



(11) FREMLÆGGELSESSKRIFT 142724

DANMARK

(51) Int. Cl.³ C 07 C 177/00



(21) Ansøgning nr. 4009/72 (22) Indleveret den 14. aug. 1972

(24) Løbedag 28. maj 1971

(44) Ansøgningen fremlagt og fremlæggelsesskriftet offentliggjort den 5. jan. 1981

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(30) Prioritet begæret fra den 1. jun. 1970, 42458, US

(71) THE UPJOHN COMPANY, 301 Henrietta Street, Kalamazoo, Michigan 49001, US.

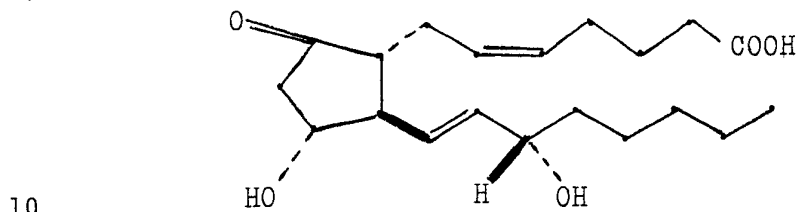
(72) Opfinder: Walter Morozowich, 1402 Banbury Road, Kalamazoo, Michigan, US.

(74) Fuldmægtig under sagens behandling:
Ingeniørfirmaet Budde, Schou & Co.

(54) Fremgangsmåde til fremstilling af fritstrømmende krystaller af tris(hydroxymethyl)aminomethan-saltet af prostaglandin E2.

0

Den foreliggende opfindelse angår en særlig fremgangs-
 måde til fremstilling af fritstrømmende krystaller af det
 kendte tris(hydroxymethyl)aminomethan-salt af prostaglandin
 E₂ (i det følgende betegnet PGE₂), der kan gengives ved form-
 5 len



10

Forbindelsen PGE₂ er anvendelig til forskellige farma-
 kologiske og medicinske formål, f.eks. til fremkaldelse af
 veer og abort og til menstruationsregulering. Til disse formål
 er den sædvanlige indgivningsmåde injektion eller infusion,
 15 men der kan også til vefremkaldelse anvendes den orale vej, me-
 dens den vaginale og intrauterine vej også kan anvendes til
 abort og menstruationsregulering.

Imidlertid er det vanskeligt at opberede PGE₂ til pro-
 dukter, der er velegnede til farmakologisk og medicinsk anven-
 20 delse, idet det f.eks. ikke opløses let i vand eller i de iso-
 toniske opløsninger til intravenøs injektion eller infusion,
 hvorfor der sædvanligvis kræves en forbehandling af prostaglan-
 dinen med et med vand blandbart organisk opløsningsmiddel og/el-
 ler en vandig opløsning af en base som f.eks. natriumhydroxid
 25 eller natriumcarbonat, før der kan dannes en isotonisk vandig
 opløsning af passende koncentration. Desuden er PGE₂ nok et
 krystallinsk stof, men det er voksagtigt og opløses kun lang-
 somt i vandige base-opløsninger.

PGE₂ er en carboxylsyre og danner salte, når det oplø-
 30 ses i vandige base-opløsninger som et indledende trin ved de
 kendte opberedningsmetoder, se i øvrigt engelsk patentskrift
 nr. 1.040.544, hvor der er foreslået farmakologisk og medi-
 cinsk anvendelse af PGE₂ i form af farmakologisk acceptable
 salte, og hvor der blandt de farmakologisk acceptable
 35 kationer er nævnt kationer af alkali- og jordalkalimetaller,
 ammoniak og forskellige aminer, deriblandt tris(hydroxymethyl)-
 aminomethan.

0

Det vil forstås, at det ville være en væsentlig fordel, hvis man rådede over forbindelsen PGE_2 i form af stabile, krystallinske, højtsmeltende salte, som var let opløselige i vand eller i de isotoniske opløsninger, der anvendes til intravenøs indgivning. Sådanne salte ville også være anvendelige til præparater beregnet til andre indgivningsveje, f.eks. oralt, buccalt, intravaginalt og intrauterint. Desuden ville det være en væsentlig fordel, hvis man var i stand til at omkrystallisere sådanne salte til frembringelse af produkter af den ønskede renhedsgrad.

I fransk patentskrift nr. 1.489.478 er det angivet ganske generelt, at aminsalte (og deriblandt også tris(hydroxymethyl)aminomethan-saltet) af prostansyrederivater kan fremstilles ved opløsning af prostansyrederivatet i et opløsningsmiddel af moderat eller svag polaritet og tilsætning af i det mindste en ækvivalent mængde af aminen, men der er intet nærmere oplyst om fremstillingens udførelse eller om karakteren af saltene. Faktum er imidlertid, at det kun var muligt at opnå saltene i form af olieagtige og vanskeligt håndterlige produkter.

Man har nu efter omfattende eksperimentering fundet frem til, at man under ganske særlige betingelser og under anvendelse af netop tris(hydroxymethyl)aminomethan som salt-danner kan opnå et fritstrømmende, krystallinsk salt med alle de fordele, som en sådan produktform frembyder. Disse særlige betingelser omfatter bl.a. anvendelse af et polært, flydende opløsningsmiddel som fælles opløsningsmiddel for prostaglandinen og tris(hydroxymethyl)aminomethanen, udfældning af saltet ved hjælp af en mindre polær, flydende organisk forbindelse, fortrinsvis acetonitril, og anvendelse af ganske bestemte reaktionstemperaturer, hvilket altsammen er foranstaltninger, som ikke er nævnt eller antydnet i de ovenfornævnte patentskrifter.

I overensstemmelse hermed er fremgangsmåden ifølge opfindelsen til fremstilling af fritstrømmende krystaller af tris(hydroxymethyl)aminomethan-saltet af PGE_2 ejendommelig ved,

0 at man (1) ved en temperatur på under 40°C sammenblender en koncentreret opløsning af ækvivalente mængder af PGE₂ og tris(hydroxymethyl)aminomethan i et med vand blandbart, polært, ved normale betingelser flydende, organisk opløsningsmiddel
5 med en mindre polær, ved normale betingelser flydende, organisk forbindelse, der er blandbar med det polære opløsningsmiddel, i en mængde, der er tilstrækkelig til at bevirke udfældelse af i det mindste en del af det ønskede salt i området mellem -20 og 40°C, (2) holder den fremkomne blanding i dette temperatur-
10 område, indtil der er dannet krystaller, og (3) samler de dannede krystaller. De herved opnåede, fritstrømmende saltkrystaller er ikke-hygroskopiske, tørrer let, er fri for vand- og andre solvat-molekyler og er omkrystalliserbare. Endvidere opløses de hurtigt og fuldstændigt i vand og i de sædvanlige
15 isotoniske opløsninger, der anvendes til intravenøs injektion eller infusion, og de er anvendelige til de samme farmakologiske og medicinske formål som PGE₂.

Med betegnelsen "en ved normale betingelser flydende forbindelse" menes en forbindelse, der er flydende ved 40°C og
20 1 atm (760 mm Hg). Eksempler på egnede, med vand blandbare, polære, normalt flydende, organiske opløsningsmidler er dimethylsulfoxid, dimethylformamid, tetramethylurinstof, sulfolan (tetramethylsulfon eller tetrahydrothiophen-1,1-dioxid) og methanol, hvoraf dimethylsulfoxid især er at foretrække.

25 Eksempler på egnede, mindre polære, normalt flydende, organiske forbindelser, der er blandbare med den polære forbindelse, er acetonitril, propionitril, butyronitril, dichlormethan, methylpropylketon, diethylether og chloroform, hvoraf nitrilerne og især acetonitril er at foretrække.

30 En kombination af polær og mindre polær forbindelse, der er at foretrække, er dimethylsulfoxid og acetonitril.

Til udførelse af fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvendes der som nævnt ækvivalente mængder af prostaglandinen og tris(hydroxymethyl)aminomethanen. Den sidstnævnte er ret uopløselig i den mindre polære forbindelse, og et overskud vil derfor udfældes sammen med og forurene det ønskede salt. Anvendelse
35

0

af mindre end en ækvivalent mængde af aminen vil resultere i, at en del af prostaglandinen forbliver i opløsningen.

Saltdannelsen sker, når PGE_2 og tris(hydroxymethyl)-aminomethanen sammenblandes til dannelse af en opløsning i
5 det med vand blandbare, polære, normalt flydende, organiske opløsningsmiddel, og dette salt bringes derefter til at udfældes i form af de ønskede fritstrømmende krystaller ved, at man tilsætter tilstrækkeligt af den mindre polære forbindelse og holder den fremkomne blanding i det nævnte temperaturområde
10 de mellem -20 og 40°C , indtil krystallerne er dannet. Det polære opløsningsmiddel skal anvendes i den mindst mulige mængde til at danne en opløsning af PGE_2 og tris(hydroxymethyl)-aminomethanen samt det fremkomne salt, og da denne mængde er meget lille, kan det være fordelagtigt, at der også er en lille
15 le mængde til stede af den mindre polære forbindelse på det tidspunkt, hvor PGE_2 og tris(hydroxymethyl)aminomethanen først sammenblandes, og at der derefter tilsættes tilstrækkeligt yderligere af den mindre polære forbindelse til bevirkelse af den ønskede udfældning.

20 Det har vist sig fordelagtigt at udføre processen første gang i en glasbeholder, hvis indvendige vægge skrubes kraftigt med en glasstang, idet krystaldannelsen herved fremskyndes. Ved derpå følgende udførelser kan der tilsættes nogle få krystaller fra den første krystallisation som kim på det
25 samme punkt i processen til fremskynding af krystaldannelsen, og anvendelse af en glasbeholder er ikke nødvendig.

Den mængde af den mindre polære forbindelse, der er nødvendig til bevirkelse af en udfældning af det fritstrømmende krystallinske salt, vil variere noget efter den anvendte
30 kombination af det specielle polære opløsningsmiddel og den mindre polære forbindelse, men fremkomst af uklarhed under tilsetning af den mindre polære forbindelse er et anvendeligt tegn på, at der er tilsat den nødvendige mindstemængde af den mindre polære forbindelse. Sædvanligvis kræves der yderligere
35 af den mindre polære forbindelse ud over denne mængde, men den nøjagtige samlede mængde, der skal anvendes kan let be-

0

stemmes af en sagkyndig. Anvendelse af en for stor mængde af den mindre polære forbindelse vil resultere i et olieagtigt salt i stedet for i et krystallinsk salt.

Selv om der ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen sæd-
5 vanligvis opnås tilfredsstillende resultater, når hele processen udføres i området mellem 20 og 30°C, er det ofte fordelagtigt at foretage en køling i det andet trin af processen til under 20°C, fortrinsvis ned til 0°C eller endog ned til -20°C, og derefter at tillade den kølede blandings tem-
10 peratur at stige langsomt til 20-30°C. Ved at gøre dette mindst én gang og i nogle tilfælde to eller flere gange fremskynder man krystallisationen.

Når krystaldannelsen er fuldstændig, samles krystallerne på sædvanlig måde, f.eks. ved filtrering eller centrifugering, og kan vaskes med en lille mængde acetonitril. Det meste
15 af acetonitrilen fjernes enten under formindsket tryk eller i en strøm af varm nitrogen eller argon, og krystallerne formales derefter til finere partikler, om ønsket, og tørringen afsluttes ved opvarmning til 50-75°C.

Når der ønskes en omkrystallisation af tris(hydroxymethyl)aminomethan-saltet af PGE₂, sker dette fortrinsvis ved,
20 at man opløser saltet i den mindst mulige mængde af en af de ovenfor nævnte polære væsker, fortrinsvis dimethylsulfoxid, og derefter tilsætter tilstrækkeligt af en af de ovenfor nævnte mindre polære væsker, fortrinsvis acetonitril, til fremkaldelse af en udfældning af det fritstrømmende krystallinske salt
25 i området mellem -20 og 40°C. Derefter samles, vaskes og tørres krystallerne som beskrevet ovenfor.

Selv om det ikke er essentielt, er det fordelagtigt at
30 udføre alle de ovenfor beskrevne operationer under den mindst mulige udsættelse for oxygen, hvilket opnås ved at erstatte luften med en indifferent gas som f.eks. nitrogen eller argon.

De følgende eksempler skal tjene til nærmere illustration af fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

35

0

Eksempel 1

En opløsning af 36,5 mg tris(hydroxymethyl)aminomethan i 0,4 ml dimethylsulfoxid sættes til en opløsning af 116 mg PGE₂ i 1 ml acetonitril ved 25°C, og derpå sættes 3 ml acetonitril gradvis til denne blanding under omrøring. På dette tidspunkt er blandingen svagt uklar, og der tilsættes derefter 15 ml yderligere acetonitril under omrøring, og blandingen afkøles til 0°C, hvorefter dens temperatur får lov at stige langsomt til 25°C. De fnuggede, fritstrømmende krystaller, der dannes, skilles fra blandingen ved trykfiltrering (nitrogen), vaskes på filteret med acetonitril og tørres derefter ved, at der ledes nitrogen gennem filterkagen ved 25°C i 15 minutter. Tørringen afsluttes under formindsket tryk ved 30°C i 24 timer, hvorved der fås 80 mg af tris(hydroxymethyl)aminomethan-saltet af PGE₂ i form af fritstrømmende krystaller. R_f 0,3 - TLC - ETOAc ≠ 3% HOAc.

På samme måde, men ved anvendelse af henholdsvis dimethylformamid, methanol og tetramethylurinstof i stedet for dimethylsulfoxidet fås der det samme fritstrømmende krystallinske salt.

Ligeledes fås der på denne måde ved anvendelse af henholdsvis methylpropylketon, diethylether, chloroform, dichloromethan og butyronitril i stedet for acetonitrilen det samme fritstrømmende krystallinske salt.

25

Eksempel 2

Til en opløsning af 140,8 mg PGE₂ i 0,8 ml dimethylamid sættes under omrøring 48,4 mg tris(hydroxymethyl)aminomethan, hvorefter der gradvis under omrøring ved 25°C tilsættes 150 ml acetonitril. Blandingen holdes derefter på 25°C i 24 timer under nitrogen. De dannede krystaller skilles fra, vaskes og tørres som beskrevet i eksempel 1, og der fås herved 50 mg af tris(hydroxymethyl)aminomethan-saltet af PGE₂ i fritstrømmende krystallinsk form. Smp. 94,2-95°C.

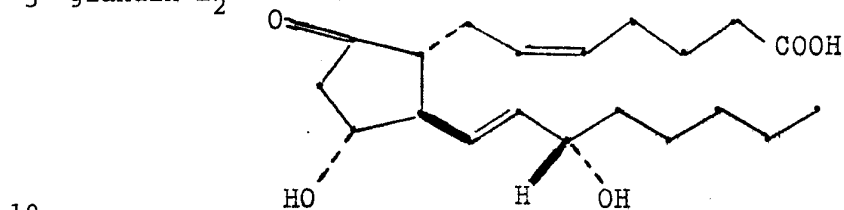
På samme måde, men ved anvendelse af sulfolan i stedet for dimethylformamidet fås der det samme fritstrømmende krystallinske salt.

35

0

P a t e n t k r a v .

Fremgangsmåde til fremstilling af fritstrømmende krystaller af tris(hydroxymethyl)aminomethan-saltet af prostaglandin E₂ af formelen



15 k e n d e t e g n e t ved, at man (1) ved en temperatur på under ca. 40°C sammenblender en koncentreret opløsning af ækvivalente mængder af prostaglandin E₂ og tris(hydroxymethyl)aminomethan i et med vand blandbart polært, ved normale betingelser flydende, organisk opløsningsmiddel med en mindre polær, ved normale betingelser flydende, organisk forbindelse, der er blandbar med det polære opløsningsmiddel, i en mængde, der er tilstrækkelig til at bevirke udfældelse af i det mindste en del af det ønskede salt i området mellem -20 og 40°C, (2) holder

20 den fremkomne blanding i dette temperaturområde, indtil der er dannet krystaller, og (3) samler de dannede krystaller.

Fremdragne publikationer:

Britisk patent nr. 1040544
Fransk patent nr. 1489478.