamtkonservierungsstoffs sind jene, die möglichst niedrig gehalten werden, um den erforderlichen antimikrobiellen Effekt zu erreichen, unter Minimieren der Stärke der negativen Reaktionen. Obwohl Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol und Phenylethylalkohol einzeln als Konservierungsstoffe verwendet werden können, erfordert dieses Handeln eine größere Konservierungsstoffkonzentration, als wenn Kombinationen von den Konservierungsstoffen verwendet werden.

[0027] In bevorzugteren erfindungsgemäßen Ausführungsformen werden sowohl Benzethoniumchlorid als auch Phenoxyethanol zusammen verwendet. Überraschenderweise haben diese Konservierungsstoffe, wenn zusammen verwendet, einen synergistischen Effekt miteinander. Um den äquivalenten antimikrobiellen Effekt, wenn einzeln verwendet, zu erreichen, müssen die Konzentrationen an Benzethoniumchlorid oder Phenoxyethanol größer als die Gesamtkonservierungsstoffkonzentration sein, wenn sie in Kombination verwendet werden, und im Allgemeinen muss mindestens zweimal so viel Konservierungsstoff verwendet werden, als einzeln angewendet. Wenn somit beispielsweise entweder Benzethoniumchlorid oder Phenoxyethanol einzeln verwendet wird, wird ungefähr mindestens das Zweifache von Benzethoniumchlorid oder Phenoxyethanol erforderlich sein, um den gleichen Effekt wie eine Menge an Benzethoniumchlorid in Kombination mit Phenoxyethanol zu erreichen. Bei diesen höheren Konzentrationen an Benzethoniumchlorid und Phenoxyethanol können außerdem auch die einzelnen Konservierungsstoffformulierungen nicht die Gesetzesgebungskriterien für antimikrobielle Mittel der Vereinigten Staaten, Europas oder Japans erreichen. Bevorzugte Formulierungen schließen Benzethoniumchlorid in Konzentrationen von etwa 0,01 bis etwa 0,1 % in Kombination mit Phenoxyethanol in Konzentrationen von etwa 0,01 bis etwa 1,0 % ein. Bevorzugtere Formulierungen enthalten Benzethoniumchlorid in einer Konzentration von etwa 0,01 % bis etwa 0,02 und Phenoxyethanol in einer Konzentration von etwa 0,25 bis etwa 0,5 %.

[0028] In einer weiteren Ausführungsform schließt die vorliegende Erfindung Benzethoniumchlorid in Kombination mit Phenylethylalkohol ein. Bevorzugte Formulierungen schließen Benzethoniumchlorid in Konzentrationen von etwa 0,01 bis etwa 0,1 % zusammen mit Phenylethylalkohol in Konzentrationen von etwa 0,01 bis etwa 1,0 % ein. Bevorzugtere Formulierungen enthalten Benzethoniumchlorid in einer Konzentration von etwa 0,15 bis etwa 0,25 % und Phenylethylalkohol in einer Konzentration von etwa 0,2 bis etwa 0,5 %. Eine besonders bevorzugte Formulierung, worin Benzethoniumchlorid und Phenylethylalkohol gemeinsam verwendet werden, schließt Benzethoniumchlorid in einer Konzentration von etwa 0,02 % und Phenylethylalkohol in einer Konzentration von etwa 0,25 % ein.

B. Erythropoetin

[0029] Die Nukleinsäuresequenz, Aminosäuresequenz, dreidimensionale Struktur und typische Glykosylierungsmuster von EPO sind auf dem Fachgebiet bekannt. Isoliertes und gereinigtes EPO von verschiedenen Quellen ist ebenfalls bekannt. Folglich kann der Fachmann EPO zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung durch Isolieren und Reinigen des EPOs aus Humangewebe oder Fluids durch traditionelle Rekombinationstechniken und durch Genaktivierungsverfahren erhalten. Alle diese Verfahren werden speziell als innerhalb des Umfangs von diesem Patent erachtet. Zusätzlich ist jedes andere EPO, das aus einer beliebigen Quelle erhalten wird, zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung denkbar.

C. Andere aktive Komponenten

[0030] Die optimale erfindungsgemäße Formulierung kann gemäß Faktoren, wie Zeitdauer, in der die Formulierung gelagert wird, Bedingungen, unter denen sie gelagert wird und verwendet wird, der jeweiligen Patientenpopulation, an die sie verabreicht werden kann, usw. variieren. Einstellungen für die Formulierung durch einstellende Bestandteile der Formulierungen und deren relative Konzentrationen, die von den Konservierungsstoffen Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol und Phenylethylalkohol verschieden sind, und EPO, wie vorstehend beschrieben, können, falls benötigt, gemäß den Bedürfnissen des Formulierers, Verabreicher oder Patienten hergestellt werden. Zusätzliche Bestandteilselemente für die erfindungsgemäßen Mehrfachdosis-EPO-Formulierungen schließen Wasser, einen Puffer, ein Tensid oder Antiadsorptionsmittel, ein Netzmittel und ein Osmolalität einstellendes Mittel ein. Formulierungseigenschaften, die modifiziert werden können, schließen beispielsweise den pH-Wert und die Osmolalität zum Erreichen einer Formulierung, die einen pH-Wert und Osmolalität ähnlich jener von menschlichem Blut oder Geweben aufweisen, ein.

[0031] Puffer sind in der vorliegenden Erfindung für, unter anderen Zwecken, Manipulation des gesamten pH-Werts der pharmazeutischen Formulierung verwendbar. Eine Vielzahl von auf dem Fachgebiet bekannten Puffern kann in den vorliegenden Formulierungen verwendet werden, wie verschiedene Salze von organischen oder anorganischen Säuren, Basen oder Aminosäuren und einschließlich verschiedener Formen von Zitrat-, Phosphat-, Tartrat-, Succinat-, Adipat-, Maleat-, Lactat-, Acetat-, Bicarbonat- oder Carbonationen. Besonders vorteilhafte Puffer zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung schließen Natrium- oder Kaliumpuffer, insbesondere Natriumphosphat, ein. In einer bevorzugten Ausführungsform wird Natriumphosphat in einer Konzentration von annähernd 20 mM angewendet. Ein besonders wirksames Natriumphosphatpufferungssystem umfasst einbasiges Natriumphosphat-Monohydrat und zweibasisches Natriumphosphat-Heptahydrat. Wenn diese Kombination von einbasigem und zweibasischem Natriumphosphat verwendet wird, sind vorteilhafte Konzentrationen von jedem etwa 0,5 bis etwa 1,5 mg/ml einbasiges und etwa 2,0 bis etwa 4,0 mg/ml zweibasisches, wobei bevorzugte Konzentrationen etwa 0,9 mg/ml einbasiges und etwa 3,4 mg/ml zweibasisches Phosphat sind. Der pH-Wert der Formulierung ändert sich gemäß der Menge des angewendeten Puffers. Es ist bevorzugt, einen pH-Wert-Anteil zwischen 5,0 und 8,0 zu erreichen, bevorzugter einen pH-Wert von etwa 6,0 bis etwa 7,5 zu haben und besonders bevorzugt eine Formulierung mit einem pH-Wert von etwa 7,0 zu entwickeln.

[0032] Es kann auch vorteilhaft sein, Tenside in den gegenwärtig offenbarten Formulierungen anzuwenden. Tenside oder Antiadsorptionsmittel, die sich gemäß der vorliegenden Erfindung als verwendbar erwiesen haben, schließen Polyoxyethylensorbitane, Polyoxyethylensorbitanmonolaurat, Polysorbat-20, wie Tween-20TM, Polysorbat-80, Hydroxyzellulose und Genapol ein. In einer bevorzugten Ausführungsform wird Polysorbat-20 verwendet. Wenn beliebiges Tensid in der vorliegenden Erfindung angewendet wird, ist es vorteilhaft, es in einer Konzentration von etwa 0,01 bis etwa 0,5 mg/ml anzuwenden. In einer besonders verwendbaren Ausführungsform wird Polysorbat-20 in einer Konzentration von etwa 0,1 mg/ml verwendet.

[0033] Zusätzlich verwendbare Additive werden leicht durch den Fachmann gemäß den besonderen Bedürfnissen oder vorgesehenen Anwendungen der offenbarten Mehrfachdosis-EPO-Formulierungen bestimmt. Eine solche besonders verwendbare zusätzliche Substanz ist Natriumchlorid, das zum Einstellen der Osmolalität der Formulierungen verwendbar ist, um die gewünschte erhaltene Osmolalität zu erreichen. Besonders bevorzugte Osmolalitäten liegen im Bereich von etwa 270 bis etwa 330 mOsm/kg. Die optimale Osmolalität der gegenwärtig offenbarten Formulierungen ist ungefähr 300 mOsm/kg. Natriumchlorid in Konzentrationen von etwa 6,5 bis etwa 7,5 mg/ml sind zum Erreichen dieser Osmolalität wirksam, wobei eine Natriumchloridkonzentration von etwa 7,5 mg/ml besonders wirksam ist. Oder die Menge an Natriumchlorid kann zum Erreichen einer Osmolalität von etwa 270 bis etwa 330 mOsm/kg und vorzugsweise 300 mOsm/kg zugesetzt oder eingestellt werden. Andere verwendbare Osmolalität einstellende Mittel schließen Mannit und Sorbit ein.

D. Herstellung der Zusammensetzungen

[0034] Die hierin beschriebenen EPO-Formulierungen können in Wasser, geeigneterweise vermischt mit einem Tensid, wie Hydroxypropylzellulose oder Polyoxyethylensorbitanen, vermischt werden. In vielen Fällen wird es vorteilhaft sein, isotonisches Mittel, beispielsweise Zucker oder Natriumchlorid, wie vorstehend beschrieben, einzuschließen. Längere Absorption der injizierbaren Zusammensetzungen kann in Zusammensetzungen durch die Verwendung von Mitteln, die die Absorption verzögern, beispielsweise Aluminiummonostearat oder Gelatine, hervorgerufen werden. Andere Mittel, die angewendet werden können, schließen Lecithin, Harnstoff, Ethylenoxid, Propylenoxid, Hydroxypropylzellulose, Methylzellulose oder Polyethylenglykol ein, sind jedoch nicht darauf begrenzt.

[0035] Wässrige Zusammensetzungen (Inocula), wie hierin beschrieben, können eine wirksame Menge EPO, gelöst oder dispergiert in einem pharmazeutisch verträglichen wässrigen Medium, einschließen. Solche Zusammensetzungen werden auch als Inocula bezeichnet. Die Anwendung von pharmazeutisch verträglichen Trägermedien und Mitteln für pharmazeutische Wirkstoffe ist auf dem Fachgebiet gut bekannt. Ausgenommen wenn beliebige herkömmliche Medien oder Mittel mit dem Wirkbestandteil nicht kompatibel sind, ist die Anwendung in den therapeutischen Zusammensetzungen denkbar. Ergänzende Wirkbestandteile können auch in die Zusammensetzungen wie vorstehend beschrieben eingearbeitet werden.

[0036] Ein Proteoglycan, wie EPO, kann in eine Zusammensetzung in einer neutralen oder Salzform formuliert werden. Pharmazeutisch verträgliche Salze schließen die Säureadditionssalze (gebildet mit den freien Aminogruppen des Proteins) und jene, die mit anorganischen Säuren gebildet werden, wie beispielsweise Salzsäure oder Phosphorsäure, oder solche organischen Säuren, wie Essigsäure, Oxalsäure, Weinsäure, Mandelsäure und dergleichen, ein. Salze, die mit freien Carboxylgruppen gebildet werden, können von anorganischen Basen, wie beispielsweise Natrium-, Kalium-, Ammonium-, Calcium- und Eisen-II-hydroxiden und

solchen organischen Basen, wie Isopropylamin, Trimethylamin, Histidin, Procain und dergleichen, abgeleitet sein.

[0037] Die erfindungsgemäßen therapeutischen Zusammensetzungen werden vorteilhafterweise in Form von injizierbaren Zusammensetzungen entweder als flüssige Lösungen oder Suspensionen verabreicht, wobei feste Formen, die als Lösung in oder Suspension in Flüssigkeit vor der Injektion geeignet sind, auch hergestellt werden können. Eine typische Zusammensetzung für solche Zwecke umfasst einen pharmazeutisch verträglichen Träger. Beispielsweise kann die Zusammensetzung 10 mg, 25 mg, 50 mg oder bis zu etwa 100 mg Humanserumalbumin pro ml phosphatgepufferte Salzlösung enthalten.

[0038] Die hierin beschriebenen Formulierungen können in einem Fläschchen, einer Flasche, einem Rohr, einer Spritze oder anderem Behälter für Einzel- oder Mehrfachverabreichungen enthalten sein. Solche Behälter können beispielsweise aus Glas oder einem Polymermaterial, wie Polypropylen, Polyethylen oder Polyvinylchlorid, hergestellt werden. Bevorzugte Behälter können einen Verschluss oder ein anderes Verschlussystem, wie einen Gummistopfen, einschließen, der mit einer Nadel durchdrungen werden kann, um eine einzelne Dosis abzuziehen, und sich dann nach Entfernen der Nadel wieder verschließt. Alle solche Behälter für injizierbare Flüssigkeiten, lyophilisierte Formulierungen, wieder aufgebaute lyophilisierte Formulierungen oder wieder aufbaubare Pulver zur Injektion, die auf dem Fachgebiet bekannt sind, sind zur Verwendung in den vorliegenden offenbarten Zusammensetzungen und Verfahren denkbar.

V. Beispiele

[0039] Die nachstehenden Beispiele sind nur erläuternd und sind nicht so aufzufassen, dass sie den Umfang der Erfindung begrenzen sollen.

A. Beispiel 1: Konservierungsstoffauswahl und Stabilitätstesten

Materialien und Methoden:

[0040] Einbasisches Natriumphosphat-Monohydrat USP, einbasisches Natriumphosphat-Heptahydrat USP, Natriumchlorid USP/EP und Polysorbat-20 USP/NF wurden von J.T. Baker, einer Abteilung von Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NH 08865, erhalten.

[0041] Benzalkoniumchlorid USP/NF, 2-Phenoxyethanol BP, Phenylethylalkohol USP/NF, Thimerosal USP/NF, Phenolkristalle USP, Benzethoniumchlorid USP/NF, m-Cresol USP, Phenylquecksilbernitrat USP/NF, Benzylalkohol USP, Chlorbutanol USP, Methylparaben USP/NF und Propylparaben USP/NF wurden von Spectrum Quality Products Inc., Gardena, CA 90248 erhalten.

[0042] Myristyl- γ -picoliniumchlorid wurde von Pharmacia & Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan 49001 erhalten.

[0043] EPO-enthaltende Mehrfachdosislösungen wurden als sterile, nicht pyogene, farblose wässrige Lösungen in Wasser zur Injektion bei 10000 Einheiten und 20000 Einheiten Konzentration formuliert. Hergestellte Lösungen enthielten 20 mM Phosphatpuffer (einbasisches Natriumphosphat-Monohydrat und zweibasisches Natriumphosphat-Heptahydrat), 0,01 % Gewicht/Volumen Polysorbat-20 als Antiardsorptionsmittel, 0,45 bis 0,8 Gewicht/Volumen Natriumchlorid (in Abhängigkeit von dem Konservierungssystem, das verwendet wurde, wobei die Menge an Natriumchlorid eingestellt wurde, um eine Osmolalität von ungefähr 300 mOsm/kg zu erzeugen) und ein Konservierungsstoffsystem. Die hergestellten Lösungen hatten einen pH-Wert von ungefähr 7,0 und eine Osmolalität von ungefähr 300 mOsm/kg.

[0044] Die Lösungen wurden durch Filtration durch ein steriles 0,22- μm -Millipore-Filter sterilisiert. Die Lösungen wurden in sterile klare 2-ml-USP-Typ-1-Glasfläschchen verpackt und bei 5°C und 25°C zum chemischen Testen und in sterilen 250- bis 500-ml-HDPP (hochdichtes Polypropylen)-Flaschen für mikrobielles Testen gelagert.

[0045] Untersuchte Konservierungsstoffe schließen ein: Benzylalkohol 1,0 % Gewicht/Volumen, Benzalkoniumchlorid 0,01 % Gewicht/Volumen, 2-Phenoxyethanol 0,5 % Gewicht/Volumen, Phenylethylalkohol 0,5 % Gewicht/Volumen, Thimerosal 0,005 % und 0,01 % Gewicht/Volumen, Phenolkristalle 0,4 % Gewicht/Volumen, Benzethoniumchlorid 0,01 % und 0,02 % Gewicht/Volumen, m-Cresol 0,4 % Gewicht/Volumen, Phenylquecksilbernitrat 0,002 % Gewicht/Volumen, Methylparaben 0,1 und 0,18 % Gewicht/Volumen und Propylparaben

0,03 und 0,035 % Gewicht/Volumen und Myristyl- γ -picoliniumchlorid 0,02 % Gewicht/Volumen. Auch die nachstehenden Kombinationen wurden untersucht: (1) Benzethoniumchlorid 0,005 % Gewicht/Volumen mit Phenoxyethanol 0,25 % Gewicht/Volumen, (2) Benzethoniumchlorid 0,005 und Phenoxyethanol 0,5 % Gewicht/Volumen, (3) Benzethoniumchlorid 0,01 % Gewicht/Volumen mit Phenoxyethanol 0,5 % Gewicht/Volumen und (4) Phenylethylalkohol 0,25 % Gewicht/Volumen und Benzethoniumchlorid 0,02 % Gewicht/Volumen.

Erörterung:

[0046] Methylparaben, Propylparaben, m-Cresol und Phenol erzeugten trübe bis wolkige Lösungen, wenn an die EPO-Formulierung (gepufferte Lösung) verabreicht. Dieses Trübheitsproblem wurde als Unverträglichkeit zwischen dem Absorptionsmittel Polysorbat-20 und jedem von diesen Konservierungsstoffen identifiziert (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 1994).

[0047] Obwohl Chlorbutanol eine klare Lösung erzeugte, wenn in der Formulierung verwendet, wurde seine Bewertung gestoppt, weil es bei pH > 3 nicht stabil ist, seine Halbwertszeit bei pH 7,5 ungefähr drei Monate ist (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 1994).

[0048] In Gegenwart von Phenylquecksilbernitrat wurde eine wolkige Lösung erzeugt. Diese Wolkigkeit wurde als Unverträglichkeit zwischen dem osmotischen Mittel Natriumchlorid und Phenylquecksilbernitrat identifiziert (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 1994).

[0049] Thimerosal erzeugte eine klare Lösung, wenn in der EPO-Formulierung verwendet. Auch zeigte es gute konservierende Wirksamkeit. Zusätzlich zeigte die EPO-Formulierung gute chemische Stabilität in Gegenwart von Thimerosal. Da es jedoch Quecksilber enthält, ist seine Verwendung wahrscheinlich für die Behörden in Europa, Japan und USA unannehmbar.

[0050] Die Benzylalkohol, Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol, Phenylethylalkohol, Benzalkoniumchlorid und Myristyl- γ -picoliniumchlorid enthaltenden Formulierungen erzeugten klare Lösungen. Bezogen auf die minimalen Inhibitorkonzentrationen für diese Konservierungsstoffe, Sicherheit und Häufigkeit von deren Verwendung, wurden die nachstehenden Konservierungsstoffe zur weiteren chemischen Bewertung der Proteinstabilität und antimikrobiellen Wirksamkeit der EPO-Formulierung ausgewählt: Benzylalkohol, Benzethoniumchlorid, Phenoxyethanol, Phenylethylalkohol und verschiedene Benzethoniumchlorid- und Phenoxyethanolkombinationen.

B. Beispiel 2: Stabilität von getestetem Protein

Materialien und Methoden:

[0051] Prototypchargen wurden unter Verwendung dieser ausgewählten Konservierungsstoffe hergestellt und nach Stabilität bei 5°C und 25°C belassen. Die Proben wurden durch ein Umkehrphasen-HPLC-Verfahren getestet. Die Assayergebnisse (Prozent beanspruchte Markierung) der EPO-enthaltenden Formulierungen in Gegenwart dieser Konservierungsstoffe werden in Tabelle 2 gezeigt.

[0052] Die Inhaltsstoffangaben wurden durch Umkehrphasen-HPLC unter Verwendung einer Waters-Delta-Pak \square -C18-Säule und Gradientenelution unter Verwendung einer wässrigen Lösung, enthaltend 0,05 % TFA und Acetonitrilkonzentration, die von 23 bis 86 % ansteigt, bestimmt. Der Nachweis des EPO-Proteins wurde bei 210 nm verfolgt.

Tabelle 2

Assayergebnisse bezüglich Konzentration (% beanspruchte Markierung)

Konservierungsstoff	Monate	Stärke	Chemisches Assay (% LC) ¹	
			5°C	25°C
Benzylalkohol	7M	10000 U/ml	98,6	90,0
Benzylalkohol	7M	20000 U/ml	99,7	93,7
Benzethonium	4M	10000 U/ml	99,9	88,9
Benzethonium	4M	20000 U/ml	101,5	94,4
Phenoxyethanol	4M	10000 U/ml	100,5	96,9
Phenoxyethanol	4M	20000 U/ml	102,6	97,5
Benzethonium & Phenoxyethanol (0,005 % & 0,5 %)	3M	20000 U/ml	98,3	97,0

¹ wie durch Umkehrphasen-HPLC gemessen

[0053] Wie aus Tabelle 2 ersichtlich, zeigen die Umkehrphasen-HPLC-Daten keinen Verlust an Konzentration von EPO für alle Formulierungen, wenn bei 5°C für bis zu drei bis sieben Monate gelagert wird. Jedoch Formulierungen, die Benzylalkohol oder Benzethoniumchlorid allein enthalten, zeigten bis zu 10 % Verlust an EPO, wenn bei 25°C für bis zu drei bis sieben Monate gelagert. Formulierungen, die Phenoxyethanol oder Phenoxyethanol und Benzethoniumchlorid in Kombination enthielten, zeigten keinen Verlust an EPO, wenn bei 25°C für bis zu drei bis vier Monate gelagert. Diese Ergebnisse zeigen den stabilisierenden Effekt von Phenoxyethanol und Phenoxyethanol und Benzethoniumchlorid in Kombination mit EPO, dieser Effekt ist überraschend und unerwartet sowie sehr vorteilhaft.

C. Beispiel 3: Konservierender Reaktionstest

[0054] Konservierungsstoff-Effektivitätstests sind handbuchgeführte Assays, die die Wirksamkeit für konservierende Systeme in pharmazeutischen Mehrfachdosiszubereitungen ermitteln. In solchen Assays werden Testformulierungen standardisierten Suspensionen von aeroben Indikatorbakterien und Schimmeln exponiert und das Überleben von Mikroorganismen wird über einen Zeitraum von 28 Tagen verfolgt.

[0055] Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der United-States-Pharmacopia (USP)- und European-Pharmacopia (EP)-Konservierungsstoffexpositionstests. Alle getesteten Formulierungen bestanden die USP-Kriterien für den Konservierungsstoffreaktionstest. Formulierungen, die 0,01 % Gewicht/Volumen Benzethoniumchlorid, 0,5 % Gewicht/Volumen Phenoxyethanol oder 0,5 Gewicht/Volumen Phenylethylalkohol enthielten, versagten bei den EP-Kriterien für den Konservierungsstoffexpositionsstest. Formulierungen, die Benzethoniumchlorid und Phenoxyethanol in verschiedenen Kombinationen enthielten und Benzethoniumchlorid und Phenylalkohol in Kombination enthielten, bestanden sowohl die USP- als auch die EP-Kriterien. Bezogen auf die in Tabelle 3 gezeigten Daten scheint es, dass die antimikrobielle Aktivität von Benzethoniumchlorid durch den Zusatz von Phenoxyethanol überraschenderweise in einer synergistischen Weise erhöht wurde.

Tabelle 3

Konservierungsreaktionstesten

Konservierungsstoff	Stärke	Konservierungsexposition	
		USP	EP
Benzylalkohol (1,0 %)	20000 U/ml	bestanden	nicht ausgeführt
Benzethonium (0,01 %) (0,02 %)	20000 U/ml	bestanden bestanden	nicht bestanden bestanden
Phenoxyethanol (0,5 %)	20000 U/ml	bestanden	nicht bestanden
Benzethonium & Phenoxyethanol (0,005 & 0,25 %) (0,005 & 0,5 %) (0,01 & 0,5 %)	20000 U/ml	bestanden	bestanden
Phenylethylalkohol 0,5 %	20000 U/ml	bestanden	nicht bestanden
Benzethonium & Phenylethylalkohol (0,02 % & 0,25 %)	20000 U/ml	bestanden	bestanden

LITERATURSTELLEN:

US-Patent Nr. 4377573 Sugimoto et al.

US-Patent Nr. 4703008 Lin

US-Patent Nr. 4806524 Kawaguchi et al.

US-Patent Nr. 5503827 Woog et al.

US-Patent Nr. 5661125 Stricklan et al.

Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2. Ausgabe, 1994.

L.A. Trissel, "Handbook on Injectable Drugs". 8. Ausgabe, American Society of Hospital Pharmacists, Inc. 1994.

Miyaka et al., "Purification of Human Erythropoietin", J. Biol. Chem., 252 (15): 5558–5564, 1997

Physicians' Desk Reference, 48. Ausgabe, 1994.

Physicians' Desk Reference, 50. Ausgabe, 1996.

Sandeep Nema, R.J. Washkuhn und R.J. Brendel, „Excipients and Their Use in Injectable Products", PDA Journal of Pharmaceutical Sciences & Technology, Band 51(4), Juli-August 1997.

Shewood et al., "Erythropoietin Production by Human Renal Carcinoma Cells in Culture." Endocrinology, Band 99(2): 504–510, 1976.

Sherwood et al., "Establishment of a Human Erythropoietin-Producing Renal Carcinoma Cell Line." Clinical Research, 31: 323A, 1983.

Patentansprüche

1. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend Erythropoietin und eine Menge von Benzethoniumchlorid, die zum Inhibieren von mikrobiellem Wachstum in der Zusammensetzung wirksam ist.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, die 0,01 % bis 1,0 % Benzethoniumchlorid umfasst.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 1, die 0,01 % bis 0,1 % Benzethoniumchlorid umfasst.
4. Zusammensetzung nach Anspruch 1, die 0,01 % Benzethoniumchlorid umfasst.
5. Zusammensetzung nach Anspruch 1, die 0,02 % Benzethoniumchlorid umfasst.
6. Zusammensetzung nach einem vorangehenden Anspruch, die weiterhin Phenoxyethanol umfasst.
7. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, die weiterhin Phenylethylalkohol umfasst.
8. Zusammensetzung nach Anspruch 2, die weiterhin 0,01 bis 1,0 % Phenoxyethanol umfasst.

9. Zusammensetzung nach Anspruch 3, die weiterhin 0,1 bis 0,75 % Phenoxyethanol umfasst.
10. Zusammensetzung nach Anspruch 4, die weiterhin 0,25 Phenoxyethanol umfasst.
11. Zusammensetzung nach Anspruch 4 oder Anspruch 5, die weiterhin 0,5 % Phenoxyethanol umfasst.
12. Zusammensetzung nach Anspruch 7, die etwa 0,02 % Benzethoniumchlorid und etwa 0,25 % Phenylethylalkohol umfasst.
13. Zusammensetzung nach einem vorangehenden Anspruch, die weiterhin ein Salz umfasst.
14. Zusammensetzung nach Anspruch 13, worin das Salz Natriumchlorid ist.
15. Zusammensetzung nach einem vorangehenden Anspruch, die weiterhin einen Puffer umfasst.
16. Zusammensetzung nach Anspruch 15, worin der Puffer Natriumphosphat ist.
17. Fläschchen, enthaltend eine Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 16.
18. Verfahren zum Inhibieren von mikrobiellem Wachstum in einer Erythropoietin umfassenden Lösung, umfassend Zusetzen von Benzethoniumchlorid und gegebenenfalls anderen Komponenten zu der Lösung zur Bildung einer Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 16.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen