

(12) **Gebrauchsmusterschrift**

(21) Anmeldenummer: GM 340/04 (51) Int. Cl.⁷ C07D 211/90
(22) Anmeldetag: 2001-08-15
(42) Beginn der Schutzdauer: 2005-08-15
Längste mögliche Dauer: 2011-08-31
(45) Ausgabetag: 2005-10-17 (60) Abzweigung aus EP 01972795

(30) Priorität:
29.12.2000 US 258601 beansprucht.
16.03.2001 US 809347 beansprucht.

(73) Gebrauchsmusterinhaber:
PFIZER LIMITED
CT13 9NJ SANDWICH (GB).

(54) **VERFAHREN ZUR ÜBERPRÜFUNG DER REINHEIT ODER STABILITÄT VON
AMLODIPINMALEAT-HÄLTIGEN PROBEN MITTELS REFERENZSTANDARDS**

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren umfassend die Untersuchung von im Wesentlichen reinem Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid unter einem Satz Bedingungen, um ein Referenzstandard-Analyseergebnis für diese Bedingungen zu erhalten.

AT 007 871 U1 2005-10-17

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von zwei neuen Verbindungen als Referenzstandards zur Bestimmung der Reinheit oder der Stabilität von Amlodipinmaleat-Substanzen und pharmazeutischen Zusammensetzungen.

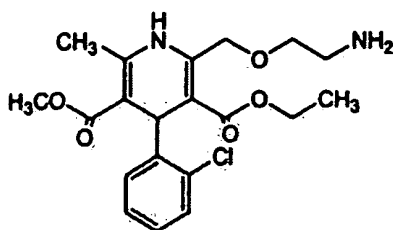
- 5 Die pharmazeutischen Produkte werden in den meisten Ländern durch eine Behörde überwacht. Beispielsweise fordert die U.S. Food & Drug Administration (FDA) im Allgemeinen von einem Anmelder, die Sicherheit und die Wirksamkeit des pharmazeutischen Produkts während der Zulassungs-/Überprüfungsphase 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 genügen, 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.

- 25 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 normalerweise, 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
- 35 • restliche Lösungsmittel
- Abbauprodukte, die sich während der Lagerung bilden, umfassend Produkte, die aus der Wechselwirkung mit Trägern in der Formulierung resultieren
- Isomere des wirksamen Reagenzes
- Spuren von Fremdstoffen beispielsweise aus Apparaten und der Umgebung.

- 40 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.

- 45 Amlodipinbesylat ist ein hocheffektvolles 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 dem entsprechenden 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(oder 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.

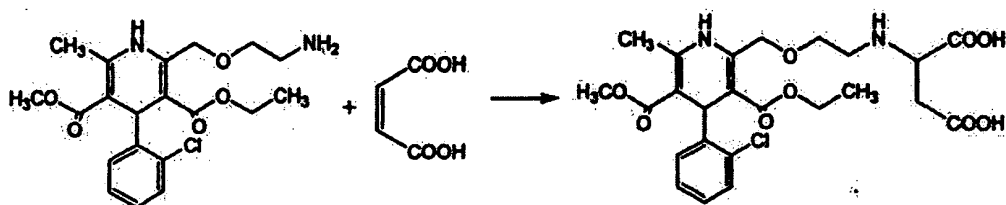
Die vorliegende Erfindung betrifft das Auffinden von zwei neuen mit Amlodipinmaleat-Substanzen und ihren pharmazeutischen Zusammensetzungen verbundenen Verunreinigungen. Ein Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren umfassend die Analyse eines im Wesentlichen reinen Amlodipinaspartats oder Amlodipinmaleamids unter einem Satz Bedingungen, um ein Referenzstandard-Analyseergebnis für diese Bedingungen zu erhalten. Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Überprüfung der Reinheit und Stabilität einer Amlodipinmaleat-Probe oder einer Amlodipinmaleat umfassenden pharmazeutischen Darreichungsform durch Überprüfung einer Amlodipinmaleat-Substanz oder -Zusammensetzung auf die Anwesenheit von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleat. Beispielsweise ein Verfahren zur Überprüfung der Reinheit oder Stabilität einer Amlodipinmaleat-Substanz oder -Zusammensetzung, um ein Analyseergebnis für diese zu erhalten; und Vergleichen des Analyseergebnisses mit einem entsprechenden Referenzstandard-Analyseergebnis für Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, um zu ermitteln, ob die Reinheit oder Stabilität der Amlodipinmaleat-Substanz oder -Zusammensetzung zufrieden stellend ist.

Ein anderer Aspekt der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von pharmazeutisch geeignetem Amlodipinmaleat enthaltende feste Darreichungsformen. Das Verfahren umfasst die folgenden Schritte: Vermischen von Amlodipinmaleat mit mindestens einem 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-Analyseergebnis zu erhalten; Vergleichen des Proben-Analyseergebnisses mit einem entsprechenden Referenzstandard-Analyseergebnis für Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, um die Menge an Amlodipi-

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-Patentanmeldung 09/809,349 der vorliegenden Anmelderin beschrieben, die am 16. März 2001 angemeldet wurde und den Titel „Aspartate Derivative of Amlodipine“ trägt, auf deren gesamten Inhalt hierin unter Bezugnahme hingewiesen wird, 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, auf deren gesamten Inhalt hierin unter Bezugnahme hingewiesen wird.

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.

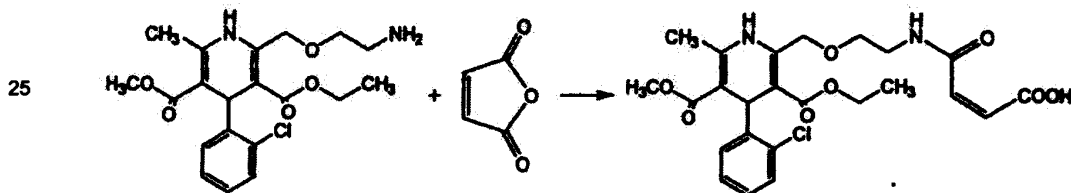
Amlodipinaspartat kann zur Verwendung als Referenzstandard oder -marker synthetisiert werden, indem die freie Amlodipinbase oder deren Salz und Maleinsäure unter Michael-Additionsbedingungen in engen Kontakt miteinander gebracht werden. Die Reaktion ist nachfolgend veranschaulicht.



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 etc., 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 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 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 klären oder anderweitig detektieren kann. Im Allgemeinen können die Analysen 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 für diese Analyseart 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 Tablettierverfahren 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, auf deren gesamten Inhalt hierin unter Bezugnahme hingewiesen wird.

Für Zwecke der Qualitätskontrolle ist es bevorzugt, dass die pharmazeutische Zusammensetzung aus Amlodipinmaleat hergestellt wird, das einen niedrigen Gehalt an Amlodipinaspartat 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“, auf deren gesamten Inhalt hierin unter Bezugnahme hingewiesen wird 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, auf deren

gesamten Inhalt hierin unter Bezugnahme hingewiesen wird.

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 Ausführungsformen wird das Referenzstandard-Analysenergebnis elektronisch gespeichert und durch einen Computeralgorithmus verwendet, um die Gegenwart des Amlodipinaspartats oder Maleamids sowie deren Mengen zu bestimmen. Diese letztere Ausführungsform schließt das Kalibrieren des Gerätes auf Basis des Referenzstandard-Analysenergebnisses oder daraus abgeleiteter Ergebnisse und/oder die Bereitstellung einer sogenannten internen Normalisierung ein. Alle solche Vergleiche, ob direkt, indirekt, manuell oder automatisiert fallen unter den Begriff „Vergleichen“.

Der 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-Analyseergebnisse können den Trennfaktor, den Responsefaktor, die Retentionszeit und/oder die Peakfläche für Aspartat oder Maleamid einschließen. Beispielsweise umfaßt ein Verfahren zur Bestimmung der Reinheit und/oder der Stabilität hinsichtlich des Abbaus einer Amlodipinmaleat enthaltenden Probe folgende Schritte:

- a) Auflösen einer Amlodipinmaleat enthaltenden 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 stellt ferner die Verwendung einer aus Amlodipinaspartat (1) oder Amlodipinmaleamid (2) ausgewählten Verbindung bereit, die 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 verwendet werden kann. Solch 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 zur Herstellung von Amlodipinaspartat

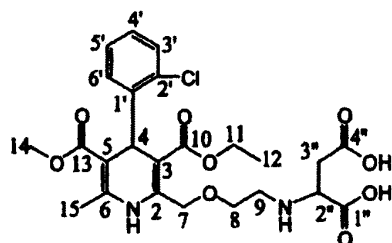
16 g Amlodipin und 12 g Amlodipinmaleat werden in einem 300 ml-Kolben geschmolzen. Die geschmolzene Substanz wird auf Raumtemperatur abgekühlt und in 300 ml Dichlormethan gelöst. Die Mischung wurde mit 300 ml einer 1M NaOH-Lösung extrahiert. Die organische Phase wurde verworfen und die wäßrige Phase 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 Na_2SO_4 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
5	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);
10	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);
15	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).

20 ^{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
25	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');
30	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").

35

Beispiel 2 - Herstellung 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.

40

Ausbeute: 6,1 g (99 %)

Schmelzpunkt: 83 °C - 86 °C

45

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.

50

	δ	Zuordnung
	1.12	(t, 3H, $J_{11,12}=7.0\text{Hz}$, 12-H3)
	2.31	(s, 3H, 15-H ₃)
55	3.44	(bq, ~2H, 9-H ₂)

- 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 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)
 10 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)

15 Beispiel 3

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

20 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).

25 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).

30 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:

35

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, $d_p = 5 \mu\text{m}$

40

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)

45

Perchloratpuffer pH 2,75: 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
50	4,0	100	0
	14,0	35	65
	21,0	0	100
	28,0	0	100
	29,0	100	0
55	32,0	100	0

Detektion: UV, 237 mm
Säulentemperatur: 45 °C
Autosampler: 4 °C, lichtgeschützt
Injektionsvolumen: 10 µl

5

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 Platten 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 Platten: 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:

30

Ver- bindung	RRF	Analy- sengrenzwert (%)
Aspartat	0,78	0,01
Amid	1,01	0,02

35

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:

45

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.

50

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.

55

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.

5 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 Untersuchung 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.

15 Von einer anderen Charge mit 10 mg 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
20 ergab, dass die Tabletten 0,42 % Amlodipinaspartat und 0,02 % Amlodipinmaleamid relativ zur Peakfläche des Amlodipins enthielten und folglich diese Charge nicht annehmbar ist und nicht zugelassen oder freigegeben werden kann.

Beispiel 6

25 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)

30 *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).

35 *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).

40 *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.

50 *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

55 *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

- 5 Entwicklung: Trennstrecke 9 cm, horizontal
 Lufttrocknen: 15 min bei Umgebungsbedingungen
 Detektion: UV 366 nm

2. Entwicklung der Chromatogramme

- 10 a. 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.
- 15 b. 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.
- 20 c. 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

- 25 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
30 Amlodipinmaleamid	0,76

- 35 Nach Beschreibung der Erfindung ist es für den Fachmann offensichtlich, dass weitere Änderungen und Modifikationen bei der tatsächlichen Verwendung der hierin beschriebenen Konzepte und Ausführungsformen leicht durchzuführen und durch Anwendung der Erfindung erlernt werden können ohne, dass von dem Rahmen der Erfindung, wie durch die folgenden Ansprüche definiert, abgewichen wird.

Ansprüche:

- 40
1. Verfahren umfassend die Untersuchung von im Wesentlichen reinem Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid unter einem Satz Bedingungen, um ein Referenzstandard-Analyseergebnis für diese Bedingungen zu erhalten.
 - 45 2. Verfahren gemäß Anspruch 1, wobei die Untersuchung eine Dünnschichtchromatographie ist und die Bedingungen das Lösungsmittel, die Konzentration von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in dem Lösungsmittel und die Menge an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, welche auf das Chromatogramm aufgebracht werden, einschliessen, und wobei das Referenzstandard-Analyseergebnis der R_f -Wert und/oder die Größe eines Flecks ist, welcher dem Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid entspricht.
 - 50 3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, wobei die Untersuchung HPLC ist und die Bedingungen das Lösungsmittel, die Konzentration von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in dem Lösungsmittel und die Menge an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, welche auf das Chromatogramm aufgebracht werden, einschliessen, und wobei das Referenzstandard-Analyseergebnis der R_f -Wert und/oder die Größe eines Flecks ist, welcher dem Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid entspricht.
 - 55

renzstandard-Analyseergebnis der Auflösungsfaktor oder die Retentionszeit, die Peakfläche und/oder der Responsfaktor eines Peaks entsprechend dem Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid ist.

- 5 4. Verfahren zum Prüfen der Reinheit oder Stabilität einer Probe von Amlodipinmaleat oder einer pharmazeutischen Darreichungsform enthaltend Amlodipinmaleat, umfassend die Untersuchung einer Probe einer Amlodipinmaleatsubstanz oder -zusammensetzung auf die Anwesenheit von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid.
- 10 5. Verfahren gemäß Anspruch 4, umfassend:
Untersuchen einer Amlodipinmaleatsubstanz oder -zusammensetzung, um ein Analyseergebnis zu erhalten; und
Vergleichen des Analyseergebnisses mit einem entsprechenden Referenzstandard-Analyseergebnis um festzustellen, ob die Reinheit oder Stabilität der Amlodipinmaleatsubstanz oder -zusammensetzung zufriedenstellend ist.
- 15 6. Verfahren gemäß den Ansprüchen 4 oder 5, wobei die Reinheit oder Stabilität zufriedenstellend ist, wenn festgestellt wird, dass die Menge an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid relativ zum Amlodipinmaleamid weniger als 0,2 Gew.-% ist.
- 20 7. Verfahren zum Bestimmen der Anwesenheit einer Verunreinigung, umfassend die Schritte:
a) Auflösen einer Probe umfassend Amlodipinmaleat in einem Lösungsmittel, um eine Probenlösung herzustellen;
b) Auflösen einer Probe Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in einem Lösungsmittel, um eine Referenzlösung herzustellen;
25 c) Unterwerfen der Probenlösung und der Referenzlösung einer Dünnschichtchromatographie, um ein DSC-Chromatogramm für jede der beiden zu erhalten; und
d) Abschätzen der Intensität allfälliger sekundärer Flecken, die von der Probenlösung erhalten werden, die hinsichtlich des RF-Wertes dem Referenzmarker entsprechen, gegen
30 die Intensität des dem Aspartat oder Maleamid entsprechenden Fleck im Chromatogramm der Referenzlösung.
8. Verfahren zum Bestimmen der Anwesenheit einer Verunreinigung, umfassend die Schritte:
a) Auflösen einer Probe umfassend Amlodipinmaleat in einem Lösungsmittel, um eine oder
35 mehrere Probenlösungen herzustellen;
b) Auflösen einer Probe Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in einem Lösungsmittel, um eine Referenzlösung herzustellen;
c) Injizieren der Probe- und der Referenzlösungen in einer HPLC-Säule; und
40 d) Abschätzen der Peakflächen jeder Lösung und Berechnen aus diesem den Gehalt von Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in jeder Probenlösung.
9. Verfahren, umfassend das Vermischen von Amlodipinmaleat mit wenigstens einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoff, um eine Mischung herzustellen;
45 bei dem die Mischung entweder (a) in Kapseln abgefüllt oder (b) zu Tabletten gepresst wird, um eine Produktionscharge von Amlodipinmaleathaltigen festen pharmazeutischen Dosierungsformen herzustellen;
Entnehmen einer Probe der Amlodipinmaleathaltigen festen pharmazeutischen Dosierungsformen von der Produktionscharge;
Unterziehen der Probe einer Untersuchung um ein Proben-Analyseergebnis zu erhalten;
50 und
Vergleichen des Proben-Analyseergebnisses mit einem entsprechenden Referenzstandard-Analyseergebnis für Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid, um die Menge an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid in Bezug auf Amlodipinmaleat zu bestimmen;
und
55 Vertrieb oder Freigabe der Produktionscharge, falls die relative Menge an Amlodipinaspar-

tat oder Amlodipinmaleamid nicht größer ist als 1,0 Gew.-%, bezogen auf die Menge des Amlodipinmaleats ist.

10. Verfahren gemäß Anspruch 9, wobei das Referenzstandard-Analyseergebnis vor dem Schritt des Vermischens ermittelt wurde.

11. Verfahren gemäß den Ansprüchen 9 oder 10, wobei der Vergleichsschritt eine elektronisch gespeicherte Darstellungsform des Referenzstandard-Analyseergebnisses verwendet.

12. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 9-11, wobei der Vergleichsschritt eine visuelle Prüfung des Proben-Analyseergebnisses und des Referenzstandard-Analyseergebnisses umfasst.

13. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 9-13, wobei die Produktionscharge freigegeben oder vertrieben wird, wenn die Menge an Amlodipinaspartat oder Amlodipinmaleamid nicht mehr als 0,2 Gew.-% beträgt, bezogen auf die Menge an Amlodipinmaleat.

Hiezu 7 Blatt Zeichnungen

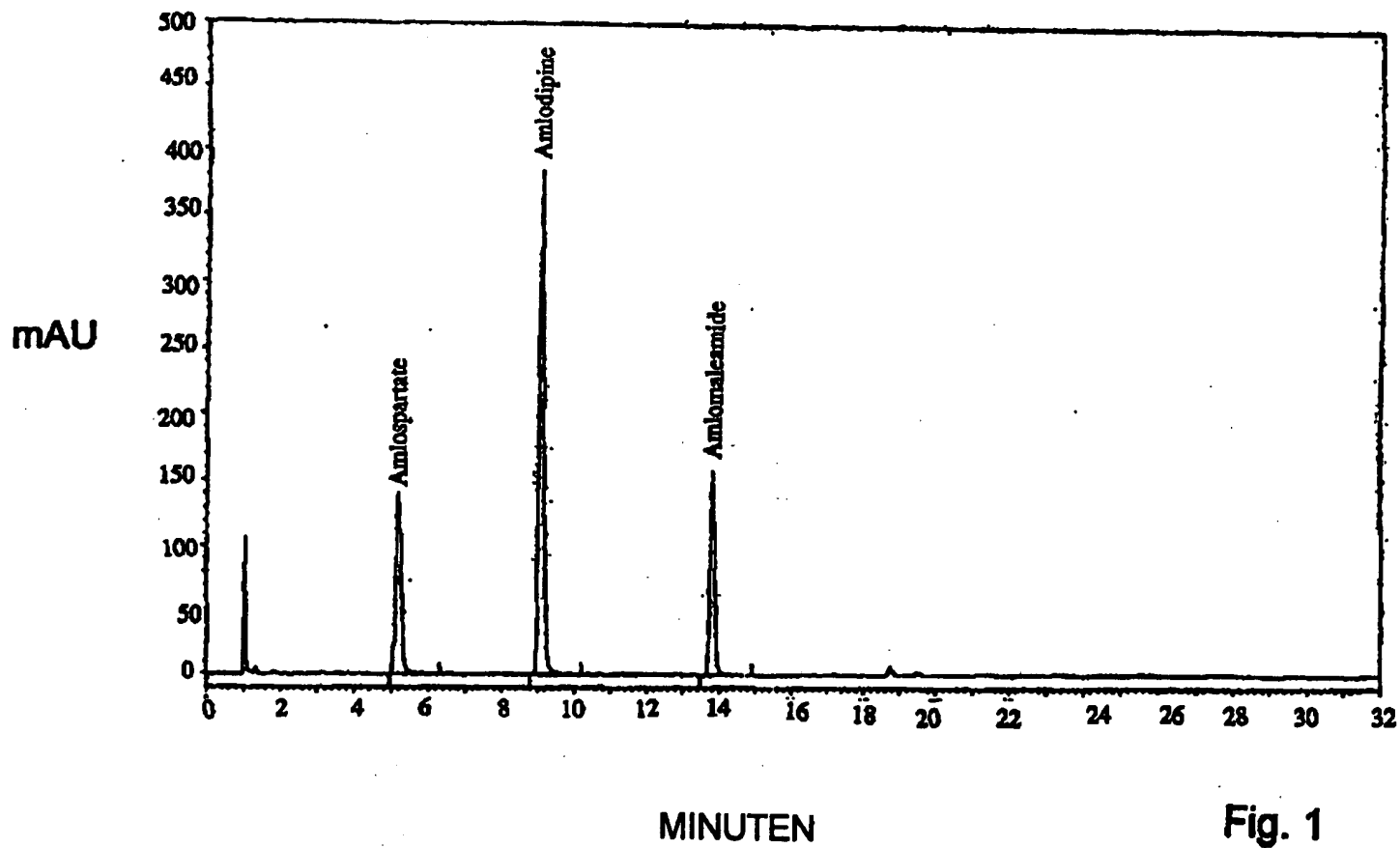


Fig. 1

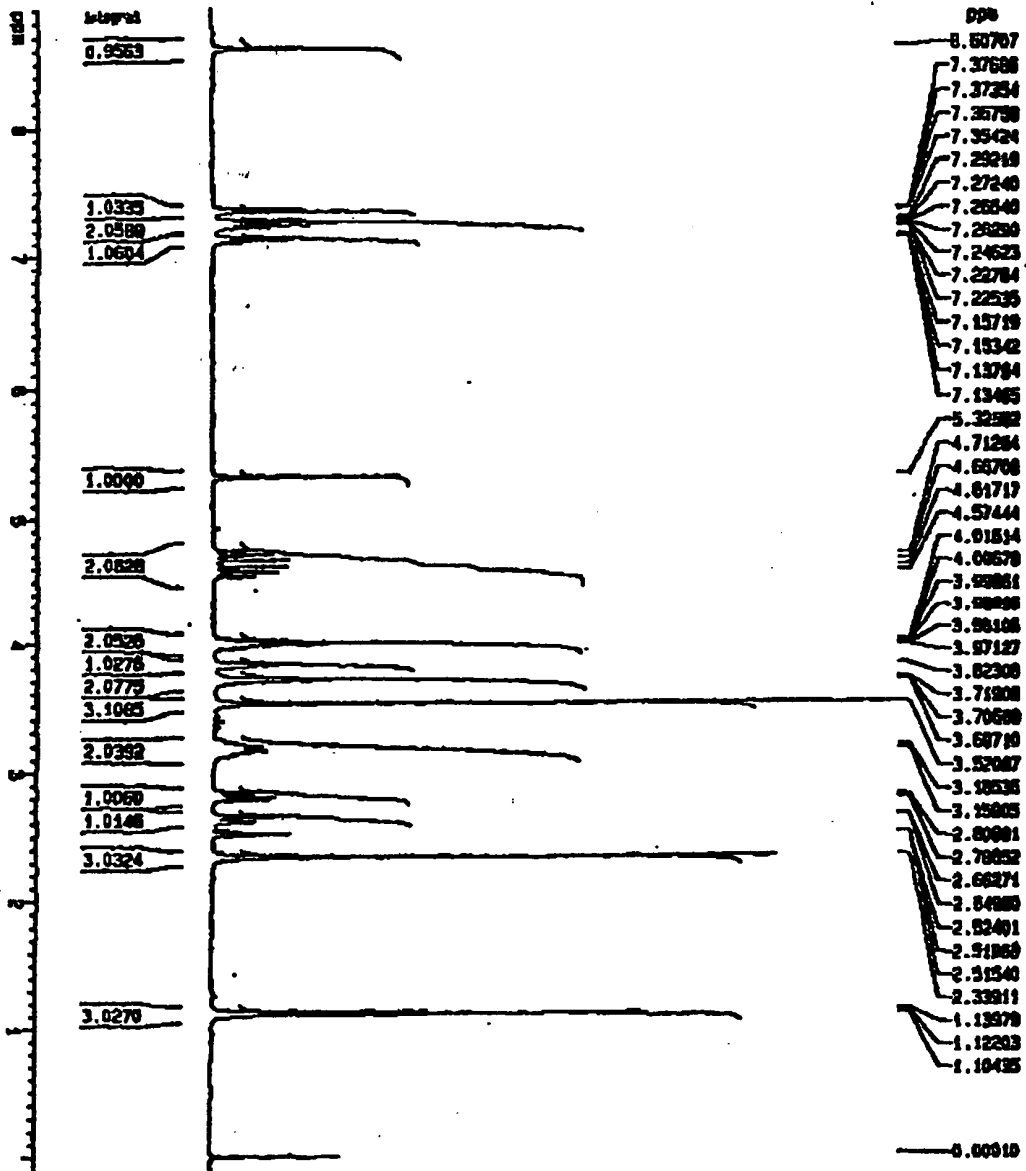


Fig. 2

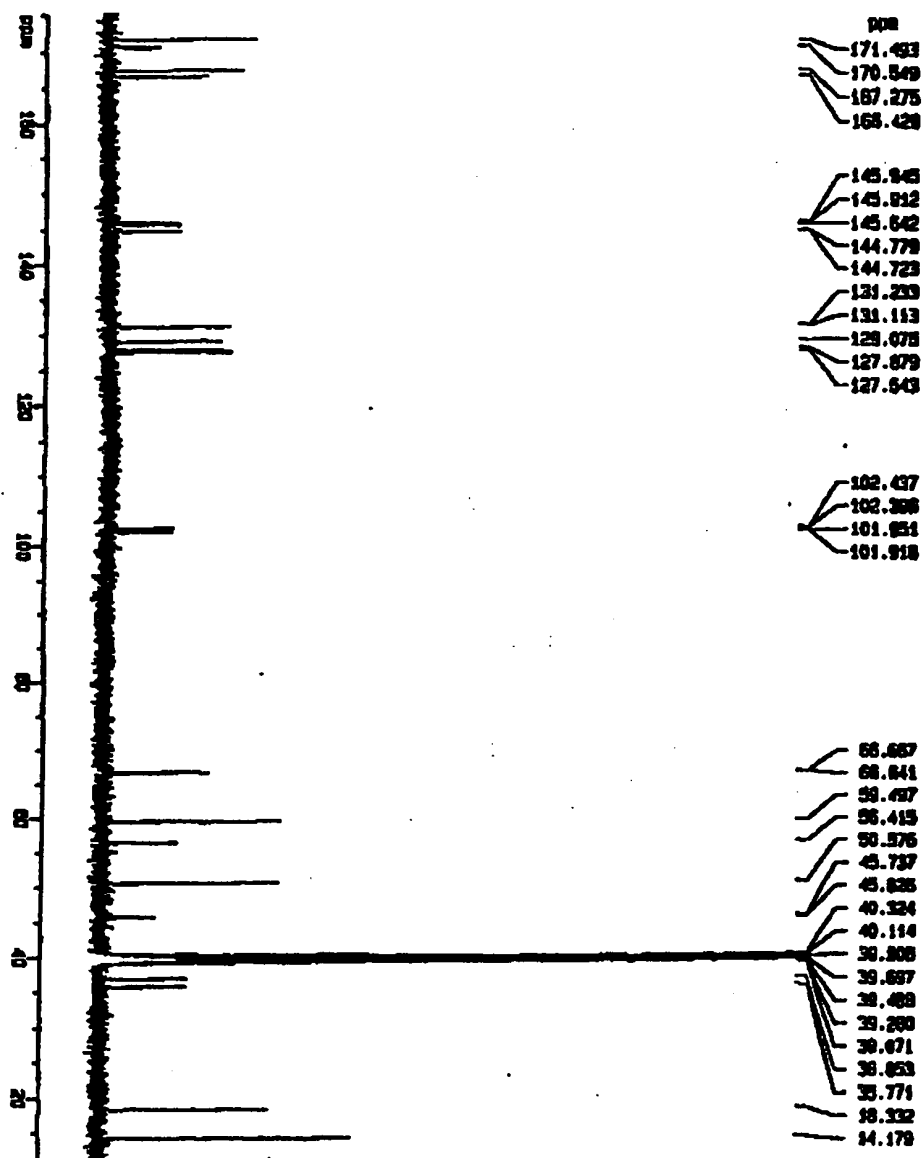


Fig. 3

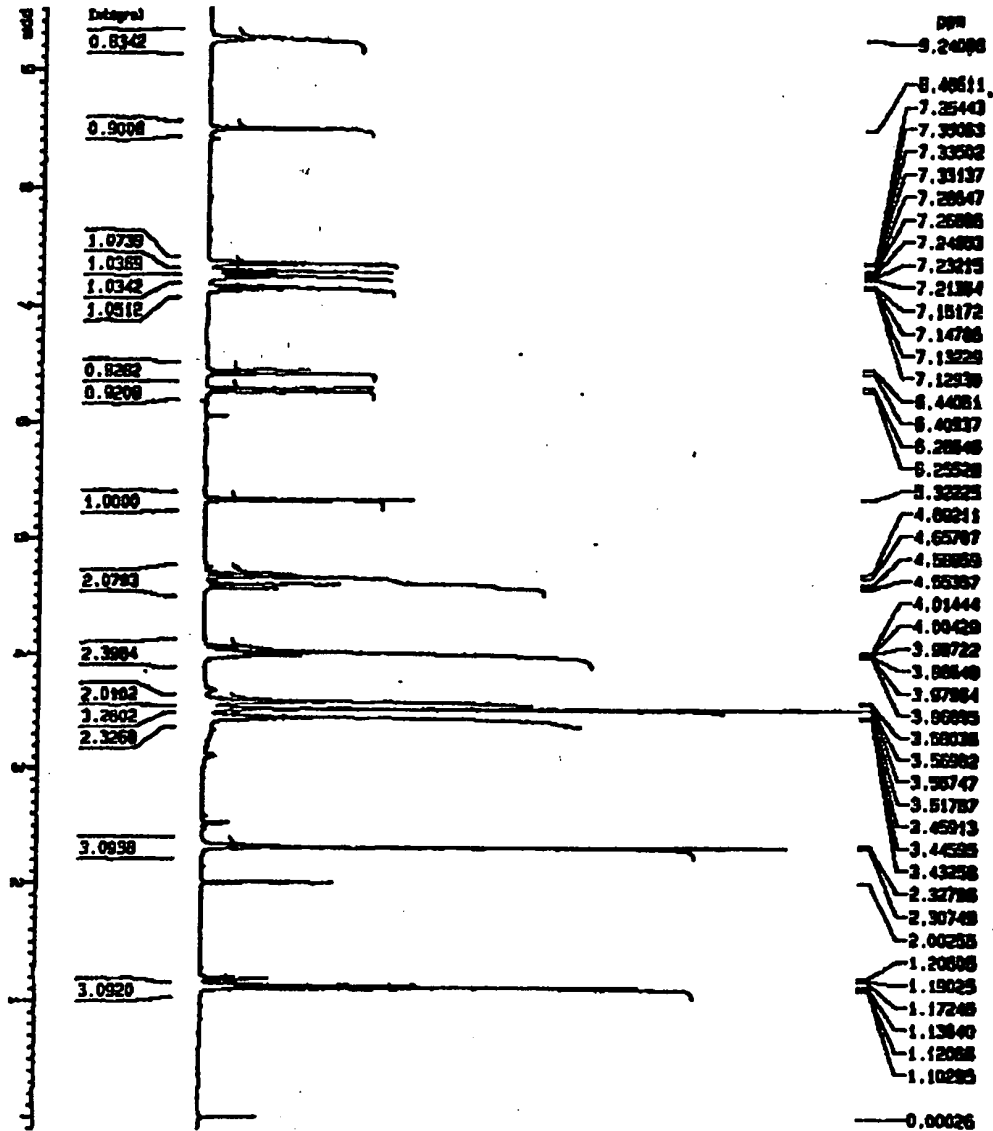


Fig. 4



österreichisches
patentamt

Blatt: 5

AT 007 871 U1 2005-10-17

Int. Cl. 7:

C07D 211/90

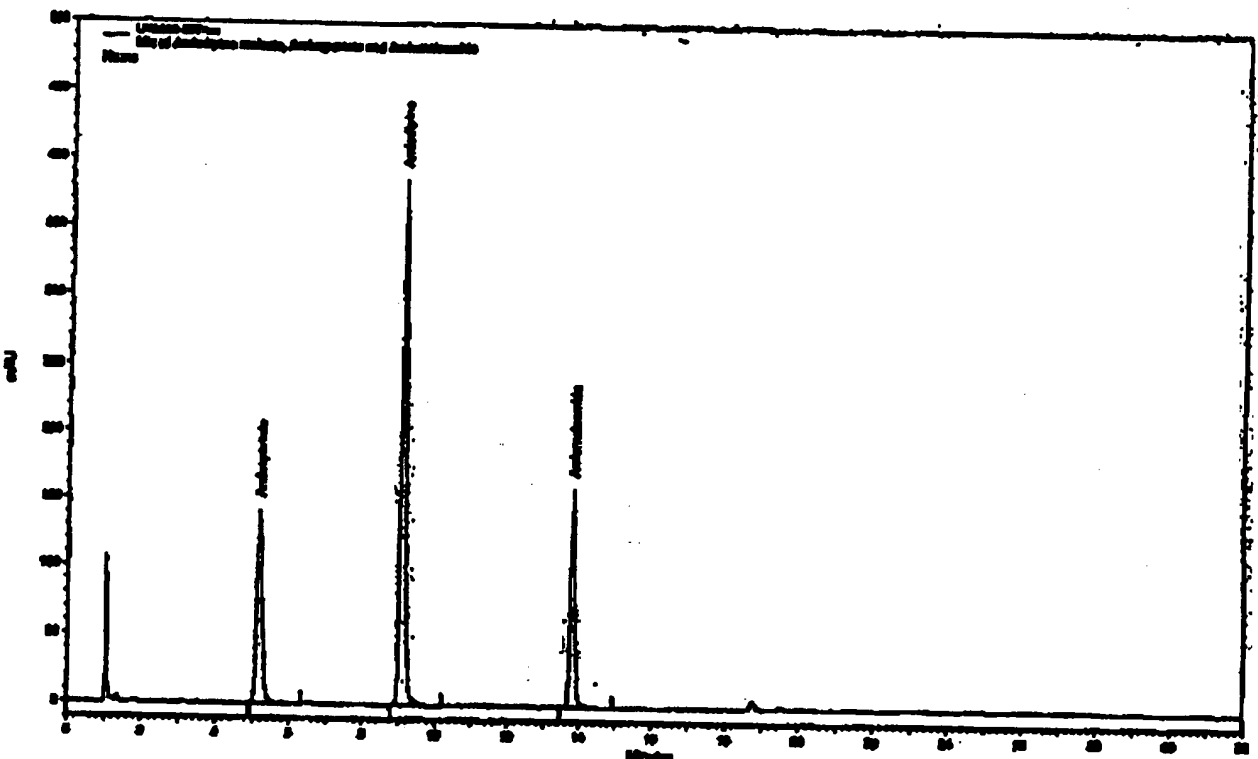


Fig. 5

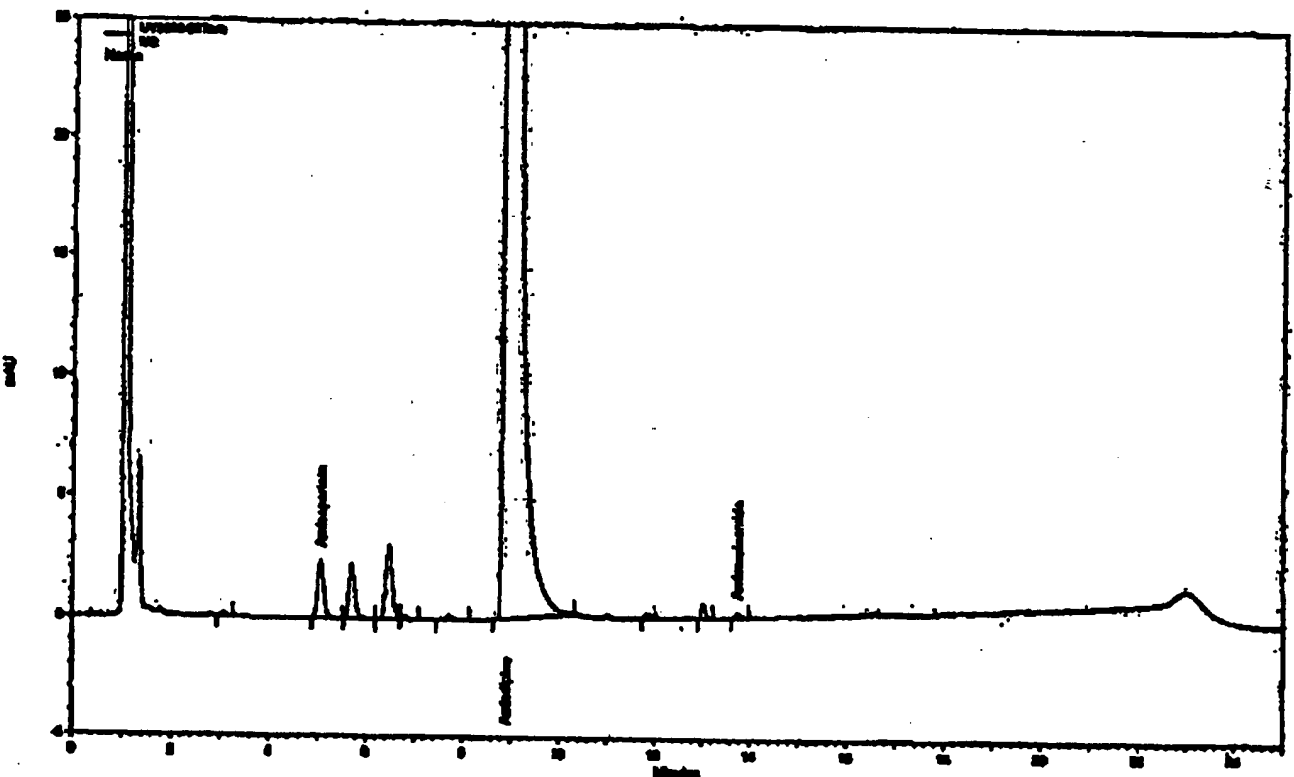


Fig. 6

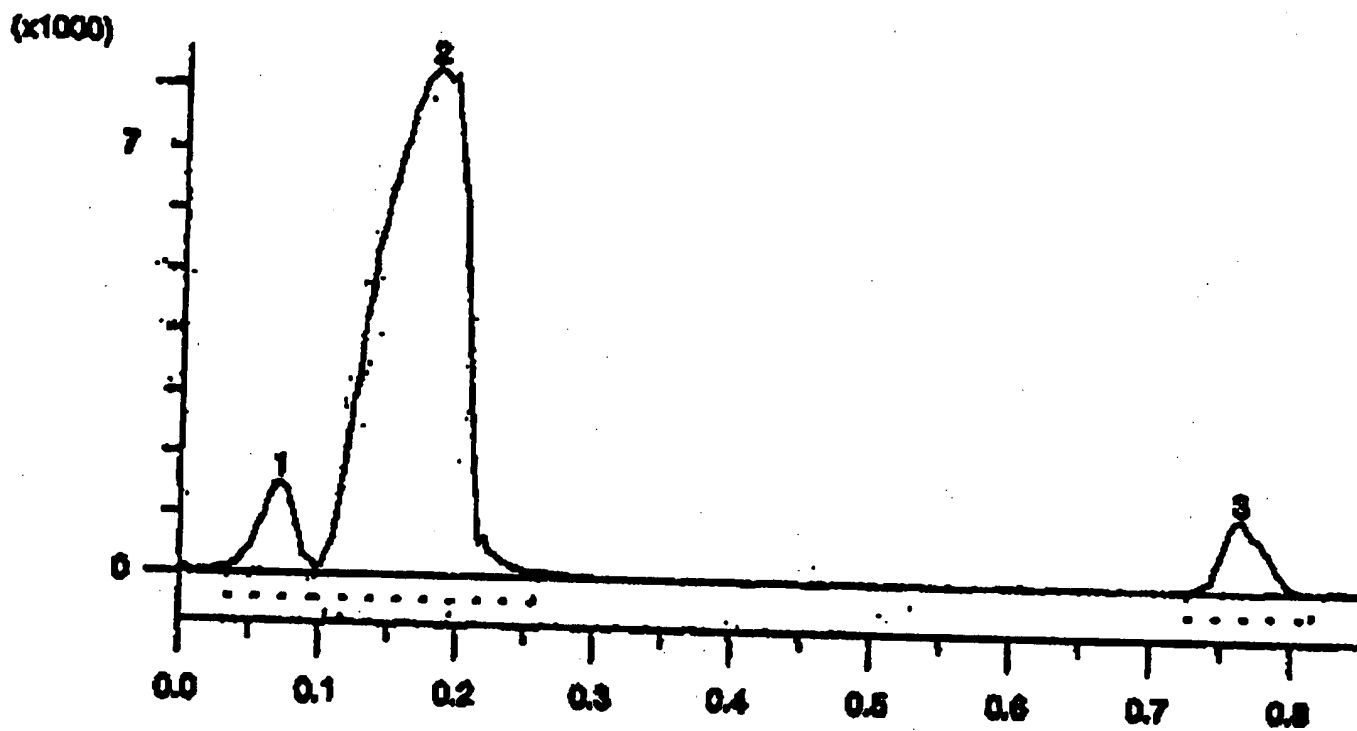


Fig. 7

Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß IPC7: C 07 D 211/90		AT 007 871 U1
Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation): C 07 D		
Konsultierte Online-Datenbank: STN Karlsruhe: CAS: CA		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den am 10.05.2004 eingereichten Ansprüchen 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 ¹⁾	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 21. Mai 2005 (21.05.2005)]. Retrieved from: CA Database, STN-International, Karlsruhe (DE), CA Accession no. 130:124968 <i>siehe CA abstract</i>	1-13
A	EP 0 244 944 A2 (Pfizer LTD) 11. November 1987 (11.11.1987) <i>das ganze Dokument</i>	1-13
¹⁾ Kategorien der angeführten Dokumente: X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: der Anmeldungsgegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden. Y Veröffentlichung von Bedeutung: der Anmeldungsgegenstand 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. A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert. P Dokument, das von besonderer Bedeutung ist (Kategorie X), jedoch nach dem Prioritätstag der Anmeldung veröffentlicht wurde. E Dokument, aus dem ein älteres Recht hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen). & Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist.		
Datum der Beendigung der Recherche: 21. März 2005		☐ Fortsetzung siehe Folgeblatt Prüfer(in): Dr. SLABY

Hinweis

Die **Kategorien** der angeführten Dokumente dienen in Anlehnung an die Kategorien der Entgegenhaltungen bei EP- bzw. PCT-Recherchenberichten zur raschen Einordnung des ermittelten Stands der Technik.

Bitte beachten Sie, dass nach der **Zahlung der Veröffentlichungsgebühr** die **Registrierung** erfolgt und die **Gebrauchsmusterschrift veröffentlicht** wird, auch wenn die Neuheit bzw. der erforderlich erfinderische Schritt nicht gegeben ist. In diesen Fällen könnte ein allfälliger **Antrag auf Nichtigklärung** (kann von jedermann gestellt werden) zur Löschung des Gebrauchsmusters führen.

Auf das Risiko allfälliger im Fall eines Nichtigkeitsantrags anfallender Prozesskosten (die gemäß §§ 40 bis 55 Zivilprozessordnung zugesprochen werden) darf hingewiesen werden.

Ländercodes von Patentschriften (Auswahl, weitere Codes siehe **WIPO ST. 3.**)

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);

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 Patentamts betriebenen Kopierstelle können **Kopien** der ermittelten Veröffentlichungen bestellt werden.

Über den Link <http://at.espacenet.com/> können **Patentveröffentlichungen am Internet** kostenlos eingesehen werden.

Auf Bestellung gibt die von der Teilrechtsfähigkeit des Österreichischen Patentamts betriebene Serviceabteilung gegen Entgelt zu den im Recherchenbericht genannten Patentdokumenten allfällige veröffentlichte "**Patentfamilien**" (den selben Gegenstand betreffende Patentveröffentlichungen in anderen Ländern, die über eine gemeinsame Prioritätsanmeldung zusammenhängen) bekannt.

Auskünfte und Bestellmöglichkeit zu den Serviceleistungen erhalten Sie unter der Telefonnummer
+43 1 534 24 - 738 bzw. 739

Schriftliche Bestellungen:

per FAX Nr. + 43 1 534 24 – 737 oder per E-Mail an Kopierstelle@patentamt.at