

(12) **GEBRAUCHSMUSTERSCHRIFT**

(21) Anmeldenummer: GM 635/01 1

(51) Int.Cl.⁷ : **C07D 211/90**

(22) Anmeldetag: 9. 8.2001

(42) Beginn der Schutzdauer: 15. 9.2002

(45) Ausgabetag: 25.10.2002

(73) Gebrauchsmusterinhaber:

BIOORGANICS B.V.
NL-6545 CM NIJMEGEN (NL).

(72) Erfinder:

PICHA FRANTISEK
BRNO (CZ).
BAKKER PETRUS FRANCISCUS ANTONIUS
VEGHEL (NL).
PETERS THEODORUS HENDRICUS ANTONIUS
ARNHEM (NL).
LEMMENS JACOBUS MARIA
MOOK (NL).

(54) **BEZUGS-STANDARDS ZUM BESTIMMEN DER REINHEIT ODER STABILITÄT VON AMLODIPINMALEAT UND VERFAHREN
HIEFÜR**

(57) Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid werden als
Bezugsstandards oder Marker beim Bestimmen der Reinheit
von Amlodipinmaleat-Substanzen und -Produkten
verwendet.

AT 005 697 U1

Die vorliegende Erfindung betrifft zwei neue Verbindungen, die als Referenzstandards zur Bestimmung der Reinheit oder der Stabilität von Amlodipinmaleat-Substanzen und pharmazeutischen Zusammensetzungen verwendet werden können.

Die pharmazeutischen Produkte werden in den meisten Ländern durch eine Behörde überwacht. Beispielsweise fordert die U.S. Food & Drug Administration (FDA) im allgemeinen von einem Anmelder, die Sicherheit und die Wirksamkeit des pharmazeutischen Produkts während der Zulassungs-/Überprüfungsphase zu zeigen, und überprüft auch nach der Zulassung die Sicherheit des Arzneimittels. Ähnliche Anforderungen existieren in vielen europäischen Staaten und anderswo in der Welt. Um den Sicherheitsbelangen zu genü-

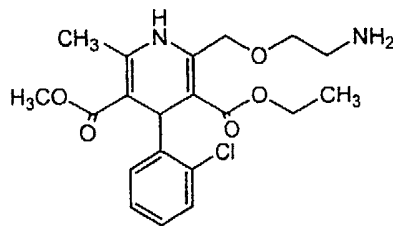
gen, verlangen die Überwachungsbehörden im allgemeinen eine Herstellungsspezifikation, die die maximale Menge an jeder identifizierten Verunreinigung und auch die maximale Menge an restlichen nicht-identifizierten Verbindungen festlegt. Einmal zugelassen, wird jede Charge des pharmazeutischen Produkts getestet, um sicherzustellen, daß der Spezifikation entsprochen wird. Des weiteren werden Stabilitätstests an dem pharmazeutischen Produkt durchgeführt, um aufzuzeigen, daß sich die Zusammensetzung nicht wesentlich oder materiell über die Zeit verändert; d. i. während ihrer angegebenen Haltbarkeitsdauer. Es ist wichtig, daß das pharmazeutische Produkt vor seiner Verabreichung an einen Patienten nicht in der Weise von seiner zugelassenen Spezifikation abweicht, daß seine Sicherheit oder Wirksamkeit beeinträchtigt ist. Die gute Praxis gewährleistet, daß eine Probe von jeder für die Öffentlichkeit freigegebenen Charge genommen wird, so daß die Stabilität überprüft und ein beliebiger Fehler aufgedeckt und korrigiert werden kann.

Demgemäß werden Arzneimittel sowohl während ihrer Herstellung, als auch später während ihrer Haltbarkeitsdauer nach der Reinheit getestet. Typischerweise wird das Produkt getestet, indem bestimmte analytische Ergebnisse mit denen eines Standardreferenz-Ergebnisses verglichen werden. Beispielsweise bedeutet die Detektion von Verunreinigungen, daß das pharmazeutische Produkt untersucht und das Ergebnis mit dem Ergebnis, das für eine im wesentlichen reine Form der vermuteten Verunreinigung in dem gleichen Assay erhalten wird, verglichen wird. Die Quellen potentieller Verunreinigungen in einem pharmazeutischen Wirkstoff oder einer Formulierung umfassen:

- restliche Mengen an synthetischen Vorstufen
- Nebenprodukt herrührend aus der Synthese und Bearbeitung der wirksamen Substanz
- restliche Lösungsmittel
- Abbauprodukte, die aus der Wechselwirkung mit Trägern in der Formulierung resultieren
- Isomere des wirksamen Reagenzes
- Spuren von Fremdstoffen beispielsweise aus Apparaten und der Umgebung.

Ohne Identifizierung der potentiellen Verunreinigung und einen Syntheseweg, um einen Referenzstandard dafür herzustellen, ist es schwierig oder unmöglich, effizient die Verunreinigung zu suchen oder andererseits ihren Gehalt in dem pharmazeutischen Produkt zu überprüfen.

Amlodipinbesylat ist ein hocheffizientes Arzneimittel, das von Pfizer unter der Handelsbezeichnung NORVASC zur Behandlung von Hochdruck und Angina vertrieben wird. Amlodipin selbst wurde zuerst durch EP 0 089 167 und in das entsprechende US 4,572,909 patentiert. In diesen Patenten wird als eine der am meisten bevorzugten Verbindungen 2-[(2-Aminoethoxy)methyl]-4-(2-chlorphenyl)-3-ethoxycarbonyl-5-methoxycarbonyl-6-methyl-1,4-dihydropyridin angegeben. Diese Verbindung, die nun allgemein als Amlodipin bekannt ist, hat folgende Formel:



Die Beispiele 8, 11, 12 und 22 des EP 0 089 167 zeigen die Synthese des Amlodipins in der Maleatsalzform. Während in den genannten Patenten eine Vielzahl von Säureadditionssalzen erwähnt wird, wird das Maleatsalz als das am meisten bevorzugte Säureadditionssalz angegeben. Jedoch wurden EP 0 244 944 und das entsprechende US 4,879,303 als das Besylat(Benzolsulfonat)-Salz des Amlodipins betreffend veröffentlicht. Das Besylatsalz soll gegenüber den vorbekannten Salzen bestimmte Vorteile zeigen, wie etwa gute Eigenschaften bei der Formulierung. Die Qualitätsstandards für Amlodipinbesylat werden in Pharmeuropa 10(2), 187 (1998) angegeben.

Tatsächlich offenbart ein Review der erhältlichen Teile der NORVASC (Amlodipinbesylat) New Drug Application (NDA), angemeldet bei der U.S. Food & Drug Administration von Pfizer, daß während der Entwicklung vom ursprünglichen Maleatsalz auf das spätere Besylatsalz umgeschwenkt wurde. (Siehe „Review of Original NDA“ für NDA#

19-787 vom 10. Oktober 1990, das von der FDA gemäß dem Freedom of Information Act erhalten werden kann). Die Gründe für das Umschwenken waren offensichtlich Tablettier- und Stabilitätsprobleme. Jedoch werden die genauen Stabilitäts- und Tablettierprobleme/Aspekte/Ursachen nicht in den von der FDA erhältlichen Informationen öffentlich offenbart.

Amlodipinmaleat ist jedoch immer noch ein geeignetes Salz des Amlodipins. Es wäre wünschenswert, die damit verbundenen Stabilitätsprobleme zu identifizieren und zu lösen und eine Methode zur Überprüfung seiner Herstellung bereitzustellen.

Die vorliegende Erfindung betrifft das Auffinden von zwei neuen mit Amlodipinmaleat-Substanzen und ihren pharmazeutischen Zusammensetzungen verbundenen Verunreinigungen. Ein Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren, welches umfaßt das Überprüfen eines im wesentlichen reinen Amlodipinaspartats oder Amlodipinmaleamids unter einem Satz von Bedingungen, um ein Referenzstandard-Analysergebnis für diesen Satz von Bedingungen zu erhalten. Ein weiterer Aspekt der Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zum Prüfen der Reinheit oder Stabilität einer Probe von Amlodipinmaleat oder einer pharmazeutischen Darreichungsform, enthaltend Amlodipinmaleat, das umfaßt das Überprüfen einer Probe einer Amlodipinmaleat-Substanz oder Zusammensetzung auf die Anwesenheit von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid. Zum Beispiel ein Verfahren zum Prüfen der Reinheit oder Stabilität einer Amlodipinmaleat-Substanz oder -Zusammensetzung, welches umfaßt das Überprüfen einer Amlodipinmaleat-Substanz oder -Zusammensetzung, um ein Analysenergebnis zu erhalten; und Vergleichen des Analysenergebnisses mit einem entsprechenden Referenzstandard-Analysenergebnis für Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, um zu bestimmen, ob die Reinheit oder Stabilität der Amlodipinmaleat-Substanz oder -Zusammensetzung zufriedenstellend ist. Ein anderer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zum Herstellen pharmazeutisch geeigneter Amlodipinmaleat enthaltender fester Darreichungsformen. Das Verfahren umfaßt das Vermischen von Amlodipinmaleat mit mindestens einem phar-

pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoff, um eine Mischung herzustellen; entweder (a) Abfüllen der Mischung in Kapseln oder (b) Verpressen der Mischung zu Tabletten, um eine Produktionscharge von Amlodipinmaleathaltigen festen pharmazeutischen Darreichungsformen herzustellen; Entnehmen einer Probe der Amlodipinmaleathaltigen festen pharmazeutischen Darreichungsformen von der Produktionscharge; Analysieren der Probe um ein Proben-Analysenergebnis zu erhalten und Vergleichen des Proben-Analysenergebnisses mit einem entsprechenden Referenzstandard-Analysenergebnis für Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, um die Menge an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in Bezug auf Amlodipinmaleat zu bestimmen; und den Vertrieb oder die Freigabe der Produktionscharge, falls die relative Menge an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid nicht größer ist als der vorbestimmte/zugelassene Grenzwert, z.B. 1,0 Gew.-%, vorzugsweise 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Menge des Amlodipinmaleats.

Figur 1 zeigt ein HPLC-Chromatogramm einer künstlichen Mischung von Amlodipinmaleat, Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid.

Figur 2 zeigt ein ^1H -NMR-Spektrum der Amlodipinaspartat-Verbindung, hergestellt gemäß Beispiel 1.

Figur 3 zeigt ein ^{13}C -NMR-Spektrum der Amlodipinaspartat-Verbindung, hergestellt gemäß Beispiel 1.

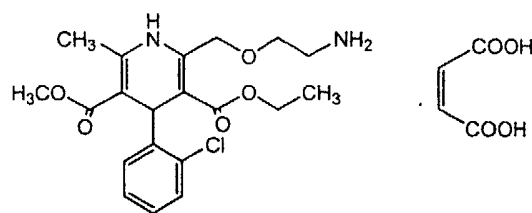
Figur 4 zeigt ein ^1H -NMR-Spektrum der Amlodipinmaleamid-Verbindung, hergestellt gemäß Beispiel 2.

Figur 5 zeigt ein HPLC-Chromatogramm von Amlodipinmaleat-Tabletten, die weniger als 0,2 % Amlodipinmaleat oder Amlodipinaspartat enthalten.

Figur 6 zeigt ein HPLC-Chromatogramm von Amlodipinmaleat-Tabletten, die mehr als 0,2 % Amlodipinaspartat enthalten.

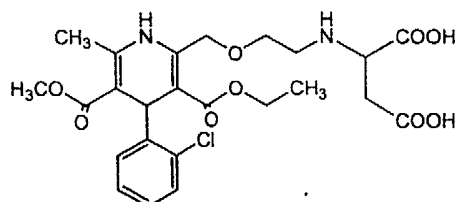
Figur 7 zeigt ein gescanntes TLC-Chromatogramm von Amlodipinmaleat, das mit Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid verunreinigt ist.

Amlodipinmaleat hat folgende Strukturformel:

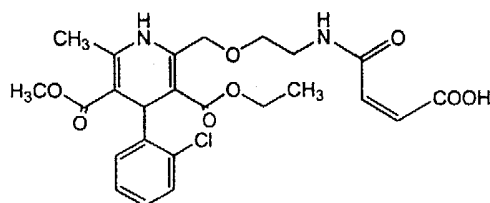


Es ist nun gefunden worden, daß mindestens zwei der bisher nicht-identifizierten Verunreinigungen bei der Qualitätsprüfung des Amlodipinmaleats berücksichtigt werden sollten. Beide sind Kontaminationen, die durch Nebenreaktionen während der Synthese herrühren und/oder während der Lagerung gebildet werden. Die Kontaminationen sind charakteristisch für Amlodipinmaleat, da sie durch die Gegenwart von Maleinsäure entstehen und somit nicht in Zusammenhang mit Amlodipinbesylat identifiziert oder überprüft werden. Die Verbindungen werden hier als Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid bezeichnet. Die Strukturformeln sind nachfolgend gezeigt.

„Amlodipinaspartat“



„Amlodipinmaleamid“



Sowohl Amlodipinaspartat als auch Amlodipinmaleamid sind selbst Calciumkanalblocker und können als pharmazeutische Wirkstoffe verwendet werden. Diese neuen Verbindungen und ihre Verwendung in Arzneimitteln werden detaillierter in der US-Patentanmel-

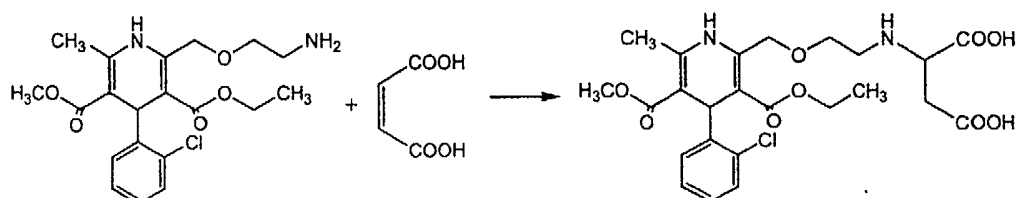
derung 09/809,349 der vorliegenden Anmelderin beschrieben, die am 16. März 2001 angemeldet wurde und den Titel „Aspartate Derivative of Amlodipine“ trägt sowie in der US-Patentanmeldung 09/809,348 der vorliegenden Anmelderin beschrieben, die am 16. März 2001 angemeldet wurde und den Titel „Amide derivative of Amlodipine“ trägt.

Diese Verbindungen werden durch eine Reaktion zwischen Amlodipin und Maleinsäure gebildet. Amlodipinaspartat wird durch eine Michael-Addition zwischen der Aminogruppe des Amlodipins und der Doppelbindung der Maleinsäure gebildet. Amlodipinmaleamid wird durch eine Amidierungsreaktion der Aminogruppe des Amlodipins mit der Carboxylgruppe der Maleinsäure gebildet.

Chemische Reaktionen zwischen Amlodipin und Maleinsäure, die zu Aspartat- und Maleamid-Verunreinigungen führen, können als Nebenreaktion während der Bildung des Amlodipinmaleat-Salzes auftreten. Des weiteren kann das Amlodipinmaleat nachfolgend, das heißt, während der Bearbeitung und Formulierung zu einer pharmazeutischen Endform oder später während der Lagerung, eine Umwandlung bzw. einen Abbau mittels der zuvor genannten Michael-Addition oder Amidierungsreaktionen erfahren, um die Aspartat- oder Maleamidverunreinigung zu bilden. Da von den beiden Verunreinigungen das Amlodipinaspartat leichter gebildet wird, insbesondere unter Lagerungsbedingungen, ist es somit wichtiger, diese Verunreinigung zu überprüfen. Obwohl diese Verbindungen in der pharmazeutischen Zusammensetzung nicht schädlich sein können, da sie selbst Calciumkanalblocker sind, fordert die moderne Zulassungspraxis im allgemeinen die präzise Kontrolle über solche „Verunreinigungen“. Indem nun die Verunreinigungen identifiziert und in einem genügend reinen Zustand hergestellt worden sind, können Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid als Referenzmarker für die Routineanalyse des Amlodipinmaleats oder der Amlodipinmaleat enthaltenden pharmazeutischen Darreichungsformen sowohl während Entwicklungsarbeiten, die darauf abzielen, die zuvor genannten Stabilitätsaspekte zu lösen oder während der industriellen Herstellung des Amlodipinmaleats und darauf basierender pharmazeutischer Formen verwendet werden.

Amlodipinaspartat kann zur Verwendung als Referenzstandard oder –marker synthetisiert werden, indem die freie Amlodipinbase oder deren Salz und Maleinsäure unter Michael-

Additionsbedingungen in engen Kontakt miteinander gebracht werden. Die Reaktion ist nachfolgend veranschaulicht.

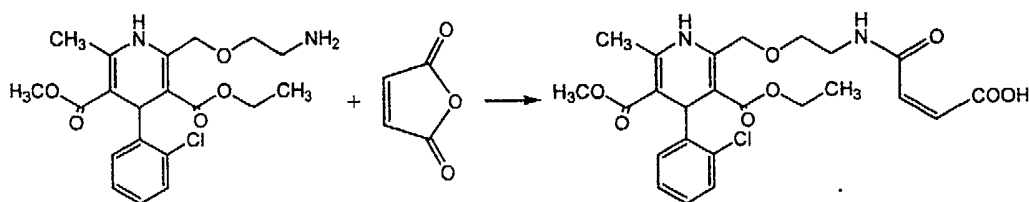


Im allgemeinen verbessern Bedingungen wie höherer pH-Wert, höhere Temperatur und längere Reaktions-/Kontaktzeit die Additionsreaktion. Vorzugsweise ist der pH-Wert der Umgebung immer über 7, vorzugsweise über 7,5. Niedrigere pH-Werte inhibieren die Addition und verhindern die Reaktion. Des weiteren wird die Reaktion vorzugsweise in einer Schmelzphase oder in einer Lösung durchgeführt. Eine „Schmelzphase“ bedeutet, daß Amlodipin zumindest für den Augenblick der Gegenwart der Maleinsäure geschmolzen ist. Wird die Reaktion in Lösung durchgeführt, beträgt die Temperatur vorzugsweise mindestens 60 °C, üblicherweise mindestens 80 °C und typischerweise zwischen 85 °C bis 110 °C. Unter den für die Additionsreaktion geeigneten Lösungsmitteln sind polar-aprotische Lösungsmittel wie etwa N,N-Dimethylformamid, Alkohole wie etwa Ethanol und Isopropanol, Ester wie etwa Ethylacetat sowie Kohlenwasserstoffe wie etwa Toluol.

Das Amlodipin und die Maleinsäure werden normalerweise in näherungsweise stöchiometrischen molaren Mengen nämlich 0,9:1 bis 1:0,9 kombiniert. Ein praktisches Verfahren die Reaktion durchzuführen ist, das Amlodipinmaleat zu schmelzen. Erfindungsgemäß ist es auch vorgesehen, die Maleinsäure tatsächlich schon vorher mit dem Amlodipin zu kombinieren. Alternativ können die freie Amlodipinbase und das Amlodipinmaleat in einem Lösungsmittel kombiniert oder trocken vermischt und geschmolzen werden, um die Reaktion durchzuführen.

Amlodipinmaleamid kann synthetisiert werden, indem Amlodipin oder dessen Salz mit einer Carbonyl-aktivierten Maleinsäureverbindung umgesetzt wird. Die Reaktion ist grundsätzlich eine Amidierungsreaktion und somit in der Gegenwart eines sauren Katalysators, erhöhter Temperatur etc. und solchen anderen Amidierungsbedingungen,

wie sie dem Fachmann bekannt sind, begünstigt. Mit „Carbonyl-aktivierte Maleinsäureverbindung“ ist Maleinsäure oder deren Derivat gemeint, das über eine hinreichend aktivierte Carbonylgruppe verfügt, um die Amidierungsreaktion mit Amlodipin zu erleichtern. In einigen Ausführungsformen wird die Carbonyl-Aktivierung durch die Gegenwart eines sauren Katalysators, typischerweise eine Lewis-Säure wie etwa Aluminiumchlorid oder Phosphorsäure, erreicht. Die bevorzugte Ausführungsform ist jedoch die Verwendung von Maleinsäureanhydrid, welches eine aktivierte Carbonylgruppe ohne die Notwendigkeit eines Katalysators zur Verfügung stellt. Maleinsäure an sich und in der Abwesenheit eines Katalysators oder Aktivators ist keine Carbonyl-aktivierte Maleinsäureverbindung und wird nicht leicht Amlodipinmaleamid bilden, sogar dann nicht, wenn sie in Gegenwart von Amlodipin verwendet wird. Die Reaktion mit Maleinsäureanhydrid ist nachfolgend gezeigt.



Im allgemeinen wird die Reaktion durchgeführt, indem die freie Amlodipinbase oder deren Salz und die Carbonyl-aktivierte Maleinsäureverbindung in engen Kontakt miteinander gebracht werden. Vorzugsweise wird die Reaktion bei erhöhter Temperatur wie etwa 25 bis 100 °C, typischerweise bei 35 bis 50 °C in einem geeigneten Lösungsmittel durchgeführt. Unter den für die Additionsreaktion geeigneten Lösungsmitteln sind polaraprotische Lösungsmittel wie etwa N,N-Dimethylformamid, Alkohole wie etwa Ethanol und Isopropanol, Ester wie etwa Ethylacetat sowie Kohlenwasserstoffe wie etwa Toluol. Das Amlodipin und die Carbonyl-aktivierte Maleinsäureverbindung werden normalerweise in annähernd stöchiometrischen molaren Mengen, nämlich 0,9:1 und 1:0,9, kombiniert.

Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid können jeweils als ein Referenzstandard (oder Referenzmarker) in einem Assay zur Bestimmung der Anwesenheit und/oder des Gehalts der Verunreinigung in einer Probe einer Amlodipinmaleat-Substanz oder einer

pharmazeutischen Zusammensetzung verwendet werden. Als Referenzstandard sollte Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in einer genügend reinen Form vorliegen und typischerweise mindestens 80 %, üblicherweise mindestens 90 % rein sein. Höhere Reinheitsgrade können erreicht werden, sind aber nicht wesentlich. Wie zuvor beschrieben hergestelltes Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid können weiter gereinigt werden, falls erforderlich, um den erwünschten Reinheitsgrad zu erreichen. Die Reinigung kann mittels üblicher Methoden durchgeführt werden; beispielsweise mittels Umkristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel oder durch Rühren, wahlweise unter Erhitzen, einer Suspension der Verbindung in einem geeigneten Lösungsmittel mit nachfolgendem Entfernen der flüssigen Phase.

Die für die vorliegende Erfindung geeignete Analyse ist nicht irgendwie begrenzt und umfaßt jede beliebige Methode, die die Anwesenheit der Zielkomponente detektieren kann. Im allgemeinen können sie in Methoden, die auf der physikalischen Trennung der Zielkomponente(n) in der Probe basieren, und in nicht-trennende oder Beobachtungs-basierende Methoden, wie etwa IR und NMR, aufgeteilt werden, jedoch sind auch andere Methoden möglich. Vorzugsweise basiert die Analyse auf einer Trennung. Beispiele hierfür sind die Dünnschichtchromatographie (TLC) und Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC).

Das Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid werden unter einem Satz von Bedingungen untersucht, um ein Referenzstandard-Analysenergebnis zu erzeugen. Ein „Referenzstandard-Analysenergebnis“ kann ein quantitatives oder qualitatives Ergebnis sein und kann in jeglicher Form vorliegen, einschließlich numerischer Form, graphischer Form, bildlicher Form oder dergleichen. In einigen Fällen kann das Ergebnis für spätere Vergleiche elektronisch gespeichert werden.

Das auf die Anwesenheit von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid zu untersuchende Amlodipinmaleat-Material umfaßt Amlodipinmaleat-Substanzen und -Zusammensetzungen. Der Ausdruck „Amlodipinmaleat-Substanz“ wird hier verwendet, um ein Material zu bezeichnen, das hauptsächlich nur Amlodipinmaleat enthält. Beispiele einer solchen Substanz umfassen das rohe während der Synthese gewonnene Amlodipinmaleat und auch

gereinigtes Amlodipinmaleat. „Amlodipinmaleat-Zusammensetzungen“ umfassen Gemische, Mischungen, Lösungen, Suspensionen etc., die Amlodipinmaleat enthalten. Beispiele solcher Zusammensetzungen umfassen die gemischte, pulverige Zusammensetzung, die in Tablettierv Verfahren verwendet wird, um Tabletten, oder auch deren Intermediate, und Enddarreichungsformen herzustellen. Die Zusammensetzungen können, z.B. durch Zerkleinern der Tablette, um ein Pulver zu erhalten, weiterverarbeitet werden, um die Untersuchung durchführen zu können, und solche Modifikationen liegen im Umfang des Begriffes „Zusammensetzung“. Das Amlodipinmaleat an sich kann jede beliebige geeignete Form haben, einschließlich kristalline Formen oder amorphe Formen.

Eine bevorzugte, zu testende Amlodipinmaleat-Zusammensetzung ist eine feste pharmazeutische Darreichungsform. Eine feste pharmazeutische Darreichungsform umfaßt Tabletten, Kapseln, Beutel etc., die Amlodipinmaleat in pharmazeutisch wirksamer Menge und mindestens einen pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoff wie etwa Bindemittel, Füllstoffe, Streckmittel, Gleitmittel, Sprengmittel etc. enthält. Solche Zusammensetzungen werden mittels im Fachgebiet wohlbekannter Methoden hergestellt, einschließlich Feuchtgranulation, Trockengranulation und Direktverpressung für Tabletten sowie Vermischen und Abfüllen zur Herstellung von Kapseln. In beiden Fällen wird eine Mischung hergestellt, indem Amlodipinmaleat mit mindestens einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoff vermischt wird. Die Mischung wird dann z.B. durch Abfüllen in Kapseln oder Verpressen zu Tabletten, wie gewünscht weiterverarbeitet. Es sollte erwähnt werden, daß das Vermischen oder Granulieren sowohl die trockenen, als auch die feuchten Verarbeitungsverfahren umfaßt. Bevorzugte pharmazeutische Amlodipinmaleat-Zusammensetzungen haben einen pH-Wert in einem Bereich von 5,5 bis 7, gemessen als eine 20 Gew.-%-ige wäßrige Aufschlämmung, und zeigen somit eine verbesserte Stabilität, wie es detaillierter in der U.S.-Patentanmeldung 09/809,346, angemeldet am 16. März 2001, der vorliegenden Anmelderin mit dem Titel „Pharmaceutical Compositions Comprising Amlodipine Maleate“ beschrieben wird.

Für Zwecke der Qualitätskontrolle ist es bevorzugt, daß die pharmazeutische Zusammensetzung aus Amlodipinmaleat hergestellt wird, das einen niedrigen Gehalt an Amlodipin-aspartat oder Amlodipinmaleamid hat. Ein geeigneter Weg, um Amlodipin herzustellen

und es in das Maleatsalz mit einer geringen Verunreinigungsbildung und guten Ausbeuten umzuwandeln, wird detaillierter in der U.S.-Patentanmeldung 09/809,351, angemeldet am 16. März 2001, der vorliegenden Anmelderin mit dem Titel „Process For Making Amlodipine, Derivatives Thereof and Precursors Therefor“ und in der U.S.-Patentanmeldung 09/809,343, angemeldet am 16. März 2001, der vorliegenden Anmelderin mit dem Titel „Process For Making Amlodipine Maleate“ beschrieben.

Typischerweise werden pharmazeutische Zusammensetzungen für Produktionszwecke in Chargen hergestellt. Produktionschargen liegen typischerweise bei 100.000 bis 1.000.000 oder mehr Tabletten oder Kapseln. Eine Produktionscharge sollte geprüft werden, um sicherzustellen, daß der Gehalt an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid innerhalb der Spezifikation liegt, d.h. es sollte eine Qualitätskontrolle erfolgen. Von der Produktionscharge wird eine Probe (z.B. 10 bis 100 Kapseln oder Tabletten) genommen und auf die Anwesenheit von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid und vorzugsweise auch auf deren Gehalt geprüft. Vorzugsweise enthalten die pharmazeutischen Amlodipinmaleat-Zusammensetzungen weniger als 1 %, mehr bevorzugt weniger als 0,5 % und am meisten bevorzugt weniger als 0,2 % an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, basierend auf der Menge an Amlodipinmaleat. Im allgemeinen wird die gesamte Produktionscharge, abzüglich von Rückstellmustern, verkauft oder anderweitig durch den Hersteller freigegeben werden, sofern kein nicht-akzeptabler Gehalt an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid gefunden wird. In letzterem Fall wird die Produktionscharge nicht verkauft oder freigegeben; das heißt weder in den Handel gelangen noch in klinischen Studien verwendet werden.

Die gleiche Strategie kann für Produktionschargen der Amlodipinmaleat-Substanz angewendet werden. Eine Probe wird der von Produktionscharge (z.B. 0,5-2 g des Materials) genommen und auf die Anwesenheit von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid und vorzugsweise auch auf deren Gehalt geprüft. Vorzugsweise enthält die Amlodipinmaleat-Substanz weniger als 1 %, mehr bevorzugt weniger als 0,5 % und am meisten bevorzugt weniger als 0,1 % an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, basierend auf der Menge an Amlodipinmaleat. Im allgemeinen wird die gesamte Produktionscharge, abzüglich von Rückstellmustern, verkauft oder anderweitig durch den Hersteller freigegeben

werden, sofern kein nicht-akzeptabler Gehalt an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid gefunden wird. In letzterem Fall wird die Produktionscharge nicht verkauft oder freigegeben werden; das heißt weder in den Handel gelangen noch zur Produktion von pharmazeutischen Produkten verwendet.

Im allgemeinen führt die Untersuchung des Amlodipinmaleat-Materials zu einem analytischen Ergebnis für die Probe. Typischerweise wird das „Proben-Analysenergebnis“ in beliebiger Weise mit dem Referenzstandard-Analysenergebnis für Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid verglichen. Der Vergleich kann manuell, wie etwa durch visuelle Beobachtung und/oder durch ein automatisiertes Verfahren erfolgen. Das Referenzstandard-Analysenergebnis kann im wesentlichen gleichzeitig mit dem Proben-Analysenergebnis wie etwa unmittelbar vor, während oder unmittelbar nach der Untersuchung der Amlodipinmaleat-Probe erhalten werden oder sie können früher erhalten werden, sogar Monate oder Jahre früher. In einigen Fällen wird das Referenzstandard-Analysenergebnis elektronisch gespeichert und durch einen Computeralgorithmus verwendet, um die Gegenwart von Amlodipinaspartat oder Maleamid sowie deren Mengen zu bestimmen. Diese letztere Ausführungsform schließt das Kalibrieren des Gerätes auf Basis des Referenzstandard-Analysenergebnisses oder daraus abgeleiteter Ergebnisse und/oder eine sogenannte interne Normalisierung ein. Alle solche Vergleiche, ob direkt, indirekt, manuell oder automatisiert fallen unter den Begriff „Vergleichen“.

Die zur Bestimmung der Referenzstandard-Analysenergebnisse verwendete Assay ist im allgemeinen der gleiche, unter Verwendung derselben Bedingungen, der zur Untersuchung des Amlodipinmaleat-Materials verwendet wird, wenngleich dies nicht unbedingt erforderlich ist.

Dies sei unter Bezugnahme auf die zwei bevorzugten Methoden, nämlich TLC und HPLC, näher erläutert. Bei der TLC werden Proben des getesteten Materials und bekannte Mengen an Amlodipinaspartat und/oder Amlodipinmaleamid enthaltende Referenzstandards auf einer geeigneten chromatographischen Platte unter Verwendung eines geeigneten Laufmittels (mobile Phase) unter vorbestimmten Bedingungen chromatographiert. Diese Bedingungen umfassen das Lösungsmittel, die Konzentration des Amlodipinderivats in

dem Lösungsmittel und die auf die Platte aufgebrachte Lösungsmenge. Die Auswahl geeigneter Lösungsmittel und Konzentrationen ist im Fachgebiet gut bekannt. Die unter diesen Bedingungen erhaltenen analytischen Ergebnisse umfassen den R_f -Wert, nämlich das Verhältnis der Laufstrecke des entsprechenden Materials zu der Laufstrecke des Lösungsmittels, und/oder die Größe des auf dem Chromatogramm erzeugten Flecks.

Vorzugsweise wird der Referenzstandard zur selben Zeit und auf dieselbe chromatographische Platte aufgebracht wie die untersuchte Probe, um so direkte Vergleiche zu ermöglichen. In anderen Ausführungsformen ist der Referenzstandard bereits definiert und wird einfach mit dem entwickelten Chromatogramm der Probe verglichen. Somit umfaßt ein Verfahren zur Bestimmung der Reinheit und/oder der Stabilität hinsichtlich des Abbaus einer Amlodipinmaleat enthaltenden Probe folgende Schritte:

- a) Auflösen einer Amlodipinmaleat umfassenden Probe in einem Lösungsmittel, um eine Probelösung herzustellen,
- b) Auflösen einer Amlodipinaspartat- und/oder Amlodipinmaleamid-Probe in einem Lösungsmittel, um eine Referenzlösung zu erzeugen,
- c) Unterziehen der Probelösung und der Referenzlösung der Dünnschichtchromatographie, um für jede ein TLC-Chromatogramm zu erhalten und
- d) Bestimmung der Intensität von jedem aus der Probelösung erhaltenen sekundären Fleck, dessen R_f -Wert dem Referenzmarker entspricht, gegenüber der Intensität des Flecks, der durch Aspartat oder Maleamid in dem Chromatogramm der Referenzlösung hervorgerufen wird. Es sollte erwähnt werden, daß die Referenzlösung eine „gemischte“ Referenzlösung sein kann, die sowohl Aspartat als auch ein anderes Referenzmaterial bekannter Reinheit enthält, das heißt zusätzlich enthaltend eine bekannte Menge und Reinheit an Amlodipin und/oder Amlodipinmaleamid etc.

In ähnlicher Weise kann ein Assay unter Verwendung der HPLC formuliert werden. Die Referenzstandard-Analysenergebnisse können den Trennfaktor, den Responsefaktor, die Retentionszeit und/oder die Peakfläche für Aspartat oder Maleamid einschließen. Bei-

spielsweise umfaßt ein Verfahren zur Bestimmung der Reinheit und/oder der Stabilität hinsichtlich des Abbaus einer Amlodipinmaleat enthaltenen Probe folgende Schritte:

- a) Auflösen einer Amlodipinmaleat enthaltenen Probe in einem Lösungsmittel, um eine oder mehrere Probelösungen zu bilden,
- b) Auflösen einer Probe von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in einem Lösungsmittel, um eine Referenzlösung herzustellen,
- c) Injizieren der Probenlösung und der Referenzlösung auf eine HPLC-Säule und
- d) Bestimmung der Peakflächen jeder Lösung und das Berechnen des Gehalts an Amlodipinaspartat und/oder Amlodipinmaleamid in jeder Probenlösung daraus.

Bei dieser Ausführungsform kann es erforderlich oder wünschenswert sein, vor Schritt c) eine geeignete Lösung durch die HPLC-Säule laufen zu lassen, um den Trennfaktor zwischen Amlodipinmaleat und jeder anderen in der Lösung vorhandenen Verbindung zu bestimmen. In diesem Fall umfaßt die Methode einen zusätzlichen Schritt b') Auflösen von Amlodipinmaleat und mindestens einem geeigneten externen Standard, um eine „System suitability“- Lösung herzustellen und Injizieren dieser Lösung auf die HPLC-Säule, um den (die) Auflösungsfaktor(en) zu bestimmen. Dies ist nützlich, um zu überprüfen, ob die Säule innerhalb ihrer Spezifikation liegt. Diese Lösung kann auch das Aspartat oder das Maleamid sein, aber ist nicht auf diese begrenzt und kann jedes beliebige Material sein, das zeigt, ob die Säule noch so funktioniert, wie sie konstruiert wurde.

Figur 1 zeigt, daß die HPLC benutzt werden kann, um Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid von Amlodipin zu trennen. Eine artifizielle Mischung von Amlodipin, Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid wurde der HPLC unterzogen. Die Ergebnisse sind als ein HPLC-Chromatogramm in Figur 1 gezeigt. Es ist zu bemerken, daß die dem Aspartat und dem Maleamid entsprechenden Peaks sichtbar sind.

Als Alternative zur separaten Bestimmung einer Probe des Referenzmarkers kann der als der Responsefaktor (R) bekannte Parameter verwendet werden. Der Responsefaktor ist ein zuvor bestimmtes Verhältnis eines numerischen Ergebnisses (z.B. der Peakfläche bei HPLC), das mittels einer vorgegebenen analytischen Methode für eine Probe des Aspartats

oder Maleamids erhalten worden ist, zu dem entsprechenden numerischen Ergebnis, das durch Untersuchen der gleichen Menge reinen Amlodipinmaleats bei einer äquivalenten Konzentration erhalten worden ist. Der bekannte Responsefaktor für Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid kann verwendet werden, um die Menge des betreffenden Markers in der getesteten Probe zu berechnen. Auf diese Weise kann die relative Menge der Verunreinigung bezogen auf Amlodipinmaleat in der Probe in auf diesem Gebiet bekannter Weise bestimmt werden.

In den zuvor genannten Ausführungsformen liegt die Anforderung an das Lösungsmittel, die Amlodipinmaleat-Probe aufzulösen, nur darin, die Amlodipinmaleat-Substanz und die Verunreinigungen von Interesse aufzulösen. Andere Komponenten, wie etwa inerte Füllstoffe einer pharmazeutischen Zusammensetzung, müssen nicht in dem Lösungsmittelsystem löslich sein und müssen nicht „aufgelöst“ sein, um den zuvor genannten „Auflösungs“-Schritt zu erfüllen, wie es im Fachgebiet für die Untersuchung einer pharmazeutischen Darreichungsform üblich ist.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung einer aus Amlodipin (1) oder Amlodipinmaleamid (2) ausgewählte Verbindung als ein Referenzmarker zur Analyse der Reinheit oder der Stabilität gegenüber dem Abbau einer Chargenprobe des Amlodipinmaleats oder einer Chargenprobe einer Amlodipinmaleat enthaltenden pharmazeutischen Darreichungsform. Solche eine analytische Prüfung der Arzneimittel-Substanz oder der Amlodipinmaleat enthaltenden Arzneimittelform dient hauptsächlich dazu, zu bestätigen, daß die Verbindungen (1) oder (2) abwesend sind (d.i. unterhalb der Detektionsgrenze der analytischen Methode liegen) oder nur in Mengen unterhalb der maximal erlaubten Grenze vorhanden sind, die die pharmazeutische Qualität der Amlodipin enthaltenden Produkte, d.i. eine Qualität, die es erlaubt, daß die Produkte als Arzneimittel freigegeben oder verkauft werden können, charakterisiert.

Die Erfindung wird durch die folgenden, nicht-begrenzenden Beispiele weiter beschrieben.

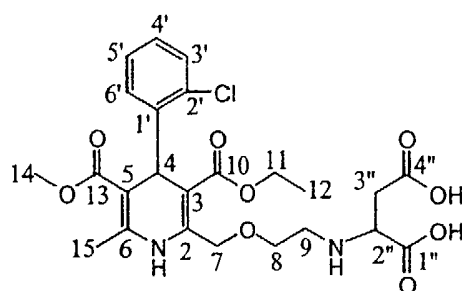
Beispiel 1 - Verfahren zum Herstellen von Amlodipinaspartat

16 g Amlodipin und 12 g Amlodipinmaleat werden in einem 300 ml-Kolben geschmolzen. Die geschmolzene Substanz wird auf Raumtemperatur abgekühlt und in 300 ml Dichlormethan gelöst. Die Lösung wurde mit 300 ml einer 1M NaOH-Lösung extrahiert. Die organische Phase wurde verworfen und die wäßrige Phase mit 55 ml einer 6 M HCl-Lösung angesäuert. Die Mischung wurde mit 300 ml Dichlormethan extrahiert. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet. Die Mischung wurde bis zur Trockenheit eingedampft und der verbliebene Feststoff aus Ethanol umkristallisiert. Der erhaltene Feststoff wurde im Vakuumofen bei 40 °C getrocknet und lieferte 4,7 g eines gebrochen weißen Produkts.

Ausbeute: 4,7 g (39 %)

Schmelzpunkt: 178 °C – 183 °C (zersetzt)

Reinheit: größer als 90 %

¹H-NMR-Spektrum:

Das ¹H-NMR-Spektrum wurde bei 303,2 K auf einem Bruker Avance-400 in deuteriertem Dimethylsulfoxid bei 400 MHz gemessen. Es ist in Figur 2 gezeigt.

δ	Zuordnung
1.12	(t, 3H, $J_{11,12}=7.0\text{Hz}$, 3xH-12);
2.36	(s, 3H, 3xH-15);
2.87	(m, ~2H, 2xH-3");
3.24	(m, ~2H, 2xH-9);
3.52	(s, ~3H, 3xH-14);
3.76	(bs, 2H, 2xH-8);
4.00	(m, 3H, 2xH-11 + H-2");
4.65	(m, 2H, 2xH-7);
5.33	(s, 1H, H-4);
7.13	(dt, 1H, $J_{3',4'}=J_{4',5'}=7.6\text{Hz}$, $J_{4',6'}=1.8\text{Hz}$, H-4');
7.26	(m, 2H, H-3' + H-5');
7.37	(d, 1H, $J_{5',6'}=7.8\text{Hz}$, H-6');
8.61	(s, 1H, NH).

^{13}C -NMR-Spektrum:

Das ^{13}C -NMR-Spektrum wurde bei 303,2 K auf einem Bruker Avance-400 in deuteriertem Dimethylsulfoxid bei 100,6 MHz gemessen. Es ist in Figur 3 gezeigt.

δ	Zuordnung	δ	Zuordnung
14.18	(C-12);	66.64,66.69	(C-7, C-8);
18.33	(C-15);	101.92,102.40	(C-3, C-5);
35.77	(C-3");	127.54	(C-5');
36.85	(C-4);	127.88	(C-4');
45.63,45.74	(C-9);	129.07	(C-2');
50.58	(C-14);	131.11	(C-6');
56.42	(C-2");	166.43	(C-10);
59.50	(C-11);	167.28	(C-13);
		170.55,171.49	(C-1",C-4").

Beispiel 2 - Herstellen von Amlodipinmaleamid

5 g Amlodipin wurden in 50 ml Ethylacetat gelöst und auf 60 °C erwärmt. 1,15 g Maleinsäureanhydrid wurden zu der Mischung gegeben und die Mischung wurde geschüttelt, bis die Lösung klar wurde. Die Mischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und über Nacht stehengelassen. Die Mischung wurde bis zur Trockenheit eingedampft und anschließend im Hochvakuumofen bei 25 °C für drei Stunden getrocknet. Es bildete sich ein gelber Feststoff.

Ausbeute: 6,1 g (99 %)

Schmelzpunkt: 83 °C – 86 °C

Reinheit: größer als 95 % (HPLC)

¹H-NMR-Spektrum:

Das ¹H-NMR-Spektrum wurde bei 303 K auf einem Bruker Avance-400 in deuteriertem Dimethylsulfoxid bei 400 MHz gemessen. Das Spektrum ist in Figur 4 gezeigt.

δ	Zuordnung
1.12	(t, 3H, J _{11,12} =7.0Hz, 12-H₃)
2.31	(s, 3H, 15-H₃)
3.44	(bq, ~2H, 9-H₂)
3.52	(s, ~3H, 14-H₃)
3.58	(bt, 2H, 8-H₂)
3.99	(m, ~2H, 11-H₂)
4.62	(AB q, 2H, 7-H₂)
5.32	(s, 1H, 4-H)
6.27	(d, ~1H, J _{4'',5'} =12.4Hz, 4''-H)
6.43	(d, ~1H, J _{4'',5''} =12.4Hz, 5''-H)
7.13	(dt, 1H, J _{3',4'} =J _{4',5'} =7.7Hz, J _{4',6'} =1.6Hz, 4'-H)
7.23	(dt, 1H, J _{4',5'} =J _{5',6'} =7.7Hz, J _{3',5'} =1.0Hz, 5'-H)
7.28	(dd, 1H, J _{3'4'} =7.7Hz, J _{3',5'} =1.0Hz, 3'-H)
7.34	(dd, 1H, J _{4',6'} =1.6Hz, J _{5',6'} =7.7Hz, 6'-H)
8.49	(s, ~1H, 1-H)
9.24	(bt, ~1H, 9'-NH)

Beispiel 3

Assay für Amlodipinmaleat, Amlodipinaspartat und Amlodipinamid in Amlodipinmaleat-Substanz mittels HPLC.

1. Eine Referenzlösung 1 wurde hergestellt durch Überführen von ca. 32 mg eines Amlodipinmaleat-Referenzstandards (mit bekannter Reinheit) in einen 50 ml-Meßkolben und Auflösen in einer Mischung aus 0,02 M Acetatpuffer pH 5,0 und Acetonitril (1:1 v/v).
2. Die Referenzlösung 2 wurde hergestellt durch Überführen von ca. 32 mg eines Amlodipinmaleatmischungstandards (eine Mischung aus 4 Gewichtsanteilen Amlodipinmaleat, 1 Anteil Amlodipinaspartat und 1 Anteil Amlodipinamid, jedes von hoher und allgemein bekannter Reinheit) in einen 50 ml-Meßkolben und Auflösen in einer Mischung aus 0,02 M Acetatpuffer pH 5,0 und Acetonitril (1:1 v/v).
3. Eine Probelösung wurde hergestellt durch Überführen von ca. 32 mg einer Amlodipinmaleat enthaltenden Probe in einen 50 ml-Meßkolben und Auflösen in einer Mischung aus 0,02 M Acetatpuffer pH 5,0 und Acetonitril (1:1 v/v).

4. Chromatographisches Verfahren

a. Chromatographische Bedingungen:

Trennsäule:	Symmetry Shield C8 (Waters), 100 x 4,6 mm, $d_p = 3,5 \mu\text{m}$		
Vorsäule:	Sentry Guard Säule, Symmetry C8 (Waters), 20 x 3,9 mm, $d_p = 5 \mu\text{m}$		
Mobile Phase:	A) 0,05 M Perchloratpuffer pH 2,75 und Acetonitril 65:35 (v/v) B) 0,05 M Perchloratpuffer pH 2,75 und Acetonitril 35:65 (v/v) <u>Perchloratpuffer pH 2,75:</u> Auflösen von 7 g $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,05 M) und 1,74 g K_2HPO_4 (0,01 M) in 1000 ml Wasser und Einstellen durch Zugabe von Phosphorsäure auf einen pH-Wert von 2,75.		
Fluß:	1,0 ml/min, Gradient		
Gradientenprogramm:	Zeit (min)	% von A	% von B
	0,0	100	0
	4,0	100	0
	14,0	35	65
	21,0	0	100
	28,0	0	100

	29,0	100	0
	32,0	100	0
Detektion:	UV, 237 mm		
Säulentemperatur:	45 °C		
Autosampler:	4 °C, lichtgeschützt		

Injektionsvolumen: 10 µl

b. Injektionsverfahren

Nachdem eine stabile Grundlinie erhalten wurde, wurde die Referenzlösung 2 injiziert und der Trennfaktor zwischen Amlodipin, Aspartat und Amid berechnet. Auch der Symmetriefaktor und die Anzahl an theoretischen Böden wurde unter Verwendung des allgemeinen Verfahrens der European Pharmacopoeia zur Berechnung von Systemeignungsparametern berechnet. Folgende Werte wurden erhalten:

Auflösung: Amlo-Aspartat/Amlodipin = 15,6, Amlodipin/Amlomaleamid = 20,1.

Symmetriefaktor: Amlodipinaspartat 1,2, Amlodipin 1,3, Amlodipinmaleamid 1,2.

Anzahl an theoretischen Böden: Amlodipinaspartat 6387, Amlodipin 22852,

Amlodipinmaleamid 56676.

Dann wurden die Referenzlösung 1 und die Probelösung auf die Säule injiziert.

5. Berechnungen:

Der Gehalt an Amlodipinmaleat und der Gehalt an den entsprechenden Verunreinigungen in der analysierten Probe wurde durch Vergleich der Peakflächen der entsprechenden Verbindungen in dem Chromatogramm der Probelösung mit den entsprechenden Peakflächen der Chromatogramme der Referenzlösungen 1 und 2 unter Berücksichtigung der Einwäge und Reinheit der Referenzproben und vorberechneter relativer Responsefaktoren (RRF) berechnet. Die RRF-Werte und die Analysegrenzwerte der individuellen Verunreinigungen sind in der folgenden Tabelle als % von Amlodipin aufgelistet:

Verbindung	RRF	Analysengrenzwert (%)
Aspartat	0,78	0,01
Amid	1,01	0,02

Beispiel 4

Assay für Amlodipinmaleat und Amlodipinaspartat in Tabletten umfassend Amlodipinmaleat in einer Menge entsprechend 2,5 mg an freier Amlodipinbase mittels HPLC.

Die Gehaltsbestimmung wird wie in Beispiel 3 beschrieben mit den folgenden Änderungen durchgeführt:

Die Probelösung wurde durch Überführen von 5 Amlodipin-tabletten in einen 25 ml-Meßkolben hergestellt. Es wurden 20 ml einer Mischung aus 0,02 M Acetatpuffer pH 5,0 und Acetonitril (1:1 v/v) zugegeben und die Mischung wurde geschwenkt, bis alle Tabletten vollständig zerfallen waren.

Anschließend wurde die Mischung für 5 Minuten in ein Ultraschallbad gegeben. Der Kolben wurde mit einer Mischung aus 0,02 M Acetatpuffer pH 5,0 und Acetonitril (1:1 v/v) aufgefüllt und gemischt. Etwa 10 ml der erhaltenen Lösung wurden für 10 min bei 4000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde zur Analyse verwendet.

Im wesentlichen kann unter der Bedingung, daß 50 ml- oder entsprechend 100 ml-Meßkolben verwendet werden, dasselbe Verfahren für eine Analyse von Tabletten umfassend 5 oder 10 mg Amlodipinmaleat, anstelle von 2,5 wie oben, verwendet werden.

Beispiel 5

Von einer Charge an 10 mg Amlodipinmaleat-Tabletten wurde eine Probe genommen und auf die Anwesenheit von Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid mittels HPLC untersucht. Die Spezifikation dieser Tabletten als „annehmbar“ erfordert, daß nicht mehr als 0,2 % von entweder Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in ihnen anwesend sind. Das HPLC-Chromatogramm ist in Figur 5 gezeigt. Die Gehaltsbestimmung ergab, daß die Tabletten 0,17 % Amlodipinaspartat und 0,01 % Amlodipinmaleamid relativ zur Peakfläche des Amlodipins enthielten und folglich die Menge annehmbar/zulässig ist.

Vergleich.

Von einer anderen Charge an Amlodipinmaleat-Tabletten als der oben verwendeten wurde eine Probe genommen und auf die Anwesenheit von Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid mittels HPLC untersucht. Die Spezifikation dieser Tabletten als „annehmbar“ erfordert wieder, daß nicht mehr als 0,2 % von entweder Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in ihnen anwesend sind. Das HPLC-Chromatogramm ist in Figur 6 gezeigt. Die Untersuchung ergab, daß die Tabletten 0,42 % Amlodipinaspartat und 0,02 % Amlodipinmaleamid relativ zur Peakfläche des Amlodipins enthielten und folglich diese Menge nicht annehmbar ist und nicht zugelassen oder freigegeben werden kann.

Beispiel 6

Bestimmung von Amlodipinaspartat und Amlodipinamid in Amlodipinmaleat-Arzneimittelsubstanz durch TLC.

1. Beschreibung des Systems

Lösungsmittel: Wasser und Methanol im Verhältnis von 50:50 (V/V)

Probenlösung A: 51 mg Amlodipinmaleat-Rohmaterial werden in ein 10 ml-Braunglas überführt. Sie werden in 4 ml Lösungsmittel gelöst und die Lösung wird homogenisiert (entsprechend 10 mg Amlodipin pro ml).

Amloaspartat 0,3 % Lösung B: 6 mg Amlodipinaspartat werden in einen 25 ml-Meßkolben überführt. Es werden 20 ml Lösungsmittel zugegeben und alles mit Hilfe eines Ultraschallbades gelöst. Es wird mit Lösungsmittel aufgefüllt und die Lösung homogenisiert (Stammlösung B). 5 ml der Stammlösung B werden in ein 10 ml-Glasfläschen pipettiert. 3,5 ml Lösungsmittel werden zugegeben und die Lösung wird homogenisiert (entsprechend 0,03 mg Amlodipin pro ml).

Amlomaleamid 0,3 % Lösung C: 6 mg Amlodipinmaleamid werden in einen 25 ml-Meßkolben überführt. Es werden 20 ml Lösungsmittel zugegeben und alles mit Hilfe eines Ultraschallbades gelöst. Es wird mit Lösungsmittel aufgefüllt und die Lösung wird homogenisiert (Stammlösung C). 0,5 ml der Stammlösung C werden in eine Flasche pipettiert. 3,5 ml eines Lösungsmittels werden zugegeben und die Lösung homogenisiert (entsprechend 0,03 mg Amlodipin pro ml).

Gemischter Standard D: 51 mg Amlodipinmaleat-Rohmaterial werden in ein Braunglas überführt. Auflösen in 3 ml Lösungsmittel. Entsprechend 0,5 ml Stammlösung B und 0,5 ml Stammlösung C werden zugegeben und die Lösung homogenisiert.

Platte:	HPTLC-Platte bedeckt mit Silikagel 60 F254, 20 x 10 cm (Merck)
Probenvolumen:	1,0 µl
Bande:	10 mm
Anwendungsgeschwindigkeit:	4 sek/µl
Abstand vom unteren Ende der HPTLC-Platte:	15 mm
Abstand zwischen den Proben:	10 mm
Mobile Phase:	Methylisobutylketon, Methanol und Essigsäure im Verhältnis von 70:20:10 (V/V/V).

Sättigung der Kammer:	Füllen des Konditionierbehälters mit 20 ml mobiler Phase und Sättigen für 5 Minuten
Entwicklung:	Trennstrecke 9 cm, horizontal
Lufttrocknen:	15 min bei Umgebungsbedingungen
Detektion:	UV 366 nm

2. Beurteilung der Chromatogramme

- Nachdem alle vier Lösungen auf die Platte aufgebracht wurden, wurde die TLC-Platte an der Luft getrocknet und dann unter UV-Licht bei 366 nm betrachtet. Der Test war so lange ungültig, bis das Chromatogramm, das mit dem gemischten Standard D erhalten wurde, drei klar getrennte Punkte zeigte.
- Die Intensität jeglicher weiterer Punkte auf dem Chromatogramm der Lösung A, die in ihrem R_f -Wert dem Hauptpunkt, der mit Lösung B erhalten wird, entsprechen (entsprechend 0,3 % des Aspartats), wurde abgeschätzt.
- Die Intensität jeglicher weiterer Punkte auf dem Chromatogramm der Lösung A, die in ihrem R_f -Wert dem Hauptpunkt entsprechen, der mit der Standardlösung C erhalten wird (entsprechend 0,3 % des Amids), wurde abgeschätzt.

3. Ergebnisse

Ein Beispiel eines Chromatogramms der Mischung von Amlodipinmaleat, Amlodipinaspartat und Amlodipinmaleamid, sichtbar dargestellt durch Scannen auf einem Camag TLC Scanner ist in Figur 7 gezeigt.

Substanz	R_f
Amlodipinaspartat	0,06
Amlodipinmaleat	0,19
Amlodipinmaleamid	0,76

Ansprüche

1. Ein Verfahren zum Ermitteln eines Referenzstandard-Analysergebnisses für Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, bei dem eine bekannte Menge von im wesentlichen reinem Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, das in einem Lösungsmittel mit bekannter Konzentration von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid gelöst ist, einer Dünnschichtchromatographie unterzogen wird oder eine HPLC ausgeführt wird, und bei dem der R_f -Wert oder die Größe eines Flecks als Referenzstandard-Analysergebnis herangezogen wird bzw. der Auflösungsfaktor, die Retentionszeit, die Peakfläche und/oder der Responsefaktor eines Peaks.

2. Ein Verfahren zum Prüfen der Reinheit oder Stabilität einer Probe von Amlodipinmaleat oder einer pharmazeutischen Darreichungsform enthaltend Amlodipinmaleat, bei dem die Probe einer Dünnschichtchromatographie oder HPLC unterzogen wird, um ein Analysergebnis zu erhalten, und bei dem das Analysergebnis mit einem nach Anspruch 1 ermittelten Referenzstandard-Analysergebnis für Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid verglichen wird, um die Reinheit oder Stabilität der Amlodipinmaleat-Substanz oder -Zusammensetzung zu bestimmen.

3. Ein Verfahren zum Bestimmen der Anwesenheit einer Verunreinigung, mit dem Stufen:

- a) Auflösen einer Probe, enthaltend Amlodipinmaleat in einem Lösungsmittel, um eine Probenlösung herzustellen;
- b) Auflösen einer Probe von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in einem Lösungsmittel, um eine Referenzlösung herzustellen;
- c) Unterwerfen der Probenlösung und der Referenzlösung einer Dünnschichtchromatographie, um ein TLC-Chromatogramm für jede der beiden zu erhalten; und
- d) Abschätzen der Intensität allfälliger sekundärer Flecken, die von der Probenlösung erhalten werden, die hinsichtlich des R_F -Wertes dem Referenzstoff entsprechen, gegen die Intensität des Aspartats oder Maleamid entsprechenden Flecks im Chromatogramm der Referenzlösung.

4. Ein Verfahren zum Bestimmen der Anwesenheit einer Verunreinigung, mit den Stufen:

- a) Auflösen einer Probe enthaltend Amlodipinmaleat in einem Lösungsmittel, um eine oder mehrere Probenlösungen herzustellen;
- b) Auflösen einer Probe von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in einem Lösungsmittel, um eine Referenzlösung herzustellen;
- c) Injizieren der Probe- und der Referenzlösungen in eine HPLC-Säule und Ausführen der HPLC; und

d) Abschätzen der Peakflächen jeder Lösung und Berechnen aus diesem den Gehalt von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in jeder Probelösung.

5. Ein Verfahren, bei dem Amlodipinmaleat von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid durch Dünnschichtchromatographie abgetrennt wird.

6. Ein Verfahren, bei dem Amlodipinmaleat von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid durch HPLC abgetrennt wird.

7. Ein Verfahren, bei dem Amlodipinmaleat mit wenigstens einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoff zur Bildung einer Mischung vermischt wird;

bei dem die Mischung entweder (a) in Kapseln abgefüllt oder (b) zu Tabletten gepreßt wird, um eine feste, pharmazeutische Amlodipinmaleat-Darreichungsform zu bilden;

bei dem eine Probe der festen, pharmazeutischen Amlodipinmaleat-Darreichungsform aus der Produktionscharge entnommen wird;

bei dem die Probe überprüft wird, um ein Proben-Analysenergebnis zu halten; und

bei dem das Proben-Analysenergebnis mit einem Referenzstandard-Analysenergebnis für Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid verglichen wird, um die Menge von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid relativ zu Amlodipinmaleat zu bestimmen.

8. Das Verfahren nach Anspruch 7, wobei beim Vergleichs-Schritt eine elektronisch gespeicherte Wiedergabe des Referenzstandard-Analysenergebnisses ausgeführt wird.

9. Das Verfahren nach Anspruch 7 oder 8, bei dem beim Vergleichs-Schritt eine visuelle Prüfung des Proben-Analysenergebnisses und des Referenzstandard-Analysenergebnisses ausgeführt wird.



ÖSTERREICHISCHES PATENTAMT

A-1014 Wien, Kohlmarkt 8-10, Postfach 95
 TEL. +43/(0)1/53424; FAX +43/(0)1/53424-535;
 Postscheckkonto Nr. 5.160.000 BLZ: 60000 SWIFT-Code: OPSKATWW
 IBAN: AT36 6000 0000 0516 0000 UID-Nr. ATU38266407; DVR: 0078018

RECHERCHENBERICHT

zu 5 GM 635/2001

Ihr Zeichen: A89-196000

Klassifikation des Antragsgegenstandes gemäß IPC⁷ : C07D 211/90,

Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation): C07D 211/00

Konsultierte Online-Datenbank: EPA: WPI, REGISTRY and CA DATABASES, STN (Karlsruhe)

Der Recherchenbericht wurde auf der Grundlage der am 10.06.2002 eingereichten Ansprüche erstellt.

Die in der Gebrauchsmusterschrift veröffentlichten Ansprüche könnten im Verfahren geändert worden sein (§ 19 Abs. 4 GMG), sodass die Angaben im Recherchenbericht, wie Bezugnahme auf bestimmte Ansprüche, Angabe von Kategorien (X, Y, A), nicht mehr zutreffend sein müssen. In die dem Recherchenbericht zugrundeliegende Fassung der Ansprüche kann beim Österreichischen Patentamt während der Amtsstunden Einsicht genommen werden.

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung (Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur (soweit erforderlich))	Betreffend Anspruch
A	J. LUKSA et al., „HPLC preparation of R(+) and S(-) optical isomers of amlodipine“, Zb. Ref. Posvetovanja Slov. Kem. Dnevi (1997), 43-46 (abstract) CA [online], Chemical Abstracts online [retrieved on 31.05.2002]. Retrieved from: CA Database, STN-International, Karlsruhe (DE), CA Accession no. 130:124968 siehe CA abstract	1
A	J. LI et al., „Determination of amlodipine besylate in pharmaceuticals by spectrophotometry“, Huagong Kuangwu Yu Jiagong, 30 (3), 2001, Seiten 22-24, (abstract) CA [online], Chemical Abstracts online [retrieved on 31.05.2002]. Retrieved from: CA Database, STN-International, Karlsruhe (DE), CA Accession no. 135:24783 siehe CA abstract	1

☐ Fortsetzung siehe Folgeblatt

Kategorien der angeführten Dokumente (dienen in Anlehnung an die Kategorien der Entgegenhaltungen bei EP- bzw. PCT-Recherchenberichten nur zur raschen Einordnung des ermittelten Standes der Technik, stellen keine Beurteilung der Erfindungseigenschaft dar):

"A" Veröffentlichung, die den **allgemeinen Stand der Technik** definiert.

"Y" Veröffentlichung **von Bedeutung**; die Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese **Verbindung für einen Fachmann naheliegend** ist.

"X" Veröffentlichung **von besonderer Bedeutung**; die Erfindung kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden.

"P" Zwischenveröffentlichtes Dokument, das **von besonderer Bedeutung** ist.

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben **Patentfamilie** ist.

Ländercodes:

AT = Österreich; AU = Australien; CA = Kanada; CH = Schweiz; DD = ehem. DDR; DE = Deutschland;

EP = Europäisches Patentamt; FR = Frankreich; GB = Vereinigtes Königreich (UK); JP = Japan;

RU = Russische Föderation; SU = Ehem. Sowjetunion; US = Vereinigte Staaten von Amerika (USA);

WO = Veröffentlichung gem. PCT (WIPO/OMPI); weitere Codes siehe WIPOST.3.

Datum der Beendigung der Recherche: 03.06.2002

Prüferin: Slaby

Die genannten Druckschriften können in der Bibliothek des Österreichischen Patentamtes während der Öffnungszeiten (Montag bis Freitag von 8 bis 12 Uhr 30, Dienstag von 8 bis 15 Uhr) unentgeltlich eingesehen werden. Bei der von der Teilrechtsfähigkeit des Österreichischen Patentamtes betriebenen Kopierstelle können schriftlich (auch per Fax Nr. 01 / 534 24 - 737) oder telefonisch (Tel. Nr. 01 / 534 24 - 738 oder - 739) oder per e-mail: Kopierstelle@patent.bmvit.gv.at **Kopien** der ermittelten Veröffentlichungen bestellt werden.

Auf Bestellung gibt das Patentamt Teilrechtsfähigkeit (TRF) gegen Entgelt zu den im Recherchenbericht genannten Patentdokumenten allfällige veröffentlichte "**Patentfamilien**" (denselben Gegenstand betreffende Patentveröffentlichungen in anderen Ländern, die über eine gemeinsame Prioritätsanmeldung zusammenhängen) bekannt. Diesbezügliche Auskünfte erhalten Sie unter Telefonnummer 01 / 534 24 - 738 oder - 739 (Fax. Nr. 01/534 24 – 737; e-mail: Kopierstelle@patent.bmvit.gv.at).

☐ Fortsetzung siehe Folgeblatt

*) Nichtzutreffendes bitte streichen