(19) CONFEDERAZIONE SVIZZERA
ISTITUTO FEDERALE DELLA PROPRIETÀ INTELLETTUALE

(11) CH 721 078 B1

(51) Int. Cl.: *C07J 1/00 (2006.01)*

Brevetto d'invenzione rilasciato per la Svizzera ed il Liechtenstein
Trattato sui brevetti, del 22 dicembre 1978, fra la Svizzera ed il Liechtenstein

(12) FASCICOLO DEL BREVETTO

(21) Numero della domanda: 000356/2023

(22) Data di deposito: 25.09.2020

(30) Priorità: 27.09.2019
IT 102019000017414
22.11.2019
IT 102019000021879

(24) Brevetto rilasciato: 14.03.2025

(45) Fascicolo del brevetto pubblicato: 14.03.2025

(62) Domanda divisa da: 000332/2022

(73) Titolare/Titolari:
INDUSTRIALE CHIMICA S.R.L.,
Via Abbondio Sangiorgio 12
20145 Milano (IT)

(72) Inventore/Inventori:
Andrea Fasana, 22020 Nesso (IT)
Roberto Lenna, 20010 S. Giorgio su Legnano (IT)
Riccardo Lucentini, 21040 Cislago (IT)

(74) Mandatario:
R.A. Egli & Co, Patentanwälte, Baarerstrasse 14
6300 Zug (CH)

(54) Processo per la preparazione di (15alpha,16alpha,17beta)-estra-1,3,5(10)-triene-3,15,16,17-tetrolo momoidrato (estetrolo monoidrato)

(57) La presente invenzione si riferisce ad un processo per la preparazione di (15α,16α,17β)-estra-1,3,5(10)-triene-3,15,16,17-tetrolo monoidrato, anche noto come Estetrolo monoidrato.

Descrizione

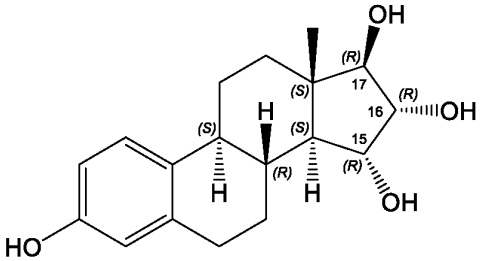
CAMPO DELL'INVENZIONE

[0001] La presente invenzione si riferisce al settore dei processi per la sintesi di principi attivi per uso farmaceutico, ed in particolare ad un processo per la preparazione su scala industriale del composto (15α,16α,17β)-estra-1,3,5(10)-triene-3,15,16,17-tetrolo, anche noto come Estetrolo, in forma monoidrata.

STATO DELL'ARTE

[0002] Il composto Estetrolo è un principio attivo dotato di attività farmacologica che lo rende utile per la „Hormone Replacement Therapy (HRT), nella contraccezione femminile, oppure nella terapia di disfunzioni autoimmuni legate a squilibri ormonali.

[0003] La formula di struttura dell'Estetrolo è riportata di seguito:



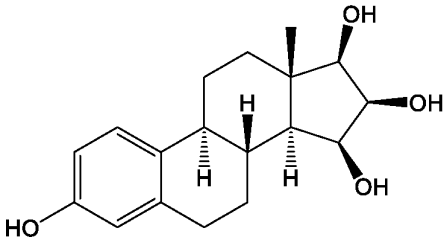
Estetrolo

[0004] Ognuna delle posizioni 15, 16 e 17 dello scheletro steroideo (evidenziate nella formula sopra riportata) porta un ossidrile che, come indicato nella formula di struttura, ha una disposizione spaziale definita.

[0005] L'Estetrolo è un prodotto naturale isolato da urine umane ed è noto da anni; è stato descritto nell'articolo „Synthesis of epimeric 15-hydroxyestriols, new and potential metabolites of estradiol“, J. Fishman et al., JOC Vol. 33, N° 8, agosto 1968, pag. 3133-3135 (composto la della figura a pag. 3133).

[0006] Per quanto riguarda l'ottenimento dell'Estetrolo, il processo ricavabile da questo articolo non è di applicabilità industriale a causa della bassa resa di processo.

[0007] Recentemente sono state pubblicate varie domande di brevetto relative a nuovi processi di sintesi dell'Estetrolo ma nessuno di questi evita la formazione dell'isomero 15β,16β,17β, avente la formula di struttura riportata sotto, da cui l'Estetrolo deve essere purificato per poter essere impiegato in preparazioni farmaceutiche.



Isomero 15β,16β,17β

[0008] Per esempio, la domanda WO 2004/041839 A2 (pag. 6, righe 5-10) descrive un processo di ottenimento dell'Estetrolo la cui purezza può raggiungere il 99%, con la somma delle singole impurezze non superiore all'1%. L'esempio 11 a pag. 28 descrive un Estetrolo con purezza HPLC del 99,1% (HPLC-Ms) che però non fornisce indicazioni sul contenuto delle singole impurezze; il limite accettato dalle linee guida internazionali per sostanze farmaceutiche è di 0,1% per quelle incognite e 0,15% per quelle identificate.

[0009] Il contenuto di impurezze in un principio attivo (API) è un requisito essenziale e non derogabile per consentirne l'uso in preparazioni farmaceutiche ed è una caratteristica fondamentale anche per definire un processo applicabile industrialmente. Qualsiasi processo, indipendentemente dalla resa, che fornisca un API con un contenuto di impurezze che non rispetta i limiti dalle linee guida internazionali non è un processo utile industrialmente in quanto l'API, risultato del processo, non è utilizzabile.

[0010] Domande successive relativa alla produzione di Estetrolo sono, ad esempio, WO 2012/164096 A1, WO 2013/050553 A1 e WO 2015/040051 A1.

[0011] In WO 2015/040051 A1 il rapporto Estetrolo/isomero 15β,16β,17β è pari a 99:1 negli esempi 10 e 15, e pari a 98:2 negli esempi 11 e 17. In questi esempi però non è fornita nessuna indicazione per abbassare il contenuto di isomero 15β,16β,17β ad almeno lo 0,15%. Anche la purificazione cromatografica (esempio 15) non consente di ottenere questo risultato. In questo documento si rileva (pag. 9, righe 5-15) che i processi descritti nella tecnica nota discussa (rappresentata nel caso di questo documento dalle domande WO 2012/164096 A1 e WO 2013/050553 A1) forniscono quantità ancora superiori e inaccettabili di isomero 15β,16β,17β.

[0012] Appare quindi chiaro che nessuno dei processi descritti fornisce una soluzione alla limitazione della formazione dell'isomero 15β,16β,17β o un metodo di purificazione dell'Estetrolo da detto isomero.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

[0013] Scopo della presente invenzione è fornire un processo per la preparazione di Estetrolo monoidrato.

BREVE DESCRIZIONE DELLE FIGURE

[0014]

La Figura 1 mostra il cromatogramma HPLC dell'Estetrolo monoidrato ottenibile con il processo dell'invenzione.

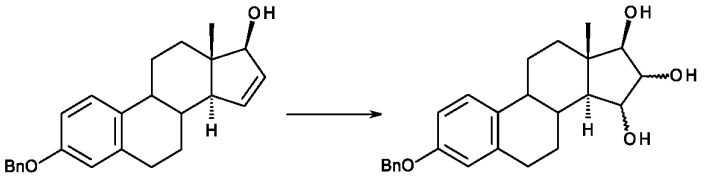
La Figura 2 mostra il diffrattogramma DRX dell'Estetrolo monoidrato ottenibile con il processo dell'invenzione e dell'Estetrolo anidro.

La Figura 3 mostra il cromatogramma DSC dell'Estetrolo monoidrato ottenibile con il processo dell'invenzione.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

[0015] Estetrolo anidro di purezza adatta per gli scopi dell'invenzione può essere prodotto con un processo di sintesi comprendente i passaggi da A) a D) descritti di seguito.

[0016] Il passaggio A) consiste nell'ossidazione del composto (17β)-3-(fenilmetossi)-estra-1,3,5(10),15-tetraen-17-olo (intermedio 1) a dare il composto (17β)-3-(fenilmetossi)-estra-1,3,5(10)-triene-15,16,17-triolo (intermedio 2):



Intermedio 1 *Intermedio 2*

in cui Bn = benzile, e in cui la configurazione degli atomi di carbonio 15 e 16 dello scheletro steroideo dell'intermedio 2 non è fissata.

[0017] Il substrato di partenza di questo passaggio, intermedio 1, può essere ottenuto come descritto nella domanda WO 2004/041839 A2.

[0018] Come ossidante nella reazione dello step A) si può impiegare tetrossido di osmio (OsO_4) supportato su polimero o, preferibilmente, tal quale. Come co-ossidante si impiega un'ammina organica N-ossido, come ad esempio trimetilammina N-ossido diidrata.

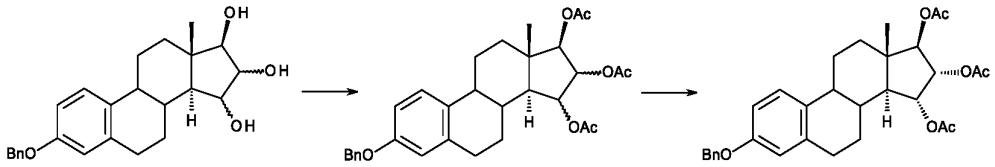
[0019] Poiché l'ossidazione con OsO_4 non è stereoselettiva, l'intermedio 2 viene ottenuto come una miscela di isomeri con configurazione 15α,16α,17β e 15β,16β,17β; l'isomero 15α,16α,17β viene prodotto in quantità preponderante con una quantità minoritaria di isomero 15β,16β,17β.

[0020] La reazione è condotta in un solvente inerte ai derivati dell'osmio, come tetraidrofurano (THF), ad una temperatura compresa tra 35 e 60 °C, preferibilmente tra 45 e 55 °C, e per un tempo di almeno 12 ore, preferibilmente di almeno 16 ore.

[0021] Il prodotto di reazione (intermedio 2) dopo work up viene trattato con un prodotto sequestratore di impurezze metalliche in soluzione per eliminare il contenuto residuo di osmio. Questi prodotti, ben noti in chimica, sono generalmente a base di un gel di silice funzionalizzato e comunemente indicati nel settore col termine scavenger, che verrà usato nel resto del testo e nelle rivendicazioni. Preferibilmente lo scavenger è QuadraSil® MP

[0022] Il trattamento con scavenger può essere effettuato e può essere ripetuto in ogni passaggio del processo; preferibilmente viene eseguito nel passaggio A).

[0023] Il passaggio B) consiste nell'acetilazione dell'intermedio 2 a dare il composto (15α,16α,17β)-3-(fenilmetossi)-estra-1,3,5(10)-triene-15,16,17-triolo triacetato (intermedio 3) passando attraverso l'intermedio 3' in cui la configurazione degli atomi di carbonio 15 e 16 dello scheletro steroideo non è fissata:



Intermedio 2 *Intermedio 3'* *Intermedio 3*

[0024] L'intermedio 2, il substrato di partenza della reazione di acetilazione, può essere caricato in reazione come solido oppure, preferibilmente, si usa direttamente la soluzione ottenuta nel passaggio A).

[0025] Il risultato diretto della reazione di acetilazione dell'intermedio 2 è l'intermedio 3', che consiste in una miscela di isomeri 15α,16α,17β e 15β,16β,17β; questa miscela viene poi separata con una procedura di purificazione che costituisce la seconda parte del passaggio B).

[0026] L'acetilazione esauriente del passaggio B) viene condotta in un solvente compatibile con le condizioni della reazione stessa, come ad esempio acetato di isopropile, acetato d'etile, tetraidrofurano, piridina o toluene. Il solvente preferito è piridina.

[0027] Per la reazione si impiega anidride acetica come reagente, in presenza di una base inorganica od organica, di un catalizzatore ed eventualmente di quantità catalitiche di anidride trifluoroacetica. Preferibilmente come base organica si impiega piridina, e come catalizzatore 4-dimetilamminopiridina.

[0028] La temperatura di reazione è compresa tra 5 e 40 °C, preferibilmente tra 20 e 30 °C; il tempo di reazione è di almeno 3 ore, preferibilmente di almeno 4 ore.

[0029] La purificazione dell'intermedio 3', con eliminazione dell'isomero 15β,16β,17β, è ottenuta con la sequenza di operazioni descritta di seguito:

B.1) un trattamento termico che consiste nel riflussare l'intermedio 3' da purificare in un alcol alifatico C1-C6 lineare o ramificato per almeno 10 minuti, preferibilmente per almeno 15 minuti;

B.2) mettere in agitazione la sospensione (slurry) dell'intermedio 3' da purificare in un alcol alifatico C1-C6 lineare o ramificato ad una temperatura compresa tra 15 e 35 °C, preferibilmente tra 20 e 30 °C e ancor più preferibilmente tra 23 e 27 °C per un periodo compreso tra 2 e 24 ore, preferibilmente per un periodo compreso tra 3 e 18 ore, ancor più preferibilmente per un periodo compreso tra 4 e 16 ore;

B.3) recuperare l'intermedio 3 purificato per filtrazione.

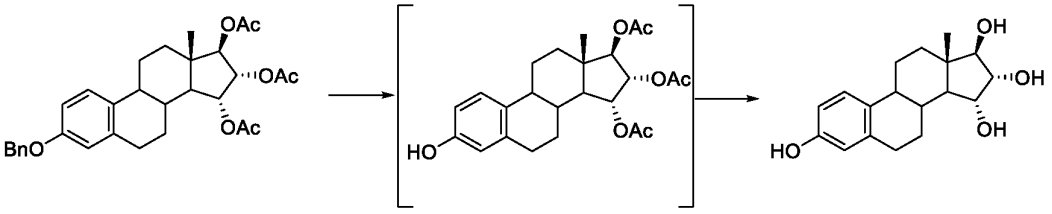
[0030] L'alcol del trattamento termico (operazione B.1) e dello slurry (operazione B.2) possono essere uguali o differenti; preferibilmente si impiega lo stesso alcol, che preferibilmente è metanolo.

[0031] L'intermedio 3 da purificare può essere recuperato per filtrazione dopo l'operazione B.1) e risospeso in solvente per ottenere lo slurry dell'operazione B.2), oppure si può mantenere lo stesso solvente operando sempre nello stesso contenitore.

[0032] Il trattamento di purificazione dell'intermedio 3 può essere ripetuto il numero di volte necessario al raggiungimento del livello di purezza desiderato in funzione del contenuto iniziale dell'isomero 15β,16β,17β. Preferibilmente il procedimento di purificazione viene ripetuto almeno due volte.

[0033] Gli inventori hanno svolto una serie di prove sperimentali ripetendo tre volte la sequenza di operazioni B.1, B.2 e B.3 su campioni di intermedio 3' contenenti il 5% di isomero 15β,16β,17β; nella prima di queste prove l'operazione B.2 di agitazione dello slurry è stata effettuata tre volte per 16 h, in una seconda prova tre volte per 8 h, e in una terza prova tre volte per 4 h; queste prove hanno confermato che la procedura comprendente le operazioni B.1 + B.2 + B.3, ha portato in tutti i casi ad un prodotto finale in cui il contenuto di isomero 15β,16β,17β era inferiore a 0,10%, e in alcuni casi inferiore a 0,05%.

[0034] Il passaggio C) consiste di due reazioni consecutive, una prima debenzilazione tramite idrogenazione catalitica dell'intermedio 3 a formare l'intermedio 4, e di seguito l'idrolisi degli acetati presenti nell'intermedio 4, secondo lo schema sotto riportato:



Intermedio 3 *Intermedio 4* *Estetrolo*

[0035] L'ordine in cui vengono eseguite è quello indicato sopra. Si esegue prima la debenzilazione catalitica e poi l'idrolisi degli acetati; l'inversione dell'ordine delle reazioni rende difficoltoso il completamento della debenzilazione.

[0036] L'intermedio 4 ottenuto dalla prima reazione può essere isolato e quindi messo a reagire di nuovo, ma preferibilmente si mantiene tale intermedio disciolto nel solvente della prima reazione.

[0037] Le condizioni di debenzilazione ed idrolisi sono quelle note ai chimici esperti in chimica organica.

[0038] La prima reazione, debenzilazione, consiste in una idrogenazione con idrogeno gassoso in presenza di un catalizzatore adatto. Condizioni preferite per questa reazione sono:

- uso di palladio su carbone (Pd/C) al 5% o preferibilmente al 10% in peso come catalizzatore;
- pressione di idrogeno compresa tra 1 e 6 bar, preferibilmente tra 2 e 4 bar, ancor più preferibilmente tra 2,5 e 3,5 bar;
- un alcol alifatico C1-C6, lineare o ramificato, preferibilmente metanolo, come solvente di reazione;
- tempo di reazione di almeno 16 ore, preferibilmente di almeno 20 ore;
- temperatura di idrogenazione compresa tra 30 e 60 °C, preferibilmente tra 35 e 55 °C, ancor più preferibilmente tra 40 e 50 °C.

[0039] La seconda reazione consiste nell'idrolisi degli acetati dell'intermedio 4, tramite l'impiego di basi. Condizioni preferite per questa reazione sono:

- uso di carbonato di sodio, carbonato di potassio o carbonato di litio come base; preferibilmente si impiega carbonato di potassio;
- tempo di reazione di almeno 2 ore, preferibilmente di almeno 4 ore;
- temperatura di reazione compresa tra 10 e 40 °C, preferibilmente tra 15 e 35 °C, ancor più preferibilmente tra 20 e 30 °C.

[0040] La soluzione contenente il prodotto di reazione (Estetrolo) può essere trattata con uno scavenger a base di gel di silice funzionalizzato per eliminare il contenuto residuo di palladio. Preferibilmente lo scavenger è QuadraSil® MP

[0041] Infine, il passaggio D) consiste nella purificazione dell'Estetrolo ottenuto nel passaggio C).

[0042] Questo passaggio viene realizzato per cristallizzazione caldo-freddo, secondo modalità note agli esperti in chimica organica.

[0043] I solventi impiegati sono tetraidrofurano (THF), metanolo ed acetonitrile.

[0044] Anche in questa operazione l'Estetrolo può essere trattato con uno scavenger a base di gel di silice funzionalizzato, preferibilmente QuadraSil® MP, per eliminare il contenuto residuo di palladio. Il solvente in cui impiegare lo scavenger è scelto tra tetraidrofurano (THF), metanolo ed acetonitrile; preferibilmente si impiega tetraidrofurano.

[0045] Alla fine di questa operazione si ottiene Estetrolo puro in forma „anidra“, cioè con un contenuto di acqua residua minimo, con rapporto stechiometrico API/acqua largamente inferiore a 1.

[0046] L'invenzione è diretta alla preparazione dell'Estetrolo in forma monoidrata, che si realizza con la seguente sequenza di operazioni:

E.1) sciogliere l'Estetrolo puro in forma anidra in un solvente organico miscibile con acqua come acetone, metanolo, etanolo, isopropanolo, tetraidrofurano, dimetilformammide o dimetilacetammide fino a soluzione completa; il solvente preferito è metanolo;

E.2) miscelare la soluzione del punto E.1) con acqua, preferibilmente acqua pura; preferibilmente questa operazione viene effettuata gocciolando l'acqua sulla soluzione organica di Estetrolo;

E.3) eliminare il solvente organico per distillazione, preferibilmente a pressione ridotta;

E.4) mantenere la sospensione sotto agitazione, preferibilmente per almeno 15 minuti ad una temperatura compresa tra 5 e 20 °C;

E.5) filtrare e lavare il solido; preferibilmente il solido filtrato è lavato sul filtro con acqua;

E.6) seccando il solido per almeno 5 ore ad almeno 40 °C e pressione ridotta, preferibilmente per almeno 6 ore ad almeno 45 °C e pressione ridotta.

[0047] L'invenzione verrà ulteriormente illustrata dai seguenti esempi.

STRUMENTI, METODI E CONDIZIONI SPERIMENTALI

NMR:

[0048] Spettrometro NMR JEOL 400 YH (400 MHz); Software JEOL Delta v5.1.1;
Spettri registrati in DMSO-d_6.

MS:

[0049] Strumento: DSQ-trace Thermofisher
Introduzione campione - direct exposure probe (dep)
Ionizzazione chimica (CI) con metano
Pressione metano: 2.2 psi
Temperatura sorgente: 200 °C

HPLC:

[0050] Sistema cromatografico Agilent modello 1260 Infinity; Detector UV MODELLO G1315C DAD VL+

Metodo HPLC 1:

[0051] Condizioni cromatografiche:

- Colonna: Supelco ascentis express C18 250x4.6 mm, 5µm
- Flusso: 1 ml/min
- Rivelatore: UV 280 nm
- Volume iniezione: 5 µl
- Temperatura: 25 °C
- Fase mobile A: acqua
- Fase mobile B: acetonitrile

TEMPO (min)	FASE MOBILE A (v/v)	FASE MOBILE B (v/v)
0	80	20
0-5	80	20
5-45	20	80
45-55	20	80

TEMPO (min)	FASE MOBILE A (v/v)	FASE MOBILE B (v/v)
55-56	80	20
56-66	80	20

Metodo HPLC 2:

[0052] Condizioni cromatografiche:

- Colonna: Supelco discovery C18 150×4.6 mm, 5µm
- Flusso: 1 ml/min
- Rivelatore: UV 280 nm
- Volume iniezione: 25 µl
- Temperatura: 22 °C
- Fase mobile A: Soluzione 4,29 g/L di CH_3COONH_4 in acqua/metanolo/acetonitrile 90/6/4
- Fase mobile B: Soluzione 38,6 g/L di CH_3COONH_4 in acqua/metanolo/acetonitrile 10/54/36

TEMPO (min)	FASE MOBILE A (v/v)	FASE MOBILE B (v/v)
0	70	30
0-5	70	30
5-15	10	90
15-30	10	90
30-31	70	30
31-40	70	30

TLC:

[0053] MERCK: TLC gel di silice 60 F_{254} Aluminum sheets 20 × 20 cm, cod. 1.0554.0001.

Rivelatore TLC:

[0054] Cerio fosfomolibdato: Si sciolgono 25 g di acido fosfomolibdico e 10 g di cerio (IV) solfato in 600 mL di H_2O. Si aggiungono 60 mL di H_2SO_4 98% e si porta a 1 L con H_2O. La lastrina viene impregnata di soluzione quindi scaldata fino a rilevazione dei prodotti.

XPRD:

[0055] L'analisi XRPD è stata effettuata utilizzando un diffrattometro per polveri Bruker D2 Phaser (2nd edition) operante in geometria Bragg-Brentano, equipaggiato con multicampionatore rotante e detector lineare di tipo SSD (Lynxeye). La sorgente di raggi X è un tubo radiogeno con anodo in rame operato a 30 KV e 10 mA. Per l'analisi si utilizza la radiazione X avente lunghezza d'onda corrispondente alla $K\alpha$ media del rame (λ= 1,54184 Å). La radiazione $K\beta$ viene filtrata tramite un apposito filtro in nichel.

[0056] Sono stati utilizzati portacampioni di tipo „zero background“ in silicio con superficie piana su cui il campione è stato steso formando uno strato sottile. Durante l'analisi il portacampioni viene fatto ruotare ad una velocità di 60 rpm.

[0057] La scansione viene effettuata nell'intervallo 4-40° 20 con incrementi di 0.016° 20 e un tempo di acquisizione di 1,0 s per ciascun incremento.

[0058] I diffrattogrammi sono stati elaborati utilizzando il software Bruker DIFFRAC.EVA.

DSC:

[0059] L'analisi DSC è stata condotta in un'atmosfera inerte (azoto) utilizzando un calorimetro a scansione differenziale Perkin Elmer Diamond DSC. I campioni sono stati preparati pesando la polvere all'interno di crogioli in alluminio da 40 µL, che sono quindi stati sigillati prima dell'analisi. L'analisi è stata condotta nell'intervallo di temperatura 25-250 °C utilizzando una velocità di riscaldamento di 10 °C/min.

NOTE

[0060] L'acqua impiegata nelle descrizioni sperimentali è da intendersi acqua pura se non differentemente indicato.

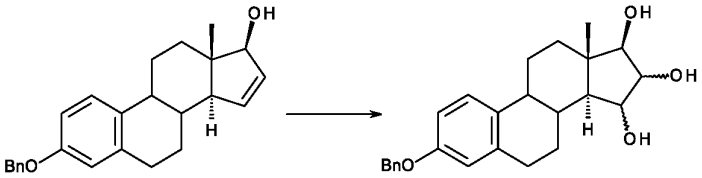
[0061] I solventi organici impiegati nelle descrizioni sperimentali sono da intendersi di grado „tecnico“ se non differentemente indicato.

[0062] I reattivi ed i catalizzatori impiegati nelle descrizioni sperimentali sono da intendersi di qualità commerciale se non differentemente indicato.

[0063] Il prodotto QuadraSil® MP è disponibile presso Johnson Matthey.

ESEMPIO 1

[0064] Questo esempio si riferisce al passaggio A) descritto sopra, da intermedio 1 a intermedio 2.



Intermedio 1 *Intermedio 2*

[0065] In un pallone sotto azoto, sono stati caricati 32,4 g di intermedio 1 (89,87 mmol, 1 eq) e 356 mL di tetraidrofurano. Alla soluzione sono stati aggiunti, nell'ordine, 0,324 g di osmio tetrossido (1,28 mmol, 1% in peso) e 17,9 g di trimetilammina N-ossido diidrato (161,26 mmol, 1,8 eq). Il sistema è stato scaldato a 50 °C e mantenuto in agitazione per 16 ore.

[0066] La reazione è stata controllata tramite analisi TLC nelle seguenti condizioni: lastrina TLC: gel di silice su allumina; substrato di partenza (intermedio 1) sciolto in diclorometano; miscela di reazione diluita in diclorometano; eluente: acetato d'etile (EtOAc); rivelatore: cerio fosfomolibdato.

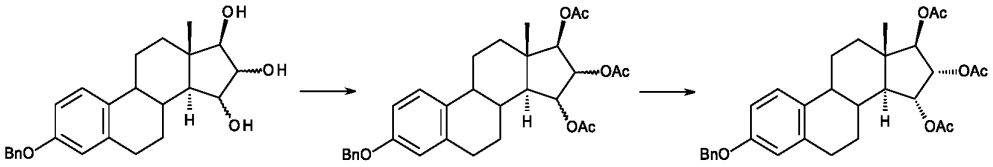
[0067] A reazione terminata la soluzione è stata raffreddata a 25 °C e si è gocciolata una soluzione di sodio metabisolfito (18,3 g) in acqua (162 mL). Il solvente è stato concentrato a pressione ridotta e si sono aggiunti al residuo 193 mL di acetato di isopropile e 290 mL di acido cloridrico 1M.

[0068] Al sistema bifasico sono stati aggiunti 1,6 g di carbone e 1,6 g di dicalite ed è stato mantenuto in agitazione a 25 °C per 15 minuti. La sospensione è stata filtrata prima su strato di dicalite e successivamente su filtro Millipore (0,22 µm). Si sono separate le fasi e la fase acquosa è stata estratta con 160 mL di acetato di isopropile. Alla fase organica sono stati aggiunti 1,12 g di QuadraSil® MP e il sistema è stato mantenuto in agitazione a 25 °C per 16 ore. La sospensione è stata filtrata su filtro Millipore (0,22 µm) lavando con 32 mL di acetato di isopropile.

[0069] La soluzione così ottenuta è stata impiegata tal quale nella reazione successiva.

ESEMPIO 2

[0070] Questo esempio si riferisce al passaggio B) descritto sopra.



Intermedio 2 *Intermedio 3'* *Intermedio 3*

[0071] La soluzione di intermedio 2 ottenuta come descritto nell'esempio precedente è stata concentrata a pressione ridotta fino ad un volume residuo di 50 mL.

[0072] Sono stati aggiunti 228 ml di piridina e l'acetato di isopropile residuo è stato distillato a pressione ridotta. Alla soluzione sono stati aggiunti 0,877 g di 4-dimetilamminopiridina (7,19 mmol, 0,08 eq) e successivamente si sono gocciolati

29,45 mL di anidride acetica (312 mmol, 3,47 eq) mantenendo la temperatura sotto i 30 °C. La soluzione è stata mantenuta in agitazione a 25 °C per 4 ore.

[0073] La reazione è stata controllata tramite analisi TLC, nelle seguenti condizioni: lastrina TLC: gel di silice su allumina; substrato di partenza (intermedio 2) disciolto in diclorometano; miscela di reazione spenta in HCl 1M ed estratta con EtOAc, è stata deposta la fase organica; eluente: EtOAc; rivelatore: cerio fosfomolibdato.

[0074] La miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta fino a volume residuo di 85 mL e si sono aggiunti 250 mL di acetato di isopropile e 125 mL di acqua. Al sistema bifasico sono stati aggiunti 55 mL di acido cloridrico 37%, mantenendo la temperatura sotto i 30 °C (pH finale della fase acquosa = 1).

[0075] Le fasi sono state separate e la fase organica è stata lavata due volte con soluzione satura di bicarbonato di sodio (2 × 90 mL) e successivamente con soluzione satura di cloruro di sodio (90 mL).

[0076] La fase organica è stata concentrata a pressione ridotta fino a residuo oleoso. Sono stati aggiunti 100 mL di metanolo e la miscela è stata concentrata nuovamente a pressione ridotta fino a pasta. Sono stati aggiunti 210 mL di metanolo e il sistema è stato scaldato a riflusso per 15 minuti. La sospensione è stata raffreddata a 25 °C e mantenuta in agitazione per 16 ore. Il solido è stato filtrato su büchner lavando con 35 mL metanolo. Il solido è stato essiccato a pressione ridotta a 45 °C per 3 ore.

[0077] Si sono ottenuti 28,4 g di solido che costituisce l'intermedio 3'; ad un'analisi HPLC (metodo 1) è stato rilevato un contenuto di isomero 15β,16β,17β = 1,6%.

[0078] Il solido (28 g) è stato disciolto con 168 mL di metanolo e il sistema è stato scaldato a riflusso per 15 minuti. La sospensione è stata raffreddata a 25 °C e mantenuta in agitazione per 16 ore. Il solido è stato filtrato su büchner lavando con 28 mL di metanolo, e poi seccato a pressione ridotta a 45 °C per 3 ore. Sono stati ottenuti 24 g di prodotto (HPLC, metodo 1): isomero 15β,16β,17β = 0,18%).

[0079] Il solido (23,5 g) è stato disciolto con 140 mL di metanolo e il sistema è stato scaldato a riflusso per 15 minuti. La sospensione è stata raffreddata a 25 °C e mantenuta in agitazione per 16 ore. Il solido è stato filtrato su büchner lavando con 23 mL di metanolo, e seccato sotto vuoto a 45 °C per 3 ore.

[0080] Si sono ottenuti 22,1 g di intermedio 3 (solido quasi bianco).

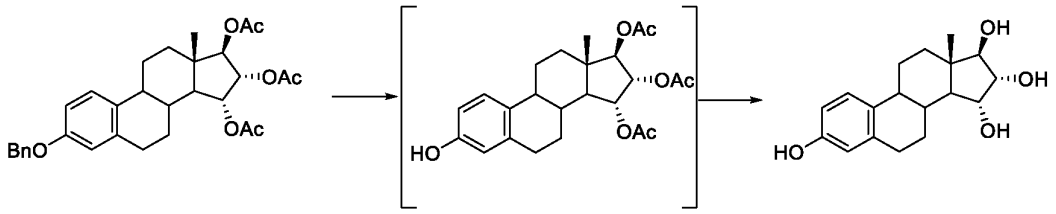
[0081] Purezza HPLC (metodo 1): 97,5%, isomero 15β,16β,17β = 0,07%.

[0082] ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ7,39-7,26 (m, 5H); 7,12 (d, 1H, J = 9,2 Hz); 6,72-6,67 (m, 2H); 5,22-5,18 (t, 1H, J = 7,4 Hz); 5,04-4,99 (m, 3H); 4,84 (d, 1H, J = 6,4 Hz); 2,74-2,70 (m, 2H); 2,25-2,20 (m, 2H); 1,99-1,97 (2s, 9H); 1,7-1,2 (m, 7H); 0,85 (s, 3H).

[0083] Massa (CI): m/z = 521 [M^++1].

ESEMPIO 3

[0084] Questo esempio si riferisce alla realizzazione del passaggio C) descritto sopra.



Intermedio 3 *Intermedio 4* *Estetrolo*

[0085] In un pallone sono stati caricati 21,6 g di intermedio 3 ottenuto come descritto nell'esempio precedente e 154 ml di tetraidrofurano.

[0086] Alla soluzione sono stati aggiunti 2,2 g di QuadraSil® MP e il sistema è stato mantenuto in agitazione a 25 °C per 16 ore. La sospensione è stata filtrata su filtro Millipore (0,22 µm) lavando con 22 ml di tetraidrofurano. Il solvente è stato concentrato a pressione ridotta fino a pasta.

[0087] Il residuo è stato disciolto con 650 ml di metanolo e caricato in un reattore di idrogenazione. Alla sospensione sono stati aggiunti 2,05 g di palladio 10% su carbone e si è effettuata l'idrogenazione a 45 °C e 3 bar per 22 ore.

[0088] La reazione è stata controllata tramite analisi TLC nelle seguenti condizioni: lastrina TLC: gel di silice su allumina; substrato di partenza (intermedio 3) disciolto in diclorometano; miscela di reazione diluita con metanolo; eluente: eptano/EtOAc 1/1; rivelatore: cerio fosfomolibdato. A reazione terminata il sistema è stato filtrato su strato di dicalite (30 g) lavando con metanolo (120 mL).

[0089] Il solvente è stato concentrato a pressione ridotta fino a volume residuo di 430 mL e si sono aggiunti 5,16 g di carbonato di potassio. La miscela è stata mantenuta in agitazione a 25 °C per 4 ore. La reazione è stata controllata tramite

analisi TLC nelle seguenti condizioni: lastrina TLC: gel di silice su allumina; prodotto intermedio 4 disciolto in diclorometano; miscela di reazione spenta in HCl 1M ed estratta con EtOAc, è stata deposta la fase organica; eluente: eptano/EtOAc 1/1; rivelatore: cerio fosfomolibdato. La sospensione è stata filtrata su filtro Millipore (0,22 µm) lavando con metanolo (20 mL).

[0090] La soluzione è stata concentrata a pressione ridotta fino a volume residuo di 54 mL, si sono aggiunti 162 mL di acqua e il metanolo residuo è stato eliminato a pressione ridotta.

[0091] La sospensione ottenuta è stata neutralizzata con 40 mL di acido cloridrico 1M e raffreddata a 10 °C mantenendo in agitazione per 30 minuti. Il solido è stato filtrato su büchner lavando con acqua ed essiccato a pressione ridotta a 50 °C per 6 ore.

[0092] Si sono ottenuti 13 g di Estetrolo grezzo (solido bianco).

ESEMPIO 4

[0093] Questo esempio si riferisce alla realizzazione del passaggio D) descritto sopra.

[0094] L'Estetrolo grezzo, ottenuto come descritto nell'esempio precedente, è stato disciolto in 91 mL di tetraidrofurano. Alla soluzione sono stati aggiunti 0,4 g di QuadraSil® MP e il sistema è stato mantenuto in agitazione a 25 °C per 16 ore. La sospensione è stata filtrata su Millipore (0,22 µm) lavando con 25 ml di tetraidrofurano. Il solvente è stato eliminato a pressione ridotta e sono stati aggiunti 130 mL di acetonitrile e 104 mL di metanolo. Il sistema è stato mantenuto in agitazione a 25 °C fino a dissoluzione completa.

[0095] La soluzione è stata concentrata a pressione ridotta fino a volume residuo di 130 mL e si sono aggiunti 104 mL di acetonitrile. Il sistema è stato concentrato nuovamente a pressione ridotta fino a volume residuo di 130 mL e si sono aggiunti 104 mL di acetonitrile.

[0096] Il sistema è stato concentrato a pressione ridotta fino a volume residuo di 130 mL e mantenuto in agitazione a 25 °C per 3 ore. La sospensione è stata raffreddata a 5 °C e mantenuta in agitazione per 1 ora. Il solido è stato filtrato su büchner lavando con acetonitrile freddo, ed essiccato a pressione ridotta per 3 ore a 45 °C.

[0097] Si sono ottenuti 10,5 g di prodotto, che è stato analizzato tramite HPLC (metodo HPLC 2). Il prodotto è risultato essere Estetrolo di purezza HPLC = 99,91%, con l'isomero 15β,16β,17β non rilevabile.

[0098] Un campione del prodotto è stato sottoposto ad analisi XPRD; il risultato della prova è il diffrattogramma riportato nella parte superiore di Fig. 2. Si riportano di seguito in tabella le posizioni (come valori di angolo 20 ± 0,2°) e le intensità relative dei principali picchi del diffrattogramma:

Angolo di diffrazione (2θ)	Intensità relativa (%)
7,49 ± 0,2	6,9
12,177 ± 0,2	4,4
12,324 ± 0,2	16,8
12,819 ± 0,2	100,0
13,769 ± 0,2	8,4
14,919 ± 0,2	7,7
17,408 ± 0,2	9,5
19,357 ± 0,2	4,7
19,618 ± 0,2	12,1
19,976 ± 0,2	25,3
20,57 ± 0,2	26,8
20,911 ± 0,2	55,4
21,909 ± 0,2	18,6
23,487 ± 0,2	5,6
24,41 ± 0,2	4,3

[0099] Un altro campione del peso di 8 mg del prodotto ottenuto è stato sottoposto a prova DSC mostrando una T di fusione di circa 244,5 °C.

ESEMPIO 5

[0100] Questo esempio si riferisce alla realizzazione del processo dell'invenzione.

[0101] 8 g di Estetrolo ottenuto nell'esempio 4 sono stati disciolti in 96 mL di metanolo e nella soluzione così preparata sono stati gocciolati 240 ml di acqua. Il sistema è stato concentrato a pressione ridotta fino a totale rimozione del metanolo. La sospensione è stata mantenuta in agitazione a 15 °C per 30 minuti e il solido filtrato su büchner lavando con 56 ml di acqua.

[0102] Il solido è stato seccato a pressione ridotta a 45 °C per 6 ore. Sono stati ottenuti 8,3 g di Estetrolo monoidrato (solido bianco), che è stato analizzato tramite HPLC (metodo 2). I risultati della prova sono mostrati in Fig. 1: il prodotto è risultato essere Estetrolo monoidrato di purezza HPLC = 100% (il picco a tempo di ritenzione di circa 18' non è attribuibile al prodotto ma alla eluizione cromatografica per sé).

[0103] Un campione del prodotto è stato sottoposto ad analisi XPRD; il risultato della prova è il diffrattogramma riportato nella parte inferiore di Fig. 2. Si riportano di seguito in tabella le posizioni (come valori di angolo 20 ± 0,2°) e le intensità relative dei principali picchi del diffrattogramma:

Angolo di diffrazione (2θ)	Intensità relativa (%)
6,846 ± 0,2	71,8
12,058 ± 0,2	8,3
12,533 ± 0,2	100,0
13,226 ± 0,2	4,9
13,586 ± 0,2	76,9
14,953 ± 0,2	6,1
17,501 ± 0,2	10,4
18,589 ± 0,2	6,8
20,845 ± 0,2	40,4
21,728 ± 0,2	5,0
23,109 ± 0,2	11,3
25,363 ± 0,2	6,7
30,698 ± 0,2	4,2
34,609 ± 0,2	7,6
38,320 ± 0,2	9,2

[0104] Un altro campione del peso di 3,4 mg del prodotto ottenuto è stato sottoposto a prova DSC; il risultato della prove è riportato in Fig. 3, che mostra un primo picco allargato con un massimo a circa 107,4 °C, attribuito alla disidratazione dell'Estetrolo monoidrato, ed un secondo picco a circa 244 °C, cioè ad una temperatura essenzialmente corrispondente alla temperatura di fusione dell'Estetrolo rilevata nella prova dell'Esempio 4.

[0105] ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 9,0 (s, 1H); 7,05 (d, 1H, J = 8,4 Hz); 6,51-6,48 (m, 1H); 6,27 (d, 1H, J = 2,4 Hz); 4,86-4,85 (d, 1H, J = 4,8 Hz); 4.61-4,59 (d, 1H, J = 5,6 Hz); 4,27-4,26 (d, 1H, J = 6 Hz); 3,72-3,66 (m, 2H); 3,26-3,24 (t, 1H, J = 5,6 Hz); 2,72-2,68 (m, 2H); 2,22-2,18 (m, 2H); 2,1-2,05 (m, 1H); 1,76-1,73 (d, 1H, 12Hz); 1,4-1,03 (m, 5H); 0,66 (s, 3H).

[0106] Massa (CI): m/z = 305 [M^++1].

Rivendicazioni

1. Processo per la trasformazione di Estetrolo in Estetrolo monoidrato secondo la seguente sequenza di operazioni:

E.1) sciogliere l'Estetrolo puro in forma anidra in un solvente organico miscibile con acqua come acetone, metanolo, etanolo, isopropanolo, tetraidrofurano, dimetilformammide o dimetilacetammide fino a soluzione completa;
E.2) miscelare la soluzione del punto E.1) con acqua;
E.3) eliminare il solvente organico per distillazione;
E.4) mantenere la sospensione in agitazione, preferibilmente per almeno 15 minuti ad una temperatura compresa tra 5 e 20 °C;
E.5) filtrare e lavare il solido;
E.6) seccare il solido per almeno 5 ore ad almeno 40 °C e pressione ridotta.

2. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui l'acqua usata nel passaggio E.2) è acqua pura.
3. Processo secondo una qualunque delle rivendicazioni 1 o 2, in cui il passaggio E.3) è condotto a pressione ridotta.

Fig. 1

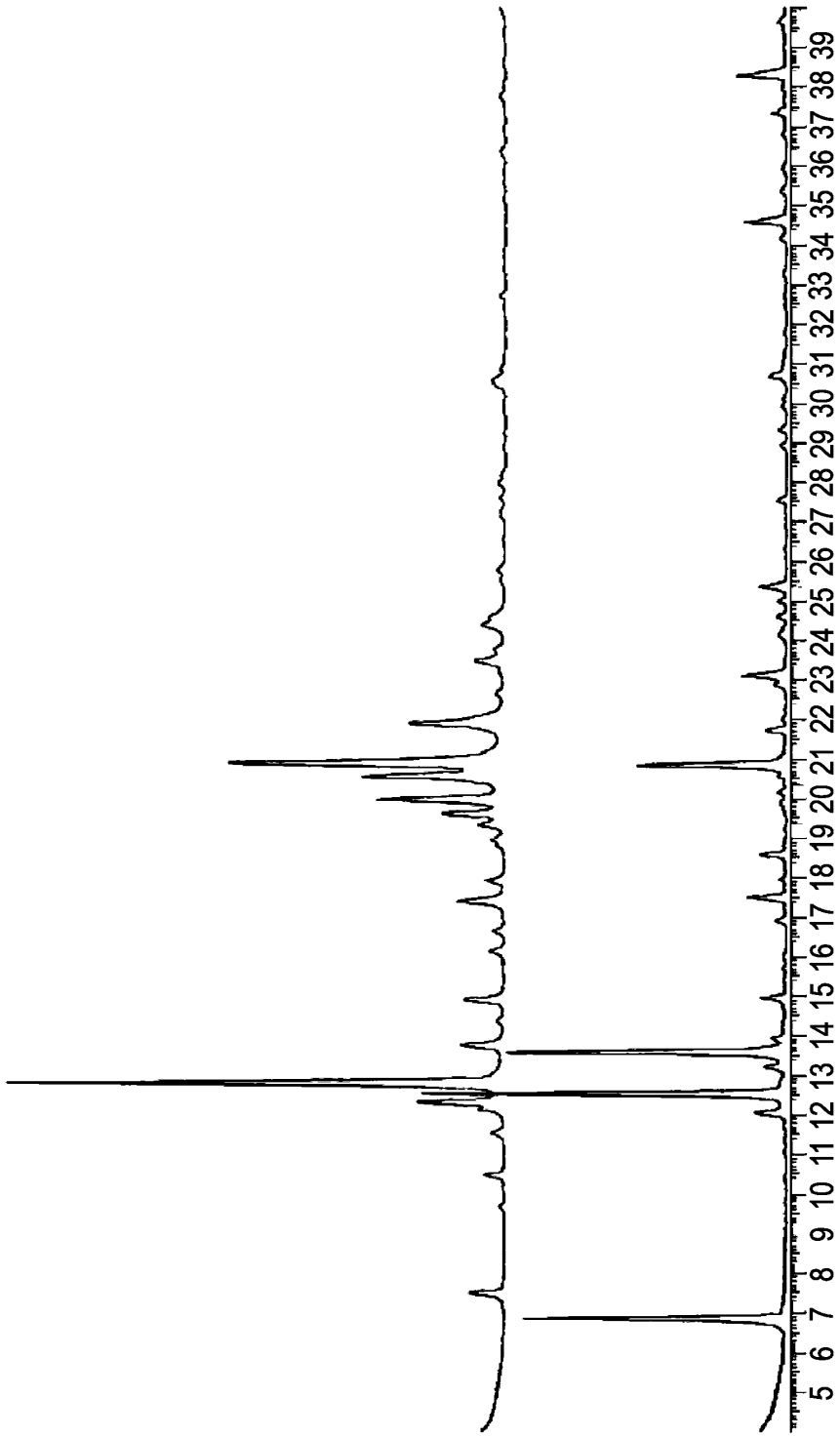

5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39

Fig. 2

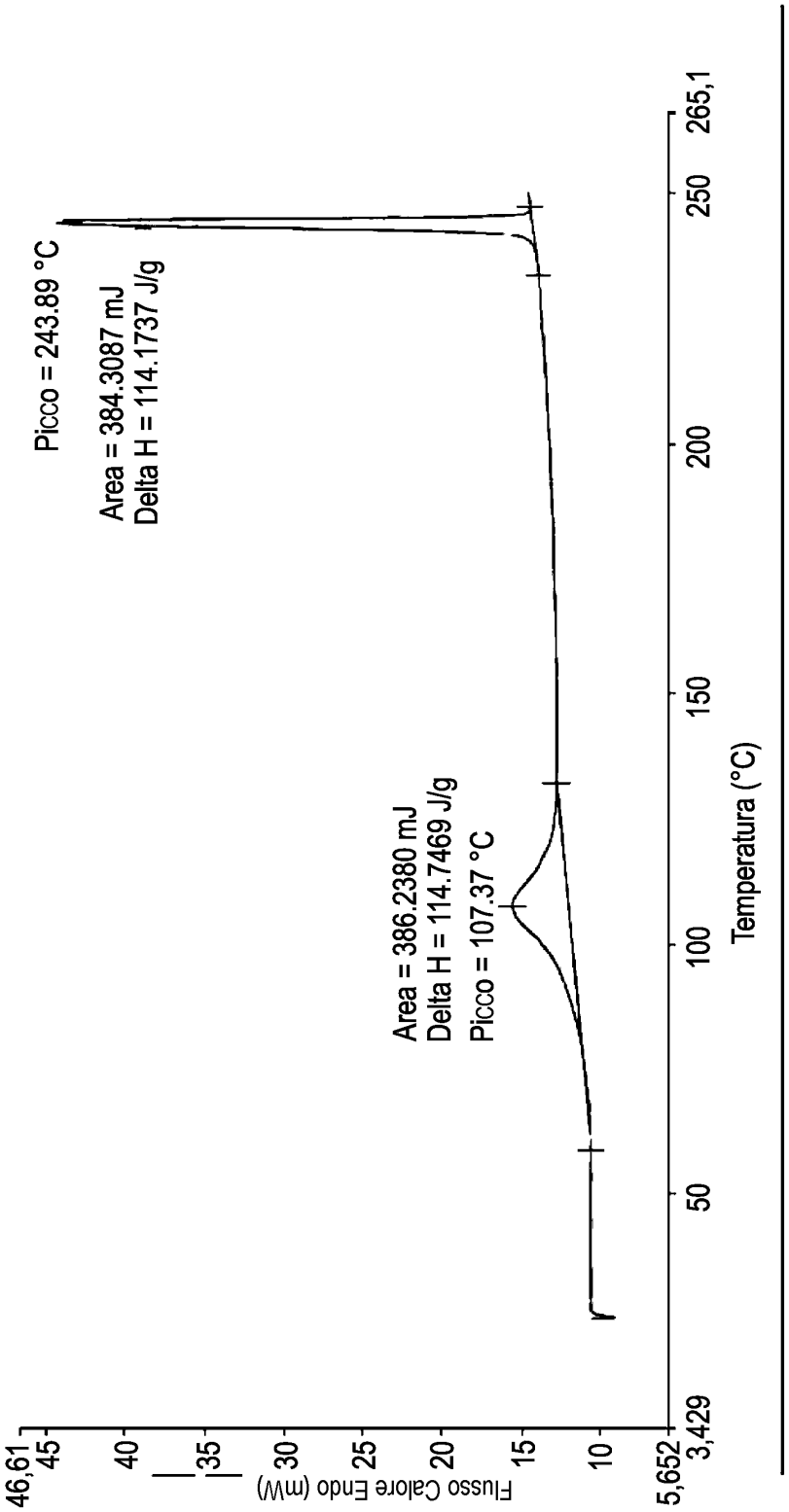

Picco = 243.89 °C
Area = 384.3087 mJ
Delta H = 114.1737 J/g
Area = 386.2380 mJ
Delta H = 114.7469 J/g
Picco = 107.37 °C
Flusso Calore Endo (mW)
46,61
45
40
35
30
25
20
15
10
5,652
3,429
50
100
150
200
250
265,1
Temperatura (°C)

Fig. 3