

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102022000012425
Data Deposito	13/06/2022
Data Pubblicazione	13/12/2023

Classifiche IPC

Titolo

PROCESSO PER LA PURIFICAZIONE DI 2-METOSSIESTRADIOLO DA 4-METOSSIESTRADIOLO ED INTERMEDIO DEL PROCESSO

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo:

“PROCESSO PER LA PURIFICAZIONE DI 2-METOSSIESTRADIOLO DA 4-METOSSIESTRADIOLO ED INTERMEDIO DEL PROCESSO”

5 CAMPO DELL'INVENZIONE

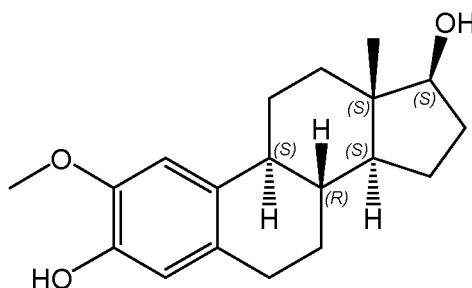
La presente invenzione si riferisce al settore dei processi per la preparazione di principi attivi per uso farmaceutico, ed in particolare, nel suo primo aspetto, ad un processo applicabile industrialmente per la purificazione di (17 β)-2-metossi-estra-1,3,5(10)-triene-3,17-diolo, composto di interesse per le sue note caratteristiche antiproliferative, da (17 β)-
10 4-metossi-estra-1,3,5(10)-triene-3,17-diolo; i due composti sono anche noti rispettivamente con i nomi 2-metossiestradiolo e 4-metossiestradiolo, nomi con i quali sono generalmente indicati nel settore e che verranno adottati nel seguito della descrizione.

In un suo secondo aspetto, l'invenzione si riferisce ad un intermedio di tale processo.

STATO DELL'ARTE

15 Il 2-metossiestradiolo è stato descritto nell'articolo “Demonstration of 2-methoxyestrone and of 2-methoxyestradiol in human pregnancy urine”, di V. A. Frandsen, Acta Endocrinologica (1959), vol. 31, pagg. 603-7.

La struttura del 2-metossiestradiolo è riportata di seguito:



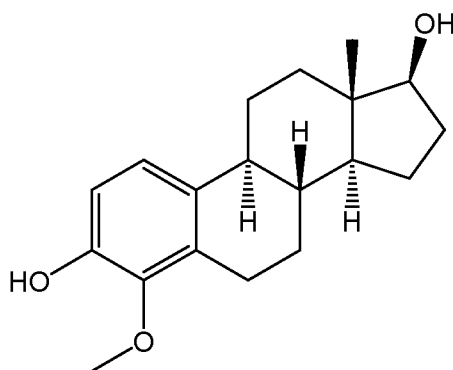
20 In letteratura il composto è identificato con il numero di CAS 362-07-2.

Il 2-metossiestradiolo è una molecola di interesse in particolare in quanto previene la formazione di nuovi vasi sanguigni di cui i tumori hanno bisogno per crescere (angiogenesi), e induce l'apoptosi in alcune linee cellulari tumorali, come riportato nell'articolo “The impact of endogenous estradiol metabolites on carcinogenesis”, T. H. Lippert *et al.*, Steroids

(2000), vol. 65, pagg. 357-69.

In letteratura sono descritti numerosi processi di sintesi del 2-metossiestradiolo; uno dei più recenti è riportato nell'articolo "Short synthesis of 2-methoxyestradiol and 2-hydroxyestradiol", P. S. Kiuru *et al.*, Steroids (2003), vol. 68, pagg. 373-375.

5 In questa sintesi viene prodotto un isomero del 2-metossiestradiolo, il 4-metossiestradiolo, che ha numero di CAS 26788-23-8 e la formula riportata di seguito:



Il 4-metossiestradiolo è seriamente indiziato di generare in vivo un metabolita cancerogeno e mutagenico, come riportato negli articoli "4-Methoxyestradiol-induced
10 oxidative injuries in human lung epithelial cells", Y. H. Cheng *et al.*, Toxicology and Applied Pharmacology (2007) vol. 220, pagg. 271–277, e "Estradiol 17 β and its metabolites stimulate cell proliferation and antagonize ascorbic acid-suppressed cell proliferation in human ovarian cancer cells", H.-H. Li, *et al.*, Reproductive Sciences (2014) vol. 21, pagg. 102-111.

15 La formazione di elevate quantità di 4-metossiestradiolo nel processo descritto nell'articolo citato di Steroids del 2003 è in accordo con quanto riportato nella parte sperimentale dell'articolo stesso: anche se non viene fornita nessuna indicazione relativa al profilo analitico né del 2-metossiestradiolo grezzo né del 2-metossiestradiolo ottenibile dopo purificazione cromatografica e cristallizzazione, la resa di purificazione del 64% (esempio
20 2.1.3 a pag. 374) è indice di un basso livello di purezza iniziale.

Il processo di sintesi descritto in questo articolo è stato inoltre riprodotto più volte dai presenti inventori, applicando nelle varie preparazioni minime variazioni alle ricette allo

scopo di definire i parametri ottimali di reazione, ma ha portato in tutti i casi a miscele con un contenuto di 4-metossiestradiolo ben superiore al 5%, e in alcuni casi anche superiore al 10%, rispetto al contenuto di 2-metossiestradiolo, mentre le linee guida internazionali in campo farmaceutico pongono come limite massimo un contenuto minore o uguale a 0,15% per le impurezze identificate e minore o uguale a 0,10% per quelle non identificate.

Sono noti processi alternativi a quello dell'articolo di Steroids del 2003, che portano a contenuti inferiori o anche molto bassi di 4-metossiestradiolo, ma sono processi complicati e di bassa resa, e danno luogo comunque a quantità rilevanti di altre impurezze.

La domanda di brevetto WO 01/14405 A2 descrive in modo estremamente dettagliato la purificazione per via cromatografica di 2-metossiestradiolo da una serie di impurezze tra cui 4-metossiestradiolo, impiegando gel di silice e miscele di solventi organici a prevalente base cloroformio come eluente; si veda la forma di realizzazione preferita ("preferred embodiment") a pag. 16 del testo. In particolare, il 2-metossiestradiolo viene purificato dal 4-metossiestradiolo (tabella 1 ed esempio 2 a pag. 18) ma partendo già da un buon livello di purezza, impiegando gel di silice in quantità pari a 171 volte il peso della miscela da purificare e con l'uso di 2,5 L di miscela eluente, che equivale nell'esempio ad un rapporto tra il volume di eluente e il peso del campione pari a 0,714 l/g; riportando questi valori ad una scala industriale, per la purificazione di un lotto da 50 kg di 2-metossiestradiolo sarebbero richieste 8,5 tonnellate di gel di silice eluite con 35700 L di miscela solvente; se oltre a ciò si considerano i tempi di eluizione, i tempi di evaporazione del solvente per recuperare il prodotto, il supporto analitico di controllo delle frazioni, e lo smaltimento del gel di silice e del solvente esausti, appare immediatamente evidente come tale metodologia di purificazione non sia di alcuna utilità in vista di un'applicazione a lotti di produzione industriali, per la laboriosità della tecnica cromatografica, per le quantità di materiali da impiegare e per i tempi di esecuzione.

Gli inventori hanno studiato possibili metodi di purificazione alternativi, cromatografici (ma che fossero meno onerosi di quello di WO 01/14405 A2), tramite cristallizzazioni, o combinazioni di queste tecniche. La sperimentazione è stata effettuata su

campioni di 2-metossiestradiolo con contenuto di 4-metossiestradiolo superiore al 5%, ottenuti con il processo del citato articolo di Steroids del 2003. Per quanto riguarda i metodi cromatografici, sono state provate varie miscele di eluenti composte da alcoli, solventi clorurati, chetoni ed eteri, come ad esempio varie miscele diclorometano/metanolo con un
5 rapporto in peso tra gel di silice prodotto compreso tra 50:1 e 200:1, una miscela diclorometano/acetone 98:2 con rapporto in peso tra gel di silice e prodotto pari a 100:1, una miscela cloroformio/metanolo 99:1 con rapporto in peso tra gel di silice e prodotto pari a 200:1 e miscele etere diisopropilico-etere etilico con gradiente da 70:30 a 0:100 e rapporto in peso tra gel di silice e prodotto pari a 200:1.

10 Per quanto riguarda le cristallizzazioni, queste sono state provate utilizzando vari solventi puri o in miscela tra loro; nello specifico, è stata provata la cristallizzazione dai solventi puri metanolo, acetonitrile, acetato di isopropile, acetato d'etile, acetone, metiltetraidrofurano, metiletilchetone (MEK), etanolo, isopropanolo, toluene, metilterbutiletere (MTBE), diisopropiletere, cloroformio, diclorometano (DCM) e acido
15 acetico, e dalle miscele DCM/metanolo, MTBE/tetraidrofurano (il tetraidrofurano è generalmente abbreviato come THF), MTBE/1,4-diossano, MTBE/1-pentanol, MTBE/2-metossi-tetraidropiranile (il tetraidropiranile è generalmente abbreviato come THP), cloroformio/1-pentanol, cloroformio/2-metossi-THP, cloroformio/3-metil-1-butanolo, acetonitrile/THF, acetonitrile/THF/3-metil-1-butanolo, metanolo/THF, metanolo/THF/3-
20 metil-1-butanolo, acetonitrile/THF/1,2-dimetossietano, acetonitrile/THF/2-etossietanol, cloroformio/THF, cloroformio/metanol, diclorometano/acetonitrile, diclorometano/acetato d'etile e acqua/dimetilformammide/metanol.

In tutti i casi si sono ottenuti risultati negativi: il risultato migliore è stato l'abbassamento del contenuto di 4-metossiestradiolo a circa il 5% cristallizzando da MTBE;
25 successive cristallizzazioni da MTBE non hanno però portato ad ulteriori miglioramenti nel contenuto di 4-metossiestradiolo.

Non è stato quindi possibile, nonostante l'ampia campagna di prove sperimentali, identificare una tecnica di tipo cromatografico (sia flash che gravimetrica), di

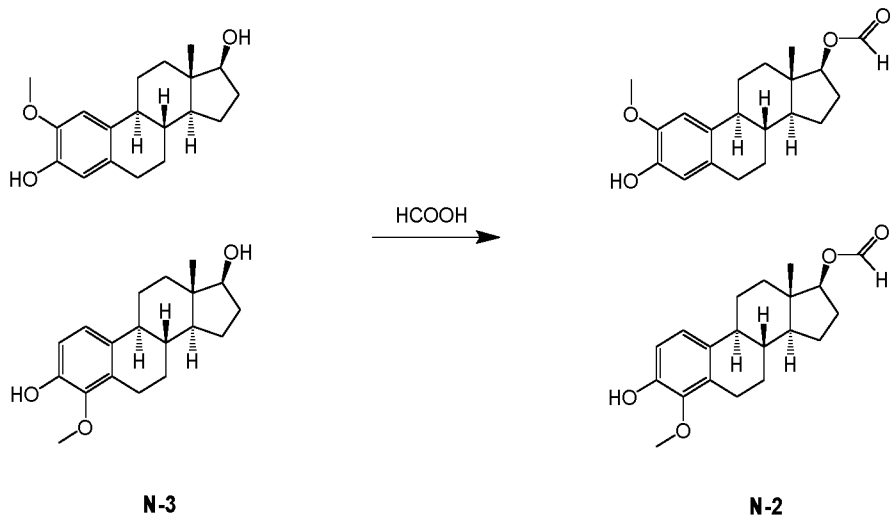
cristallizzazione o una loro combinazione, che permettesse di raggiungere l'obiettivo di un contenuto di 4-metossiestradiolo inferiore a 0,15%, come richiesto dalle linee guida internazionali.

5 Scopo della presente invenzione è di mettere a disposizione una metodologia di purificazione della miscela composta da 2-metossiestradiolo e da 4-metossiestradiolo come contaminante principale, che sia di reale applicabilità in un processo su scala industriale.

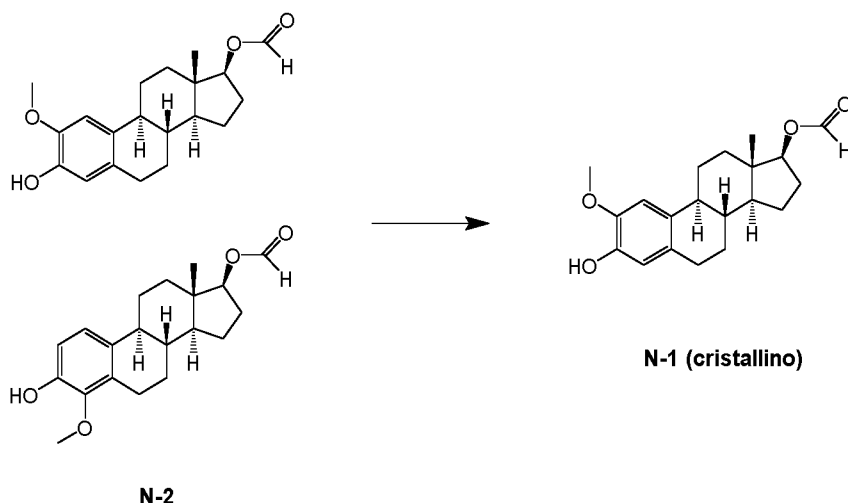
SOMMARIO DELL'INVENZIONE

10 Questo scopo viene raggiunto con la presente invenzione, che riguarda un processo per la purificazione di 2-metossiestradiolo da 4-metossiestradiolo comprendente i seguenti passaggi:

a) reazione di una miscela (N-3) comprendente 2-metossiestradiolo e 4-metossiestradiolo in un solvente con acido formico ad ottenere una miscela (N-2) comprendente i corrispondenti monoformiati in posizione 17 dello scheletro steroideo in un solvente:

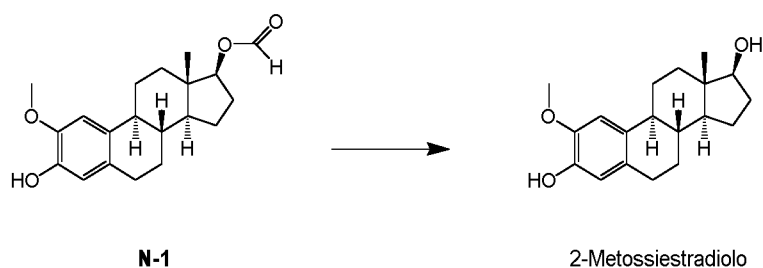


15 con conseguente cristallizzazione del formiato di 2-metossiestradiolo (N-1) e sua precipitazione dalla miscela N-2:

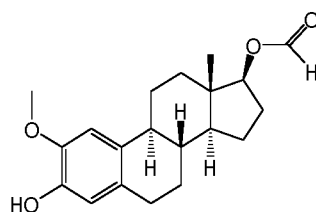


b) separazione del formiato N-1 dalla miscela N-2;

c) idrolisi del formiato N-1 a dare 2-metossiestradiolo:



5 Nel suo secondo aspetto, l'invenzione riguarda il composto 2-metossi-3-idrossiestra-1,3,5(10)-triene-17β-il formiato, avente la formula seguente:



DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

10 Nel corso del processo dell'invenzione, alcune miscele di reagenti o prodotti in solventi sono in forma di sospensioni o soluzioni nelle varie fasi del processo stesso; il termine "miscela" viene quindi usato nel seguito per indicare sia una sospensione che una soluzione. Inoltre, il composto 2-metossi-3-idrossiestra-1,3,5(10)-triene-17β-il formiato che si forma come intermedio durante il processo, verrà indicato per brevità col nome 17-

formiato di 2-metossiestradiolo.

Nel suo primo aspetto l'invenzione riguarda un processo per la purificazione di 2-metossiestradiolo da 4-metossiestradiolo, che permette di ridurre il contenuto di 4-metossiestradiolo a valori inferiori a 0,15% rispetto al contenuto di 2-metossiestradiolo (area
5 % HPLC).

Il processo dell'invenzione comprende i passaggi da a) a c) sopra riportati.

Nel passaggio a) viene formata una miscela, N-3, comprendente 2-metossiestradiolo e 4-metossiestradiolo ed acido formico.

L'acido formico impiegato per la formazione della miscela N-3 può essere puro o
10 diluito con acqua; preferibilmente si impiega acido formico con grado di purezza superiore o uguale al 95%, più preferibilmente superiore o uguale al 98%.

Il passaggio a) viene realizzato ad una temperatura compresa tra 10 e 50 °C, preferibilmente tra 20 e 30 °C.

Il rapporto tra mL di acido formico e i grammi complessivi di 2-metossiestradiolo e 4-
15 metossiestradiolo è compreso tra 4 ed 8, preferibilmente tra 5 e 7; l'acido formico funge sia da reattivo che da solvente per la formazione della miscela reagente N-3 e di quella N-2 risultante.

Inizialmente la miscela N-3 consiste di una sospensione di 2-metossiestradiolo e 4-metossiestradiolo nel solvente; i due composti vengono poi solubilizzati, ottenendo una
20 soluzione. Nella soluzione così formata avviene la reazione di formilazione dell'ossidrilico in posizione 17 dello scheletro steroideo. In seguito alla formazione della miscela N-3, realizzata adottando i rapporti in peso tra acido formico e 2-metossiestradiolo/4-metossiestradiolo e negli intervalli di temperatura sopra indicati, in questo passaggio avviene la cristallizzazione spontanea e precipitazione selettiva del 17-formiato di 2-
25 metossiestradiolo, che forma una nuova sospensione mentre il 17-formiato di 4-metossiestradiolo rimane in soluzione. La reazione di formilazione di 2-metossiestradiolo e di 4-metossiestradiolo e la precipitazione selettiva del 17-formiato di 2-metossiestradiolo procedono simultaneamente durante il passaggio a).

Questo passaggio ha una durata compresa tra 1 e 4 ore, generalmente tra 2 e 3 ore.

La precipitazione per cristallizzazione del 17-formiato di 2-metossiestradiolo, composto N-1, avviene dalla miscela N-2 senza bisogno di aggiunta di alcun solvente con la funzione di abbassarne la solubilità. È anche possibile indurre la precipitazione del 17-
5 formiato di 2-metossiestradiolo tramite l'aggiunta di una piccola quantità dello stesso composto (germe di cristallizzazione o seme) ottenuto in una preparazione precedente; preferibilmente però si attende la cristallizzazione spontanea del 17-formiato di 2-metossiestradiolo, N-1, dalla miscela di reazione.

Nel passaggio b), il 17-formiato di 2-metossiestradiolo viene separato dalla miscela N-
10 2. Il recupero di questo composto può essere realizzato con metodi noti, per esempio per centrifugazione o preferibilmente per semplice filtrazione.

Infine, nel passaggio c) l'intermedio N-1 viene idrolizzato a dare 2-metossiestradiolo.

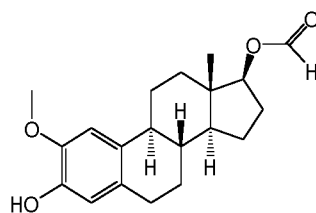
L'idrolisi del 17-formiato di 2-metossiestradiolo (N-1) è condotta in un solvente alcolico scelto tra metanolo, etanolo e isopropanolo, puri o in miscela tra loro, anidri o in
15 presenza di acqua. Preferibilmente si usa metanolo puro con contenuto di acqua inferiore al 5% in volume, e più preferibilmente si usa metanolo puro ed anidro.

La base impiegata per la reazione di idrolisi è scelta tra idrossido di litio, idrossido di sodio, idrossido di potassio, carbonato di litio, carbonato di sodio, carbonato di potassio e carbonato di cesio; preferibilmente si impiega idrossido di sodio.

20 La temperatura di reazione è compresa tra 15 e 45 °C, preferibilmente tra 20 e 40 °C.

La quantità di base impiegata è tale che il pH della soluzione risulti compreso tra 8 e 14, preferibilmente tra 11 e 13.

Nel suo secondo aspetto, l'invenzione riguarda il 17-formiato di 2-metossiestradiolo, composto 2-metossi-3-idrossiestra-1,3,5(10)-triene-17β-il formiato, che viene ottenuto
25 come intermedio N-1 del processo e che ha la formula seguente:



L'invenzione verrà ulteriormente illustrata dai seguenti esempi.

STRUMENTI, METODI E CONDIZIONI SPERIMENTALI

NMR

- 5 Spettrometro NMR JEOL 400 YH (400 MHz); Software JEOL Delta v5.1.1;
- Spettri registrati in solventi deuterati come: Cloroformio-d, D 99,8%, contenente 0,1% (v/v) tetrametilsilano (TMS) come standard interno; e Cloroformio-d, "100%", D 99,96%, contenente 0,03% (v/v) TMS, e DMSO-d₆.

MS

- 10 Spettrometro WATERS SYNAPT G2-Si QTof ;
- Ionizzazione negativa;
- La ionizzazione è fatta in ESI (electron spray ionization).

HPLC

- HPLC Agilent modello 1260 Infinity II;
- 15 Detector UV-DAD;
- Fase mobile:* Acqua / Acetonitrile / Metanolo 55:40:5 (v/v).

Condizioni cromatografiche:

- | | | |
|---------------------|---|---|
| Colonna | : | Supelco Ascetis Express C18, 150 x 4,6 mm, 2,7 µm |
| Flusso | : | 1,0 mL/minuto |
| 20 Detector | : | UV a 204 e 280 nm |
| Volume di iniezione | : | 10 µL |
| Temperatura | : | 25 °C. |

UPLC

Sistema cromatografico: Waters Acquity UPLC;

Detector: Acquity UPLC PDA e λ Detector ($\lambda = 220\text{nm}$);

Colonna: Acquity UPLC BEH C18 1,7 μm (2,1 $\times$ 50 mm), T = 35 °C;

Solvente A: Acetonitrile 0,01% formico acido;

5 Solvente B: acqua 0,01% formico acido;

Gradiente:

	Tempo (min)	Flusso (mL/min)	%A	%B
1	0,0	0,5	30	70
2	0,5	0,5	30	70
3	4,0	0,5	90	10
4	4,1	0,5	30	70
5	5,5	0,5	30	70

Purezza cromatografica (Ph Eur):

10 Si utilizzano i cromatogrammi ottenuti dal test “Titolo HPLC”, effettuato tramite cromatografia liquida nelle seguenti condizioni, definite in Ph Eur 2.2.29:

Solvente: Acetonitrile / Acqua 70:30 v/v.

Soluzione di riferimento A: sciogliere 20 mg di 2-metossi-estradiolo Working STD in 14 mL di acetonitrile. Diluire a 20 mL con acqua. Preparare questa soluzione in doppio.

15 *Soluzione campione:* sciogliere 20 mg di prodotto in 14 mL di acetonitrile, diluire a 20 mL con acqua. Preparare questa soluzione in doppio.

Soluzione di riferimento B: prelevare 1 mL di soluzione campione e diluire a 100 mL con solvente. Da questa soluzione diluire 1 mL a 10 mL con solvente.

Identificare le impurezze sulla base dei loro tempi di ritenzione relativi:

Nome	RRT	RT
17 β -estradiolo	0,80	4,4
4-metossi-estradiolo	0,87	4,8

2-metossi-estradiolo	1	5,5
----------------------	---	-----

Calcolare il contenuto delle impurezze, a 204 nm, secondo la formula:

$$C_u\% = (r_u/r_s) \times 0,1$$

dove:

$C_u\%$ è il contenuto di ciascuna impurezza

5 r_u è l'area di risposta di ciascuna impurezza

r_s è l'area di risposta del 2-metossi-estradiolo nella soluzione di riferimento B.

Per il calcolo delle impurezze totali, scartare tutte le impurezze inferiori allo 0,05%.

TLC

10 MERCK: TLC gel di silice 60 F₂₅₄ Aluminium sheets 20 x 20 cm, cod. 1.0554.0001.

Rivelatori TLC

Cerio fosfomolibdato: Si sciolgono 25 g di acido fosfomolibdico e 10 g cerio (IV) solfato in 600 mL di H₂O. Si aggiungono 60 mL di H₂SO₄ 98% e si porta a 1 L con H₂O. La lastrina viene impregnata di soluzione quindi scaldata fino a rilevazione dei prodotti.

15 ***NOTE***

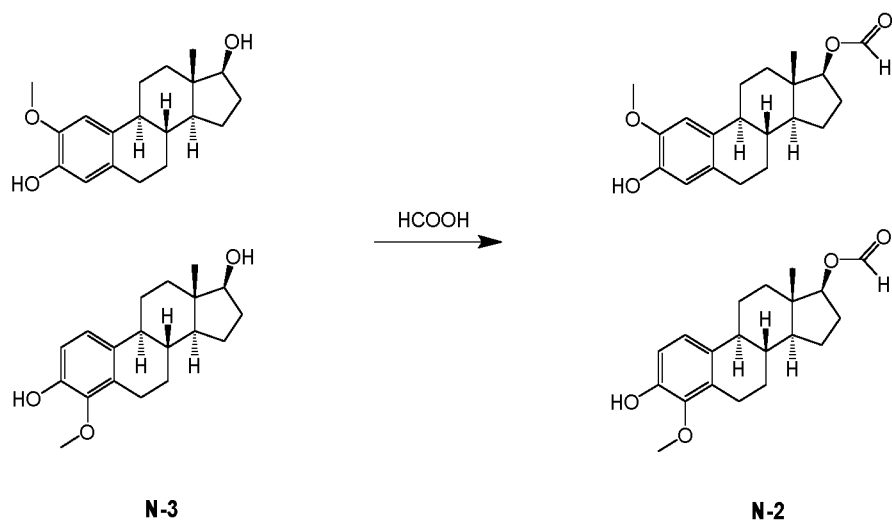
L'acqua impiegata nelle descrizioni sperimentali è da intendersi acqua pura se non diversamente indicato.

I solventi organici impiegati nelle descrizioni sperimentali sono da intendersi di grado "tecnico" se non diversamente indicato.

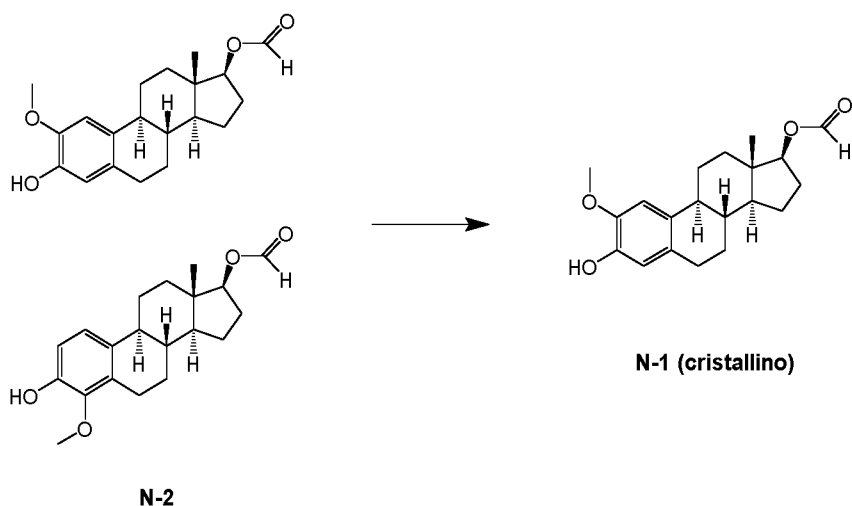
20 I reattivi impiegati nelle descrizioni sperimentali sono da intendersi di qualità commerciale se non diversamente indicato.

ESEMPIO 1

Questo Esempio si riferisce al passaggio a) dell'invenzione.



e simultaneamente



2-metossiestradiolo (33,8 g, precedentemente cristallizzato da MTBE) con contenuto
 5 di 4-metossiestradiolo del 4,7% è stato sospeso in un reattore con 202,8 mL di acido formico,
 sotto azoto, a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

La sospensione così formata è stata posta sotto agitazione. Dopo 35' si è osservata la
 completa dissoluzione del solido iniziale. Dopo 1 h e 10' si è osservata la formazione di
 nuovo solido in sospensione. Dopo 2 ore è stato controllato lo stato della reazione tramite
 10 UPLC: 2-metossiestradiolo < 1%.

ESEMPIO 2

Questo Esempio si riferisce al passaggio b) dell'invenzione.

La sospensione ottenuta nell'Esempio 1 è stata filtrata, il solido ottenuto (formiato di

2-metossietradiolo) è stato lavato su buchner con acido formico (34 mL) e seccato sommariamente sempre su buchner.

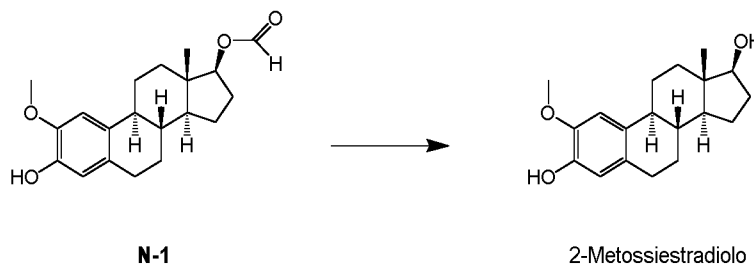
Un campione di solido così ottenuto, dopo essiccamento a pressione ridotta, è stato analizzato tramite $^1\text{H-NMR}$ e massa.

- 5 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): 8.62 (1H, s, Ar-OH); 8.26 (1H, s, CHO); 6.76 (1H, s, Ar-H), 6.44 (1H, s, Ar-H); 4.68 (1H, t, H-17, $J=8,5$ Hz); 3.71 (3H, s, OCH_3); 2.73-2.57 (2H, m); 2.34-2.23 (1H, m); 2.20-2.08 (2H, m); 1.83-1.74 (2H, m); 1.73-1.63 (1H, m); 1.59-1.48 (1H, m); 1.44-1.14 (6H, m); 0.80 (3H, s, H-18).

Massa (ESI): $m/z = M^+ - 1 = 329$.

10 ESEMPIO 3

Questo Esempio si riferisce al passaggio c) dell'invenzione.



Il solido umido ottenuto nell'Esempio 2 è stato caricato in un reattore con 6,7 g di idrossido di sodio in pastiglie.

- 15 È stato aggiunto metanolo (369 mL) ed agitando si è osservata dissoluzione completa del solido iniziale dopo 15'. La temperatura interna è salita da 25 a 32 °C, il pH misurato è risultato ≥ 12 .

Dopo ulteriori 30' di agitazione dopo completa dissoluzione è stato controllato lo stato della reazione tramite UPLC: conversione completa, formiato di 2-metossiestradiolo < 1%.

- 20 Alla miscela di reazione è stata aggiunta una soluzione acquosa di cloruro d'ammonio (26 g in 1300 mL H_2O).

La risultante miscela idroalcolica è stata quindi agitata a $25\text{ }^\circ\text{C} \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$ per 30' e poi a $0-5\text{ }^\circ\text{C}$ per 1 h.

Si è osservata la formazione di un precipitato che è stato filtrato su buchner e lavato

con acqua sul filtro.

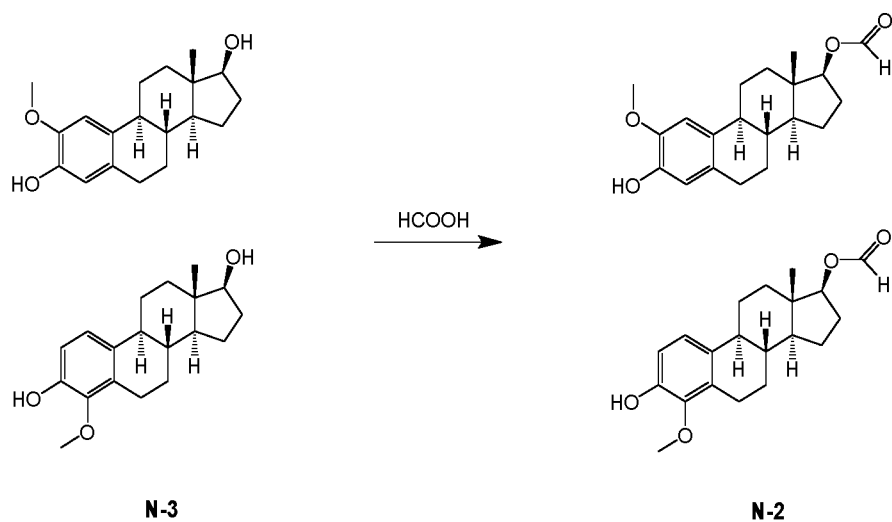
Il solido ottenuto è stato quindi seccato in stufa a 55 °C per 16 h a pressione ridotta.

Si sono ottenuti 23,9 g di 2-metossiestradiolo (solido bianco con riflessi gialli) con contenuto di 4-metossiestradiolo inferiore a 0,05%.

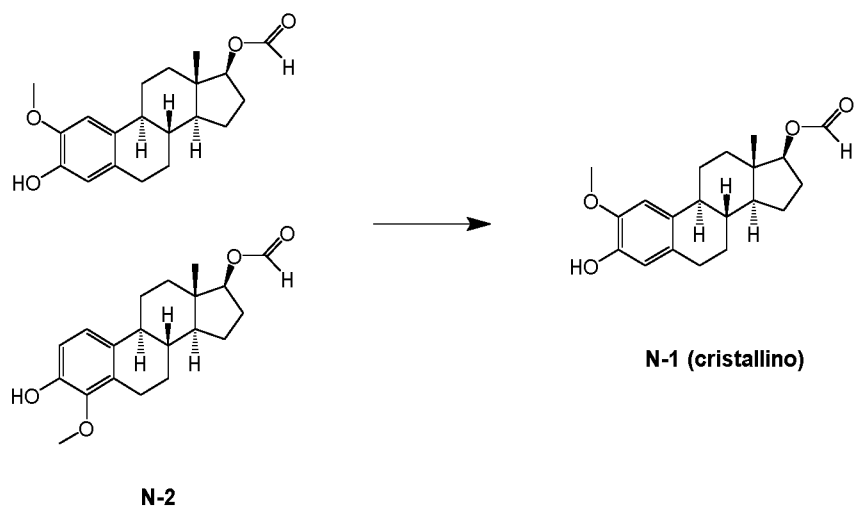
RIVENDICAZIONI

1. Processo per la purificazione di 2-metossiestradiolo da 4-metossiestradiolo comprendente i seguenti passaggi:

a) reazione di una miscela (N-3) comprendente 2-metossiestradiolo e 4-metossiestradiolo in un solvente con acido formico ad ottenere una miscela (N-2) comprendente i corrispondenti monoformiati in posizione 17 dello scheletro steroideo in un solvente:



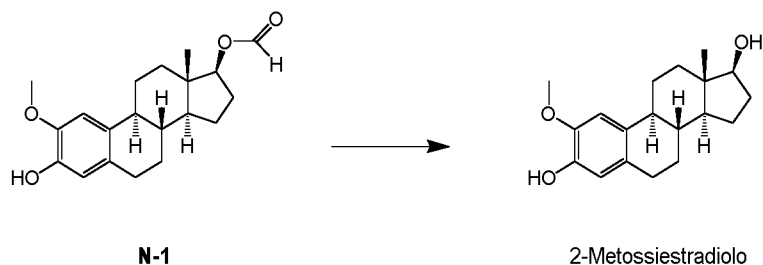
con conseguente cristallizzazione del 17-formiato di 2-metossiestradiolo (N-1) e sua precipitazione dalla miscela N-2:



;

b) separazione del formiato N-1 dalla miscela N-2;

c) idrolisi del formiato N-1 a dare 2-metossiestradiolo:



2. Processo secondo la rivendicazione 1, in cui il solvente della miscela N-3 è acido formico puro o in miscela con acqua.
3. Processo secondo la rivendicazione 2, in cui il solvente della miscela N-3 è acido formico puro, di purezza uguale o superiore a 95%, preferibilmente uguale o superiore a 98%.
4. Processo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti in cui nel passaggio a) vengono usati tra 4 e 8 mL, preferibilmente tra 5 e 7 mL, di acido formico per 1 g complessivo di 2-metossiestradiolo e 4-metossiestradiolo.
5. Processo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti in cui il passaggio a) viene realizzato ad una temperatura compresa tra 10 e 50 °C, preferibilmente tra 20 e 30 °C.
6. Processo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti in cui il passaggio b) viene realizzato per centrifugazione o per filtrazione.
7. Processo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti in cui il passaggio c) viene realizzato in un solvente scelto tra metanolo, etanolo e isopropanolo, puri o in

miscela tra loro, anidri o in presenza di acqua, e con una base scelta tra idrossido di litio, idrossido di sodio, idrossido di potassio, carbonato di litio, carbonato di sodio, carbonato di potassio e carbonato di cesio.

8. Processo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti in cui la reazione del passaggio c) viene realizzata ad una temperatura compresa tra 15 e 45 °C, preferibilmente tra 20 e 40 °C.
9. Processo secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti in cui la reazione del passaggio c) viene condotta ad un pH compreso tra 8 e 14, preferibilmente tra 11 e 13.
10. Composto 2-metossi-3-idrossiestra-1,3,5(10)-triene-17 β -il formiato:

