

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 915 058**

21 Número de solicitud: 202290021

51 Int. Cl.:

C07J 1/00 (2006.01)

C07J 75/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

25.09.2020

30 Prioridad:

27.09.2019 IT 102019000017414

22.11.2019 IT 102019000021879

43 Fecha de publicación de la solicitud:

20.06.2022

88 Fecha de publicación diferida del informe sobre el estado de la técnica:

11.12.2023

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

06.03.2024

Fecha de concesión:

14.06.2024

45 Fecha de publicación de la concesión:

21.06.2024

73 Titular/es:

INDUSTRIALE CHIMICA S.R.L. (100.0%)

Via Abbondio Sangiorgio, 12

20145 Milán IT

72 Inventor/es:

LENNA, Roberto;

FASANA, Andrea y

LUCENTINI, Riccardo

74 Agente/Representante:

RUO, Alessandro

54 Título: **Proceso para preparar (15 α ,16 α ,17 β)-estra-1,3,5(10)-trieno-3,15,16,17-tetrol (Estetrol) e intermedios de dicho proceso**

57 Resumen:

Proceso para preparar (15 α ,16 α ,17 β)-estra-1,3,5(10)-trieno-3,15,16,17-tetrol (Estetrol) e intermedios de dicho proceso.

La presente invención se refiere a un proceso para preparar (15 α ,16 α ,17 β -Estra-1,3,5(10)-trieno-3,15,16,17-tetrol, también conocido como Estetrol, que presenta la fórmula que se muestra a continuación:

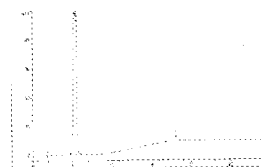
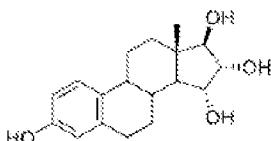


Figura 1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

ES 2 915 058 B2

DESCRIPCIÓN

Proceso para preparar (15 α ,16 α ,17 β) -estra-1,3,5(10) -trieno -3,15,16,17-tetrol (Estetrol) e intermedios de dicho proceso

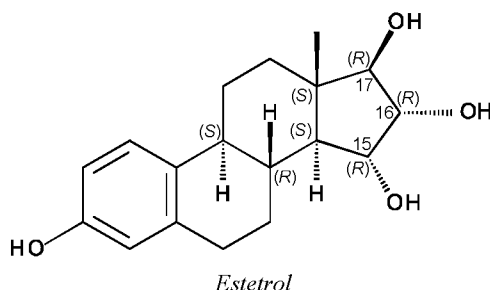
CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere al sector de los procesos para la síntesis de ingredientes activos para uso farmacéutico, y en concreto a un proceso para preparar el compuesto a escala industrial (15 α ,16 α ,17 β)-estra-1,3,5(10)-trieno-3,15,16,17-tetrol, también conocido como Estetrol, tanto en forma anhidra como monohidratada. La invención también se refiere a un
10 intermedio del proceso.

ESTADO DE LA TÉCNICA

El compuesto Estetrol es un ingrediente activo con actividad farmacológica que hace que resulte útil para la terapia de reemplazo hormonal (Hormone Replacement Therapy, HRT), en la anticoncepción femenina, o en la
15 terapia de disfunciones autoinmunes ligadas a desequilibrios hormonales.

A continuación se indica la fórmula estructural del Estetrol:



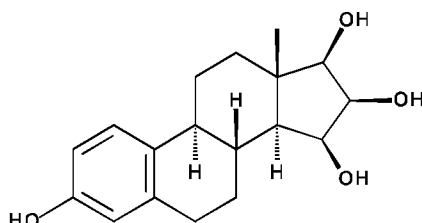
20 Cada una de las posiciones 15, 16 y 17 del esqueleto esteroidal (resaltadas en la fórmula indicada arriba) contienen un hidroxilo que, como se indica en la fórmula estructural, presenta una disposición espacial definida.

El Estetrol es un producto natural aislado de la orina humana y se conoce desde hace años; ha sido descrito en el artículo "Synthesis of epimeric 15-hydroxyestriols, new and potential metabolites of estradiol", J. Fishman *et al.*, JOC Vol. 33, N.º 8, Agosto 1968, p. 3133-3135 (compuesto la de la figura que se muestra en la página 3133).
25

En lo que respecta a la obtención de Estetrol, el proceso que se puede obtener a partir de este artículo no presenta aplicabilidad industrial debido al bajo rendimiento del proceso.

30 Se han publicado recientemente varias solicitudes de patente

relacionadas con nuevos procesos de síntesis de Estetrol, pero ninguno de ellos evita la formación del isómero 15 β ,16 β ,17 β , presentando la fórmula estructural que se indica a continuación, a partir del cual se debe purificar el Estetrol para utilizarse en preparaciones farmacéuticas.



Isómero 15 β ,16 β ,17 β

Por ejemplo, la solicitud WO 2004/041839 A2 (página 6, líneas 5-10) describe un proceso para obtener Estetrol cuya pureza puede alcanzar el 99 %, sin que la suma de las impurezas aisladas sea superior al 1 %. El ejemplo 11 de la pág. 28 describe un Estetrol con pureza HPLC del 99,1 % (HPLC-MS) que, sin embargo, no aporta información sobre el contenido de las impurezas aisladas; el límite aceptado por las directrices internacionales para sustancias farmacéuticas es del 0,1 % para las desconocidas y del 0,15 % para las identificadas.

El contenido de impurezas en un ingrediente activo (API) es un requisito fundamental e irrevocable para permitir su uso en preparaciones farmacéuticas, y también es una característica esencial para definir un proceso susceptible de aplicación industrial. Cualquier proceso, independientemente del rendimiento, que proporciona un API con un contenido de impurezas que no respete los límites de las directrices internacionales no es un proceso útil desde el punto de vista industrial, ya que el API, el resultado del proceso, no se puede usar.

Solicitudes posteriores relativas a la producción de Estetrol son, por ejemplo, WO 2012/164096 A1, WO 2013/050553 A1 y WO 2015/040051 A1.

En el documento WO 2015/040051 A1, la relación Estetrol/isómero 15 β ,16 β ,17 β es igual a 99:1 en los ejemplos 10 y 15, e igual a 98:2 en los ejemplos 11 y 17. No obstante, en estos ejemplos, no se dan indicaciones para reducir el contenido de isómero 15 β ,16 β ,17 β a al menos un 0,15 %. Ni siquiera la purificación cromatográfica (ejemplo 15) permite obtener este resultado. En este documento se observa (página 9, líneas 5-15) que los procesos descritos en la técnica anterior descrita (representada, en el caso de este documento, por las solicitudes WO 2012/164096 A1 y WO 2013/050553 A1) proporcionan cantidades aún mayores e inaceptables del isómero 15 β ,16 β ,17 β .

Por lo tanto, parece evidente que ninguno de los procesos descritos aporta una solución a la limitación de la formación del isómero 15 β ,16 β ,17 β o

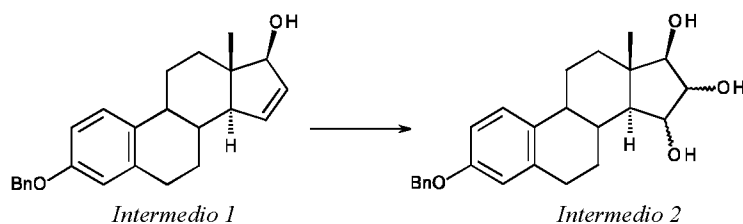
un método de purificación de Estetrol a partir de dicho isómero.

SUMARIO DE LA INVENCION

El objeto de la presente invención es proporcionar un proceso de síntesis de Estetrol con un contenido de isómero $15\beta,16\beta,17\beta$ inferior al 0,15 %, sin tener que recurrir a técnicas de purificación que no son susceptibles de aplicación industrial.

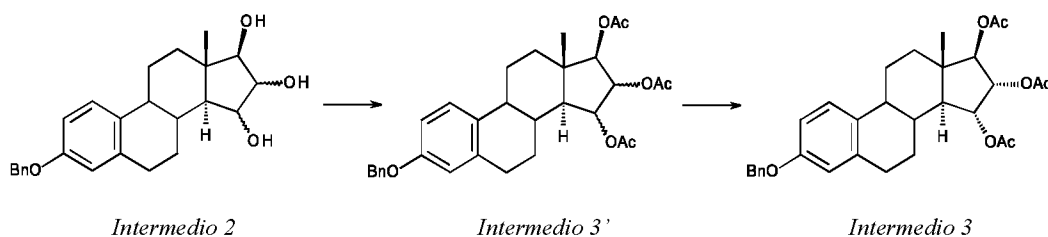
En su primer aspecto, la invención se refiere a un proceso de síntesis de Estetrol que comprende las siguientes etapas:

- 10 A) oxidación del compuesto (17 β)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10),15-tetraen-17-ol (intermedio 1) para proporcionar el compuesto (17 β)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10)-trieno-15,16,17-triol (intermedio 2):

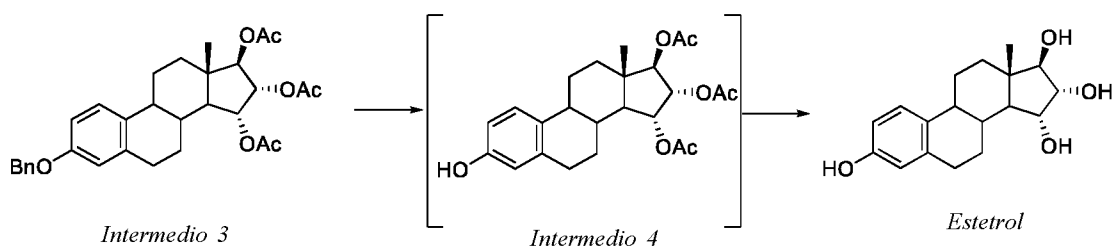


- 15 donde Bn = bencilo, y en el que la configuración de los átomos de carbono 15 y 16 del esqueleto esteroidal del intermedio 2 no es fija;

- B) acetilación del intermedio 2 para proporcionar el compuesto (15 $\alpha,16\alpha,17\beta$)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10)-trieno-15,16,17-triol triacetato (intermedio 3) pasando por el intermedio 3' en el que la configuración de los átomos de carbono 15 y 16 del esqueleto esteroidal no es fija;
- 20



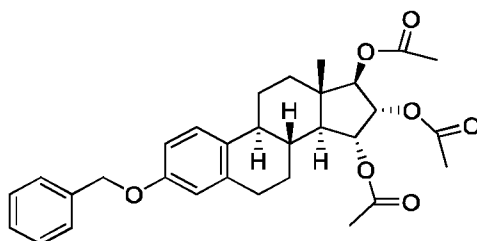
- C) transformación del intermedio 3, pasando por el compuesto (15 $\alpha,16\alpha,17\beta$)-3-hidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-15,16,17-triol triacetato (intermedio 4), que preferiblemente no está aislado, en Estetrol:
- 25



D) purificación del Estetrol obtenido en la etapa C).

5 En una forma de realización alternativa, el proceso de la invención comprende, además, una etapa adicional E), en la que el Estetrol producido en la etapa D) se transforma en Estetrol monohidrato.

En su segundo aspecto, la invención se refiere al intermedio 3, (15 α ,16 α ,17 β)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10)-trieno-15,16,17-triol triacetato.



Intermedio 3

10

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra el cromatograma HPLC del Estetrol que se puede obtener con el proceso de la invención.

15 La Figura 2 muestra el cromatograma HPLC del Estetrol monohidrato que se puede obtener con el proceso de la invención.

La Figura 3 muestra el difractograma DRX del Estetrol anhidro y monohidrato que se puede obtener con el proceso de la invención.

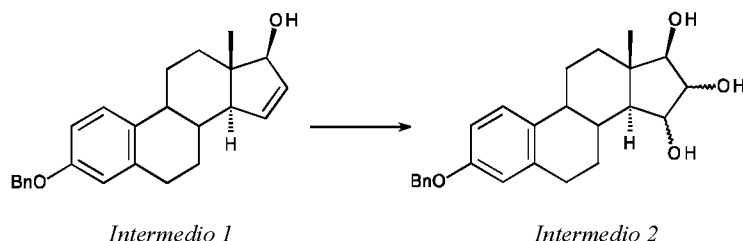
La Figura 4 muestra el cromatograma DSC del Estetrol anhidro que se puede obtener con el proceso de la invención.

20 La Figura 5 muestra el cromatograma DSC del Estetrol monohidrato que se puede obtener con el proceso de la invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En su primer aspecto, la invención se refiere a un proceso de síntesis de Estetrol que comprende las etapas definidas anteriormente.

La etapa A) consiste en la oxidación del compuesto (17 β)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10),15-tetraen-17-ol (intermedio 1) para proporcionar el compuesto (17 β)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10)-trieno-15,16,17-triol (intermedio 2):



donde Bn = bencilo, y en el que la configuración de los átomos de carbono 15 y 16 del esqueleto esteroideal del intermedio 2 no es fija.

El sustrato de partida de esta etapa, el intermedio 1, se puede obtener según se lo descrito en la solicitud WO 2004/041839 A2.

Como oxidante en la reacción de la etapa A) es posible usar tetróxido de osmio (OsO_4) soportado en un polímero o, preferiblemente, tal cual.

Como cooxidante se usa una amina N-óxido orgánica, como trimetilamina N-óxido dihidratada.

Puesto que la oxidación con OsO_4 no es estereoselectiva, el intermedio 2 se obtiene como una mezcla de isómeros con la configuración 15 α ,16 α ,17 β y 15 β ,16 β ,17 β ; el isómero 15 α ,16 α ,17 β se produce en cantidad preponderante junto con una cantidad minoritaria del isómero 15 β ,16 β ,17 β .

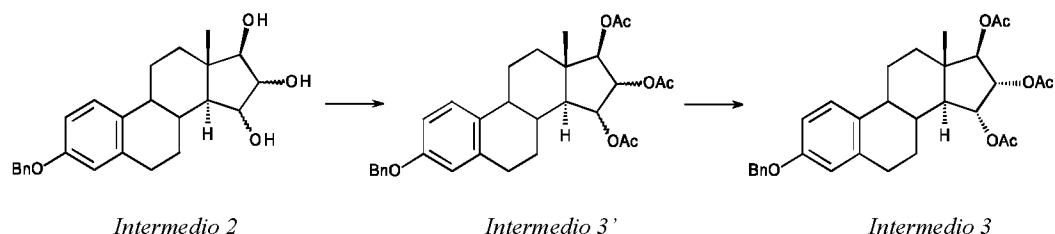
La reacción se lleva a cabo en un solvente inerte a los derivados del osmio, como tetrahidrofurano (THF), a una temperatura de entre 35 y 60 °C, preferiblemente de entre 45 y 55 °C, y durante un período de al menos 12 horas, preferiblemente de al menos 16 horas.

El producto de reacción (intermedio 2) tras el tratamiento final se trata con un producto que secuestra impurezas metálicas en solución para eliminar el contenido de osmio residual. Estos productos, muy conocidos en química, se basan por lo general en un gel de sílice funcionalizado y al que se suele hacer referencia en el sector con el término limpiador, que se empleará en el resto del texto y en las reivindicaciones. El limpiador es preferiblemente QuadraSil® MP.

El tratamiento con el limpiador se puede llevar a cabo y repetirse en cada etapa del proceso; preferiblemente, se lleva a cabo en la etapa A).

La etapa B) consiste en la acetilación del intermedio 2 para proporcionar el compuesto (15 α ,16 α ,17 β)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10)-trieno-15,16,17-triol triacetato (intermedio 3) pasando por el intermedio 3' en el que la configuración

de los átomos de carbono 15 y 16 del esqueleto esteroidal no es fija:



El intermedio 2, el sustrato de partida de la reacción de acetilación, se puede cargar en la reacción como sólido o, preferiblemente, se utiliza directamente la solución obtenida en la etapa A).

El resultado directo de la reacción de acetilación del intermedio 2 es el intermedio 3', que consiste en una mezcla de los isómeros 15 α ,16 α ,17 β y 15 β ,16 β ,17 β ; a continuación, dicha mezcla se separa con un proceso de purificación que constituye la segunda parte de la etapa B).

La acetilación exhaustiva de la etapa B) se realiza en un solvente compatible con las condiciones de la propia reacción, como, por ejemplo, acetato de isopropilo, acetato de etilo, tetrahydrofurano, piridina o tolueno. El solvente preferido es piridina.

Para la reacción, se usa anhídrido acético como reactante, en presencia de una base orgánica o inorgánica, de un catalizador y posiblemente de cantidades catalíticas de anhídrido trifluoroacético. Como base orgánica se utiliza preferiblemente piridina, y 4-dimetilaminopiridina como catalizador.

La temperatura de reacción es de entre 5 y 40 °C, preferiblemente de entre 20 y 30 °C; el tiempo de reacción es de al menos 3 horas, preferiblemente de al menos 4 horas.

La purificación del intermedio 3', con la eliminación del isómero 15 β ,16 β ,17 β , se obtiene con la secuencia de operaciones descrita a continuación:

B.1) un tratamiento térmico que consiste en refluja el intermedio 3' que se quiere purificar en un alcohol alifático C1-C6 lineal o ramificado, durante al menos 10 minutos, preferiblemente durante al menos 15 minutos;

B.2) agitar la suspensión del intermedio 3' que se quiere purificar en un alcohol alifático C1-C6 lineal o ramificado, a una temperatura de entre 15 y 35 °C, preferiblemente de entre 20 y 30 °C e incluso más preferiblemente de entre 23 y 27 °C durante un período de entre 2 y 24 horas, preferiblemente durante un período de entre 3 y 18 horas, incluso más preferiblemente durante un período de entre 4 y 16 horas;

B.3) recuperar el intermedio 3 purificado mediante filtración.

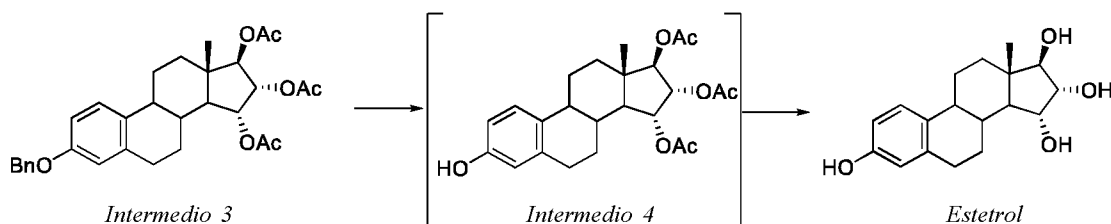
El alcohol del tratamiento térmico (operación B.1) y de la suspensión (operación B.2) puede ser el mismo o uno distinto; preferiblemente, se utiliza el mismo alcohol, que preferiblemente es metanol.

5 El intermedio 3 que se quiere purificar se puede recuperar mediante filtración tras la operación B.1) y volver a suspenderse en el solvente para obtener la suspensión de la operación B.2), o se puede mantener siempre el mismo solvente operando en el mismo recipiente.

10 El tratamiento de purificación del intermedio 3 se puede repetir el número de veces que sea necesario para obtener el nivel deseado de pureza en función del contenido inicial del isómero $15\beta,16\beta,17\beta$. Preferiblemente, el proceso de purificación se repite al menos dos veces.

Los inventores realizaron una serie de pruebas experimentales repitiendo tres veces la secuencia de las operaciones B.1, B.2 y B.3 en
15 muestras del intermedio 3' que contienen un 5 % del isómero $15\beta,16\beta,17\beta$; en la primera de estas pruebas, la operación B.2 de agitación de la suspensión se llevó a cabo tres veces durante 16 h, en una segunda prueba tres veces durante 8 h, y en una tercera prueba tres veces durante 4 h; estas pruebas confirmaron que el proceso de la invención, que comprende las operaciones
20 B.1 + B.2 + B.3, llevó en todos los casos a un producto final en el que el contenido del isómero $15\beta,16\beta,17\beta$ era inferior a un 0,10 % y, en algunos casos, inferior a un 0,05 %.

La etapa C) del proceso de la invención consiste en dos reacciones consecutivas, una primera desbencilación mediante hidrogenación catalítica del
25 intermedio 3 para formar el intermedio 4, y a continuación la hidrólisis de los acetatos presentes en el intermedio 4, según el siguiente esquema:



El orden en que se llevan a cabo es el que se ha indicado arriba. En primer lugar se realiza la desbencilación catalítica y, a continuación, la hidrólisis
30 de los acetatos; la inversión del orden de las reacciones hace que sea difícil completar la desbencilación.

El intermedio 4 obtenido a partir de la primera reacción se puede aislar y, por lo tanto, reaccionar de nuevo, aunque preferiblemente este intermedio se

mantiene disuelto en el solvente de la primera reacción.

Las condiciones de desbencilación e hidrólisis son las que resultan conocidas para los químicos expertos en química orgánica.

5 La primera reacción, la desbencilación, consiste en una hidrogenación con hidrógeno gaseoso en presencia de un catalizador adecuado. Las condiciones preferidas para esta reacción son:

- uso de paladio en carbón (Pd/C) al 5 % o preferiblemente al 10 % en peso como catalizador;

10 - presión de hidrógeno entre 1 y 6 bar, preferiblemente entre 2 y 4 bar, incluso más preferiblemente entre 2,5 y 3,5 bar;

- un alcohol alifático C1-C6 lineal o ramificado, preferiblemente metanol, como solvente de reacción;

- tiempo de reacción de al menos 16 horas, preferiblemente de al menos 20 horas;

15 - temperatura de hidrogenación de entre 30 y 60 °C, preferiblemente de entre 35 y 55 °C, incluso más preferiblemente de entre 40 y 50 °C.

La segunda reacción consiste en la hidrólisis de los acetatos del intermedio 4, utilizando bases. Las condiciones preferidas para esta reacción son:

20 - uso de carbonato de sodio, carbonato de potasio o carbonato de litio como base; preferiblemente se utiliza carbonato de potasio;

- tiempo de reacción de al menos 2 horas, preferiblemente de al menos 4 horas;

25 - temperatura de reacción de entre 10 y 40 °C, preferiblemente de entre 15 y 35 °C, incluso más preferiblemente de entre 20 y 30 °C.

La solución que contiene el producto de reacción (Estetrol) se puede tratar con un limpiador a base de gel de sílice funcionalizado para eliminar el contenido de paladio residual. El limpiador es preferiblemente QuadraSil® MP.

30 Por último, la etapa final del proceso de la invención, D), consiste en la purificación del Estetrol obtenido en la etapa C).

Esta etapa se lleva a cabo mediante cristalización caliente-frío, de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en química orgánica.

Los solventes utilizados son tetrahidrofurano (THF), metanol y acetonitrilo.

También en esta operación, el Estetrol se puede tratar con un limpiador a base de gel de sílice funcionalizado, preferiblemente QuadraSil® MP, para eliminar el contenido de paladio residual. El solvente en el que se usa el limpiador se selecciona de entre tetrahidrofurano (THF), metanol y acetonitrilo; preferiblemente se utiliza tetrahidrofurano.

Al término de esta operación, se obtiene Estetrol puro en forma «anhidra», esto es, con un contenido de agua residual mínimo, con una relación estequiométrica agua/API muy por debajo de 1.

En una forma de realización alternativa, la invención se destina a la preparación de Estetrol en forma monohidratada. En esta forma de realización, el proceso comprende una etapa adicional, E), que se lleva a cabo tras la etapa D) con la siguiente secuencia de operaciones:

E.1) disolver el Estetrol puro en forma anhidra en un solvente orgánico miscible con agua, como acetona, metanol, etanol, isopropanol, tetrahidrofurano, dimetilformamida o dimetilacetamida hasta su solución completa; el solvente preferido es metanol;

E.2) mezclar la solución del punto E.1) con agua, preferiblemente agua pura; preferiblemente, esta operación se lleva a cabo haciendo gotear el agua en la solución orgánica de Estetrol;

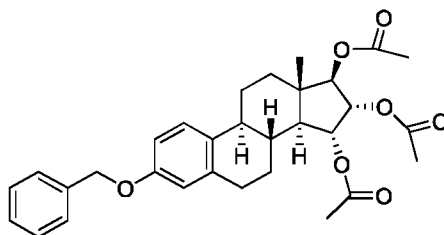
E.3) eliminar el solvente orgánico mediante destilación, preferiblemente a presión reducida;

E.4) mantener la suspensión en agitación, preferiblemente durante al menos 15 minutos a una temperatura comprendida entre 5 y 20 °C;

E.5) filtrar y lavar el sólido; preferiblemente, el sólido filtrado se lava en el filtro con agua;

E.6) secar el sólido durante al menos 5 horas a al menos 40 °C y presión reducida, preferiblemente durante al menos 6 horas a al menos 45 °C y presión reducida.

En su segundo aspecto, la invención se refiere al intermedio 3 purificado, (15 α ,16 α ,17 β)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10)-trieno-15,16,17-triol triacetato, obtenido durante el proceso anteriormente descrito:



Intermedio 3

La invención se ilustrará ulteriormente con los siguientes ejemplos.

INSTRUMENTOS, MÉTODOS Y CONDICIONES EXPERIMENTALES

RMN:

- 5 Espectrómetro RMN JEOL 400 YH (400 MHz); software JEOL Delta v5.1.1;

Espectros registrados en DMSO-d₆.

MS:

Instrumento: DSQ-trace Thermofisher

- 10 Introducción de la muestra - sonda de exposición directa (dep)

Ionización química (CI) con metano

Presión de metano: 2,2 psi

Temperatura fuente: 200 °C

HPLC:

- 15 Sistema de cromatografía Agilent modelo 1260 Infinity; Detector UV MODELO G1315C DAD VL+

Método HPLC 1:

Condiciones cromatográficas:

- 20 - Columna: Supelco ascentis express C18 250x4,6 mm, 5µm
- Flujo: 1 ml/min
- Detector: UV 280 nm
- Volumen inyección: 5 µl
- Temperatura: 25 °C
- 25 - Fase móvil A: agua
- Fase móvil B: acetonitrilo

TIEMPO (min)	FASE MÓVIL A (v/v)	FASE MÓVIL B (v/v)
0	80	20
0-5	80	20

5-45	20	80
45-55	20	80
55-56	80	20
56-66	80	20

Método HPLC 2:

Condiciones cromatográficas:

- Columna: Supelco discovery C18 150x4,6 mm, 5µm
- Flujo: 1 ml/min
- 5 - Detector: UV 280 nm
- Volumen inyección: 25 µl
- Temperatura: 22 °C
- Fase móvil A: Solución 4,29 g/l de CH₃COONH₄ en agua/metanol/acetonitrilo 90/6/4
- 10 - Fase móvil B: Solución 38,6 g/l de CH₃COONH₄ en agua/metanol/acetonitrilo 10/54/36

TIEMPO (min)	FASE MÓVIL A (v/v)	FASE MÓVIL 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:

MERCK: TLC gel de sílice 60 F₂₅₄ Láminas de aluminio 20 x 20 cm, cód. 1.0554.0001.

15 **Detector TLC:**

Fosfomolibdato de cerio: se disuelven 25 g de ácido fosfomolibdico y 10 g de sulfato de cerio (IV) en 600 ml de H₂O. Se añaden 60 ml de H₂SO₄ al 98 % y se lleva a 1 l con H₂O. La placa se impregna con la solución y posteriormente se calienta hasta que se detectan los productos.

20 **XPRD:**

El análisis XPRD se realizó utilizando un difractómetro de polvo Bruker D2 Phaser (2.^a edición) operando en geometría Bragg-Brentano, equipado con

un muestreador múltiple rotativo y detector lineal de tipo SSD (Lynxeye). La fuente de rayos X es un tubo de rayos X con un ánodo de cobre que funciona a 30 KV y 10 mA. Para el análisis, se utiliza la radiación X que presenta una longitud de onda correspondiente a la $K\alpha$ media del cobre ($\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$). La radiación $K\beta$ se filtra a través de un filtro de níquel especial.

Se utilizaron portamuestras de silicio «de fondo cero» con una superficie plana sobre la que se extendió la muestra para formar una capa fina. Durante el análisis, se hace girar el portamuestras a una velocidad de 60 rpm.

La exploración se lleva a cabo en el intervalo $4-40^\circ 2\theta$ con incrementos de $0,016^\circ 2\theta$ y un tiempo de adquisición de 1,0 s por cada incremento.

Los difractogramas se elaboraron utilizando el software Bruker DIFFRAC.EVA.

DSC:

El análisis DSC se realizó en una atmósfera inerte (nitrógeno) utilizando un calorímetro diferencial de barrido Perkin Elmer Diamond DSC. Las muestras se prepararon pesando el polvo en crisoles de aluminio de 40 μl , que posteriormente se sellaron antes del análisis. El análisis se realizó en el intervalo de temperatura $25-250^\circ\text{C}$ usando una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

NOTA

El agua utilizada en las descripciones experimentales se debe entender como agua pura a no ser que se indique lo contrario.

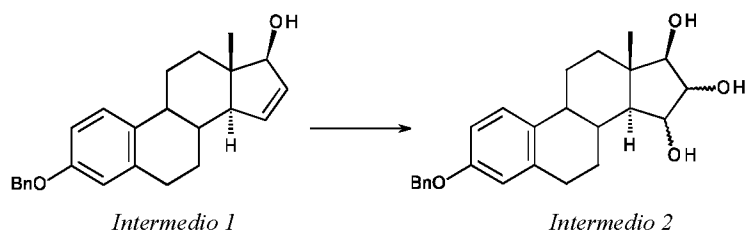
Los solventes orgánicos usados en las descripciones experimentales se deben entender como de tipo «técnico» a no ser que se indique lo contrario.

Los reactivos y catalizadores usados en las descripciones experimentales se deben entender como de calidad comercial a no ser que se indique lo contrario.

El producto QuadraSil® MP está disponible a través de Johnson Matthey.

EJEMPLO 1

Este ejemplo se refiere a la etapa A) del proceso de la invención, del intermedio 1 al intermedio 2.



En un matraz con nitrógeno, se cargaron 32,4 g del intermedio 1 (89,87 mmol, 1 eq) y 356 ml de tetrahydrofurano. Se añadieron 0,324 g de tetróxido de osmio (1,28 mmol, 1 % en peso) y 17,9 g de trimetilamina N-óxido dihidratada (161,26 mmol, 1,8 eq), en este orden, a la solución. El sistema se calentó a 50 °C y se mantuvo en agitación durante 16 horas.

La reacción se controló mediante análisis TLC en las siguientes condiciones: placa TLC: gel de sílice en alúmina; sustrato de partida (intermedio 1) disuelto en diclorometano; mezcla de reacción diluida en diclorometano; eluyente: acetato de etilo (EtOAc); detector fosfomolibdato de cerio.

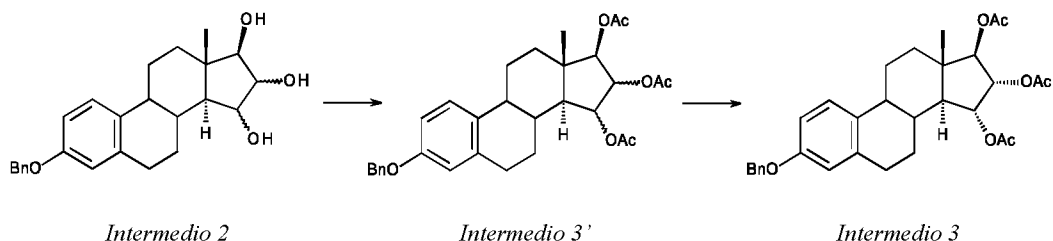
Al término de la reacción, la solución se enfrió hasta 25 °C y se hizo gotear una solución de metabisulfito de sodio (18,3 g) en agua (162 ml). El solvente se concentró a presión reducida y se añadieron al residuo 193 ml de acetato de isopropilo y 290 ml de ácido clorhídrico 1M.

Se añadieron 1,6 g de carbón y 1,6 g de dicalite al sistema bifásico y este se mantuvo en agitación a 25 °C durante 15 minutos. Primero se filtró la suspensión sobre una capa de dicalite y posteriormente en un filtro Millipore (0,22 µm). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con 160 ml de acetato de isopropilo. Se añadieron 1,12 g de QuadraSil® MP a la fase orgánica y el sistema se mantuvo en agitación a 25 °C durante 16 horas. La suspensión se filtró en un filtro Millipore (0,22 µm) lavando con 32 ml de acetato de isopropilo.

La solución obtenida de este modo se utilizó tal cual en la reacción posterior.

EJEMPLO 2

Este ejemplo se refiere a la etapa B) del proceso de la invención.



La solución del intermedio 2 obtenida según se ha descrito en el ejemplo anterior se concentró a presión reducida hasta un volumen residual de 50 ml.

5 Se añadieron 228 ml de piridina y el acetato de isopropilo residual se destiló a presión reducida. Se añadieron 0,877 g de 4-dimetilaminopiridina (7,19 mmol, 0,08 eq) a la solución y a continuación se hizo gotear 29,45 ml de anhídrido acético (312 mmol, 3,47 eq) manteniendo la temperatura por debajo de 30 °C. La solución se mantuvo en agitación a 25 °C durante 4 horas.

10 La reacción se controló mediante análisis TLC en las siguientes condiciones: placa TLC: gel de sílice en alúmina; sustrato de partida (intermedio 2) disuelto en diclorometano; mezcla de reacción apagada en HCl 1M y extraída con EtOAc, se ha depositado la fase orgánica; eluyente: EtOAc; detector: fosfomolibdato de cerio.

15 La mezcla de reacción se concentró a presión reducida hasta un volumen residual de 85 ml y se añadieron 250 ml de acetato de isopropilo y 125 ml de agua. Al sistema bifásico se le añadieron 55 ml de ácido clorhídrico al 37 %, manteniendo la temperatura por debajo de 30 °C (pH final de la fase acuosa = 1).

20 Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó dos veces con solución saturada de bicarbonato de sodio (2 x 90 ml) y posteriormente con solución saturada de cloruro de sodio (90 ml).

25 La fase orgánica se concentró a presión reducida hasta formar un residuo oleoso. Se añadieron 100 ml de metanol y la mezcla se concentró de nuevo a presión reducida hasta formar una pasta. Se añadieron 210 ml de metanol y el sistema se puso en reflujo durante 15 minutos. La suspensión se enfrió hasta 25 °C y se mantuvo en agitación durante 16 horas. El sólido se filtró en un büchner lavando con 35 ml de metanol. El sólido se secó a presión reducida a 45 °C durante 3 horas.

30 Se obtuvieron 28,4 g de sólido que constituye el intermedio 3'; con un análisis HPLC (método 1) se detectó un contenido de isómero 15 β ,16 β ,17 β = 1,6 %.

35 El sólido (28 g) se disolvió con 168 ml de metanol y el sistema se puso en reflujo durante 15 minutos. La suspensión se enfrió hasta 25 °C y se mantuvo en agitación durante 16 horas. El sólido se filtró en un büchner lavando con 28 ml de metanol, y a continuación se secó a presión reducida a 45 °C durante 3 horas. Se obtuvieron 24 g de producto (HPLC, método 1): isómero 15 β ,16 β ,17 β = 0,18 %).

El sólido (23,5 g) se disolvió con 140 ml de metanol y el sistema se puso en reflujo durante 15 minutos. La suspensión se enfrió hasta 25 °C y se

mantuvo en agitación durante 16 horas. El sólido se filtró en un büchner lavando con 23 ml de metanol y se secó al vacío a 45 °C durante 3 horas.

Se obtuvieron 22,1 g del intermedio 3 (sólido casi blanco).

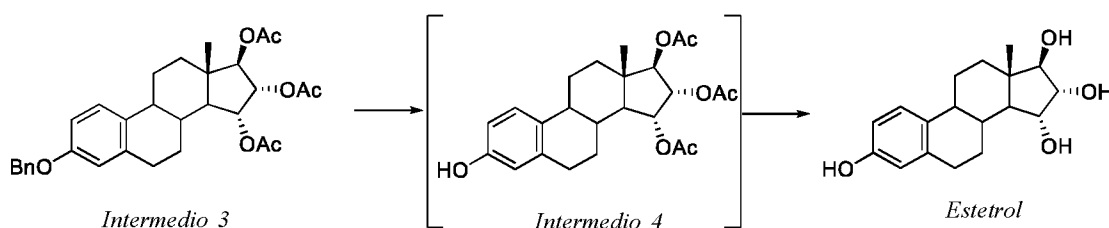
Pureza HPLC (método 1): 97,5 %, isómero 15 β ,16 β ,17 β = 0,07 %.

- 5 ^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,39-7,26 (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).

Masa (CI): m/z = 521 [$\text{M}^+ + 1$].

10 **EJEMPLO 3**

Este ejemplo se refiere a la implementación de la etapa C) del proceso de la invención.



- 15 Se cargaron 21,6 g del intermedio 3 obtenido según se ha descrito en el ejemplo anterior y 154 ml de tetrahidrofurano en un matraz.

Se añadieron 2,2 g de QuadraSil[®] MP a la solución y el sistema se mantuvo en agitación a 25 °C durante 16 horas. La suspensión se filtró en un filtro Millipore (0,22 μm) lavando con 22 ml de tetrahidrofurano. El solvente se concentró a presión reducida hasta formar una pasta.

- 20 El residuo se disolvió con 650 ml de metanol y se cargó en un reactor de hidrogenación. A la suspensión se le añadieron 2,05 g de paladio al 10 % en carbón y se llevó a cabo la hidrogenación a 45 °C y 3 bar durante 22 horas.

- 25 La reacción se controló mediante análisis TLC en las siguientes condiciones: placa TLC: gel de sílice en alúmina; sustrato de partida (intermedio 3) disuelto en diclorometano; mezcla de reacción diluida con metanol; eluyente: heptano/EtOAc 1/1; detector: fosfomolibdato de cerio. Al término de la reacción, el sistema se filtró sobre una capa de dicalite (30 g) lavando con metanol (120 ml).

- 30 El solvente se concentró a presión reducida hasta un volumen residual de 430 ml y se añadieron 5,16 g de carbonato de potasio. La mezcla se

5 mantuvo en agitación a 25 °C durante 4 horas. La reacción se controló mediante análisis TLC en las siguientes condiciones: placa TLC: gel de sílice en alúmina; producto intermedio 4 disuelto en diclorometano; mezcla de reacción apagada en HCl 1M y extraída con EtOAc, se ha depositado la fase orgánica; eluyente: heptano/EtOAc 1/1; detector: fosfomolibdato de cerio. La suspensión se filtró en un filtro Millipore (0,22 µm) lavando con metanol (20 ml).

La solución se concentró a presión reducida hasta un volumen residual de 54 ml, se añadieron 162 ml de agua y el metanol residual se eliminó a presión reducida.

10 La suspensión obtenida se neutralizó con 40 ml de ácido clorhídrico 1M y se enfrió hasta 10 °C agitando durante 30 minutos. El sólido se filtró en un büchner lavando con agua y se secó a presión reducida a 50 °C durante 6 horas.

Se obtuvieron 13 g de Estetrol bruto (sólido blanco).

15 **EJEMPLO 4**

Este ejemplo se refiere a la implementación de la etapa D) del proceso de la invención.

20 El Estetrol bruto, obtenido según lo descrito en el ejemplo anterior, se disolvió en 91 ml de tetrahidrofurano. Se añadieron 0,4 g de QuadraSil® MP a la solución y el sistema se mantuvo en agitación a 25 °C durante 16 horas. La suspensión se filtró en Millipore (0,22 µm) lavando con 25 ml de tetrahidrofurano. El solvente se eliminó a presión reducida y se añadieron 130 ml de acetonitrilo y 104 ml de metanol. El sistema se mantuvo en agitación a 25 °C hasta su completa disolución.

25 La solución se concentró a presión reducida hasta un volumen residual de 130 ml y se añadieron 104 ml de acetonitrilo. El sistema se concentró de nuevo a presión reducida hasta un volumen residual de 130 ml y se añadieron 104 ml de acetonitrilo.

30 El sistema se concentró a presión reducida hasta un volumen residual de 130 ml y se mantuvo en agitación a 25 °C durante 3 horas. La suspensión se enfrió hasta 5 °C y se mantuvo en agitación durante 1 hora. El sólido se filtró en un büchner lavando con acetonitrilo frío, y se secó a presión reducida durante 3 horas a 45 °C.

35 Se obtuvieron 10,5 g de producto, que se analizó mediante HPLC (método HPLC 2). Los resultados de la prueba se muestran en la figura 1: el producto ha resultado ser Estetrol de pureza HPLC = 99,91 %, con el isómero 15β,16β,17β no detectable (el pico en un tiempo de retención de

aproximadamente 18' no es atribuible al producto, sino a la propia elución cromatográfica).

Una muestra del producto se sometió a análisis XPRD; el resultado de la prueba es el difractograma que se muestra en la parte superior de la figura 3.

- 5 La tabla que se muestra a continuación muestra las posiciones (como valores de ángulo $2\theta \pm 0,2^\circ$) y las intensidades relativas de los principales picos del difractograma:

Ángulo de difracción (2θ)	Intensidad relativa (%)
$7,49 \pm 0,2$	6,9
$12,177 \pm 0,2$	4,4
$12,324 \pm 0,2$	16,8
$12,819 \pm 0,2$	100,0
$13,769 \pm 0,2$	8,4
$14,919 \pm 0,2$	7,7
$17,408 \pm 0,2$	9,5
$19,357 \pm 0,2$	4,7
$19,618 \pm 0,2$	12,1
$19,976 \pm 0,2$	25,3
$20,57 \pm 0,2$	26,8
$20,911 \pm 0,2$	55,4
$21,909 \pm 0,2$	18,6
$23,487 \pm 0,2$	5,6
$24,41 \pm 0,2$	4,3

Otra muestra con un peso de 8 mg del producto obtenido se sometió a la prueba DSC; el resultado de la prueba se representa en la figura 4, que muestra que el producto posee una T de fusión de aproximadamente $244,5^\circ\text{C}$.

10

EJEMPLO 5

Este ejemplo se refiere a la implementación de la etapa E) del proceso de la invención.

5 Se disolvieron 8 g de Estetrol obtenido en el ejemplo 4 en 96 ml de metanol y se hizo gotear 240 ml de agua en la solución preparada de este modo. El sistema se concentró a presión reducida hasta que se eliminó completamente el metanol. La suspensión se mantuvo en agitación a 15 °C durante 30 minutos y el sólido se filtró en un büchner lavando con 56 ml de agua.

10 El sólido se secó a presión reducida a 45 °C durante 6 horas. Se obtuvieron 8,3 g de Estetrol monohidrato (sólido blanco) y se analizaron mediante HPLC (método 2). Los resultados de la prueba se muestran en la figura 2: el producto ha resultado ser Estetrol monohidrato de pureza HPLC = 100 % (el pico en un tiempo de retención de aproximadamente 18' no es atribuible al producto, sino a la propia elución cromatográfica).

15 Una muestra del producto se sometió a análisis XPRD; el resultado de la prueba es el difractograma que se muestra en la parte inferior de la figura 3. La siguiente tabla muestra las posiciones (como valores de ángulo $2\theta \pm 0,2^\circ$) y las intensidades relativas de los principales picos del difractograma.

Ángulo de difracción (2θ)	Intensidad relativa (%)
6,846 $\pm$ 0,2	71,8
12,058 $\pm$ 0,2	8,3
12,533 $\pm$ 0,2	100,0
13,226 $\pm$ 0,2	4,9
13,586 $\pm$ 0,2	76,9
14,953 $\pm$ 0,2	6,1
17,501 $\pm$ 0,2	10,4
18,589 $\pm$ 0,2	6,8
20,845 $\pm$ 0,2	40,4
21,728 $\pm$ 0,2	5,0
23,109 $\pm$ 0,2	11,3

Ángulo de difracción (2 θ)	Intensidad relativa (%)
25,363 $\pm$ 0,2	6,7
30,698 $\pm$ 0,2	4,2
34,609 $\pm$ 0,2	7,6
38,320 $\pm$ 0,2	9,2

Otra muestra con un peso de 3,4 mg del producto obtenido se sometió a la prueba DSC; el resultado de la prueba se representa en la figura 5, que muestra un primer pico ensanchado con un máximo a aproximadamente 107,4 °C, atribuido a la deshidratación del Estetrol monohidrato, y un segundo pico a aproximadamente 244 °C, esto es, a una temperatura correspondiente fundamentalmente a la temperatura de fusión del Estetrol observada en la prueba de la figura 4.

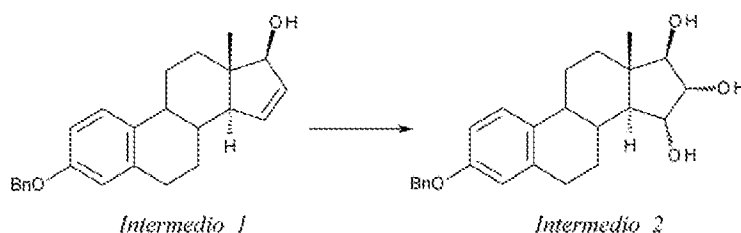
¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9,0 (s, 1H); 7,05 (d, 1H, J = 8,4 Hz); 6,51-6,48 (m, 1H); 6,27 (d, 1H, J = 2,4 Hz); 4,86-4,85 (d, 1H, J = 4,8 Hz); 4,61-4,59 (d, 1H, J = 5,6 Hz); 4,27-4,26 (d, 1H, J = 6 Hz); 3,72-3,66 (m, 2H); 3,26-3,24 (t, 1H, J = 5,6 Hz); 2,72-2,68 (m, 2H); 2,22-2,18 (m, 2H); 2,1-2,05 (m, 1H); 1,76-1,73 (d, 1H, 12 Hz); 1,4-1,03 (m, 5H); 0,66 (s, 3H).

Masa (CI): m/z = 305 [M⁺+1].

REIVINDICACIONES

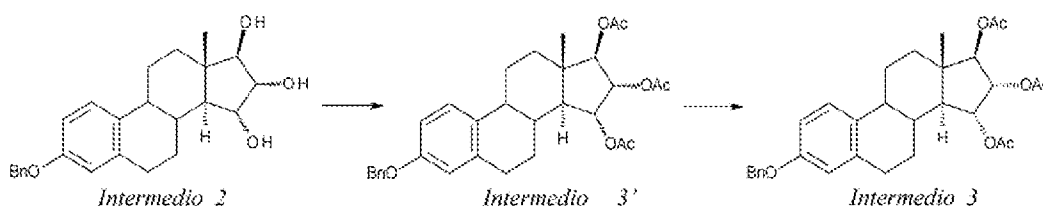
1. Proceso para la síntesis de Estetrol, (15 α ,16 α ,17 β)-estra-1,3,5(10)-trieno-3,15,16,17-tetrol, comprendiendo las siguientes etapas:

- 5 A) oxidación del compuesto (17 β)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10),15-tetraen-17-ol (intermedio 1) para proporcionar el compuesto (17 β)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10)-trieno-15,16,17-triol (intermedio 2):

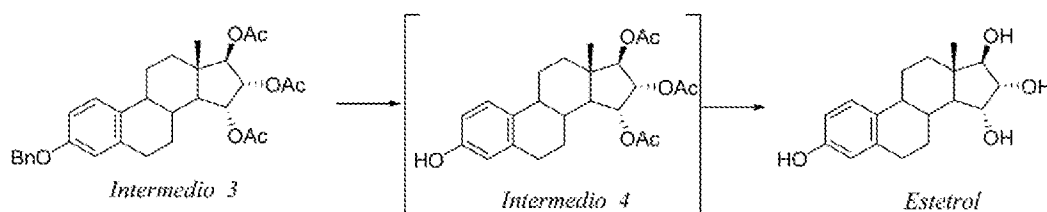


donde Bn = bencilo, y en el que la configuración de los átomos de carbono 15 y 16 del esqueleto esteroidal no es fija;

- 10 B) acetilación del intermedio 2 para proporcionar el compuesto (15 α ,16 α ,17 β)-3-(fenilmetoxi)-estra-1,3,5(10)-trieno-15,16,17-triol triacetato (intermedio 3) pasando por el intermedio 3' en el que la configuración de los átomos de carbono 15 y 16 del esqueleto esteroidal no es fija;



- 15 C) transformación del intermedio 3, pasando por el compuesto (15 α ,16 α ,17 β)-3-hidroxi-estra-1,3,5(10)-trieno-15,16,17-triol triacetato (intermedio 4), que preferiblemente no está aislado, en Estetrol:



- 20 D) purificación del Estetrol obtenido en la etapa C); en la que la reacción de desbencilación de la etapa C), del intermedio 3 al intermedio 4, se lleva a cabo mediante hidrogenación con gas hidrógeno

en presencia de un catalizador en las condiciones siguientes:

- uso de paladio sobre carbón (Pd/C) al 5 % o al 10 % en peso, como catalizador;
 - presión de hidrógeno entre 1 y 6 bares;
 - 5 - un alcohol alifático C1-C6 lineal o ramificado como disolvente de la reacción;
 - tiempo de reacción de al menos 16 horas;
 - temperatura de hidrogenación entre 30 y 60 °C.
- 10 2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, donde la etapa A) se lleva a cabo utilizando tetróxido de osmio (OsO_4) tal cual o soportado en un polímero como oxidante y una amina N-óxido orgánica como cooxidante, operando en un solvente inerte a los derivados del osmio, a una temperatura de entre 35 y 60 °C, y durante un período de al menos 12 horas.
- 15 3. Proceso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la etapa A) se lleva a cabo utilizando tetróxido de osmio (OsO_4) tal cual como oxidante y trimetilamina N-óxido dihidratada como cooxidante, operando en tetrahidrofurano (THF) como solvente, a una temperatura de entre 45 y 55 °C, y
- 20 durante un período de al menos 16 horas.
4. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa B) la reacción de acetilación exhaustiva del intermedio 2 al intermedio 3' se lleva a cabo utilizando anhídrido acético como reactante en un
- 25 solvente seleccionado de entre acetato de isopropilo, acetato de etilo, tetrahidrofurano, piridina y tolueno, en presencia de una base inorgánica u orgánica, de un catalizador y posiblemente de cantidades catalíticas de anhídrido trifluoroacético, y operando a una temperatura de entre 5 y 40 °C durante un período de al menos 3 horas.
- 30 5. Proceso de acuerdo con la reivindicación 4, donde la reacción de acetilación exhaustiva del intermedio 2 al intermedio 3' de la etapa B) se lleva a cabo en piridina como solvente, 4-dimetilaminopiridina como catalizador, operando a una temperatura de entre 20 y 30 °C durante un período de al
- 35 menos 4 horas.

6. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa B) la purificación del intermedio 3' para proporcionar el intermedio 3 se lleva a cabo con la siguiente secuencia de operaciones:

- 5 B.1) reflujar el intermedio 3' que se quiere purificar en un alcohol alifático C1-C6 lineal o ramificado, durante al menos 10 minutos, preferiblemente durante al menos 15 minutos;
- B.2) agitar la suspensión del intermedio 3' que se quiere purificar en un alcohol alifático C1-C6 lineal o ramificado, a una temperatura de entre 15 y 35 °C,
10 preferiblemente de entre 20 y 30 °C e incluso más preferiblemente de entre 23 y 27 °C durante un período de entre 2 y 24 horas, preferiblemente durante un período de entre 3 y 18 horas, incluso más preferiblemente durante un período de entre 4 y 16 horas;
- B.3) recuperar el intermedio 3 purificado mediante filtración.

15

7. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la reacción de hidrólisis de la etapa C), del intermedio 4 a Estetrol, se lleva a cabo en las siguientes condiciones:

- uso de carbonato de sodio, carbonato de potasio o carbonato de litio como
20 base;
- tiempo de reacción de al menos 2 horas;
- temperatura de reacción entre 10 y 40 °C.

8. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la etapa D) se lleva a cabo mediante cristalización caliente-frío, en un solvente seleccionado de entre tetrahidrofurano, metanol y acetonitrilo.

9. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, comprendiendo, además, una etapa adicional E) en la que el Estetrol producido
30 en la etapa D) se transforma en Estetrol monohidrato según la siguiente secuencia de operaciones:

- E.1) disolver el Estetrol puro en forma anhidra en un solvente orgánico miscible con agua, como acetona, metanol, etanol, isopropanol, tetrahidrofurano, dimetilformamida o dimetilacetamida hasta su solución
35 completa;

- E.2) mezclar la solución del punto E.1) con agua, preferiblemente agua pura;
 - E.3) eliminar el solvente orgánico mediante destilación, preferiblemente a presión reducida;
 - E.4) mantener la suspensión en agitación, preferiblemente durante al menos
- 5 15 minutos a una temperatura comprendida entre 5 y 20 °C;
- E.5) filtrar y lavar el sólido;
 - E.6) secar el sólido durante al menos 5 horas a al menos 40 °C y presión reducida.

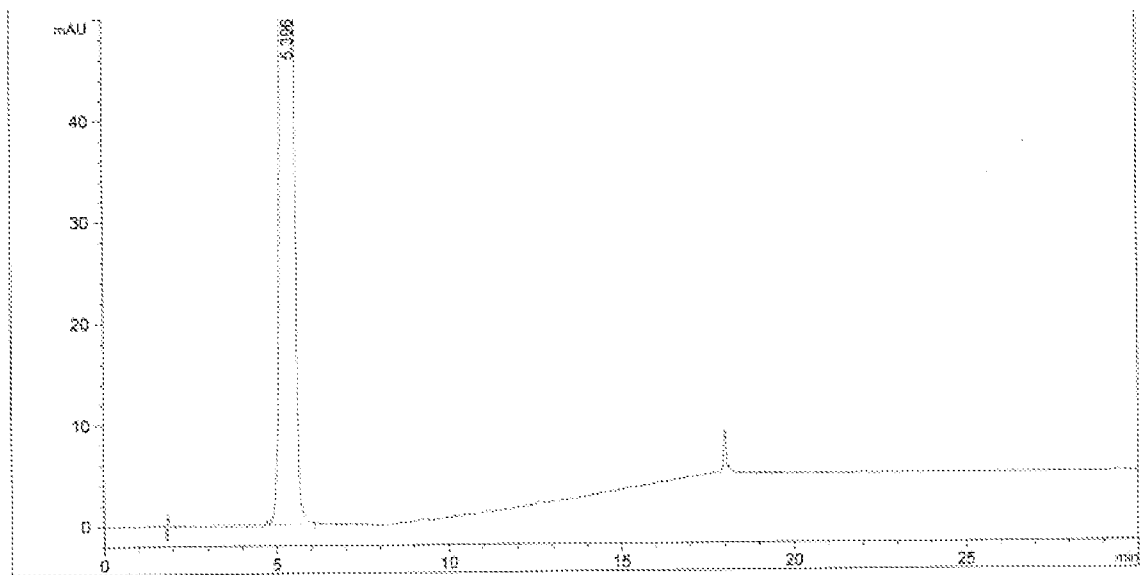


Figura 1

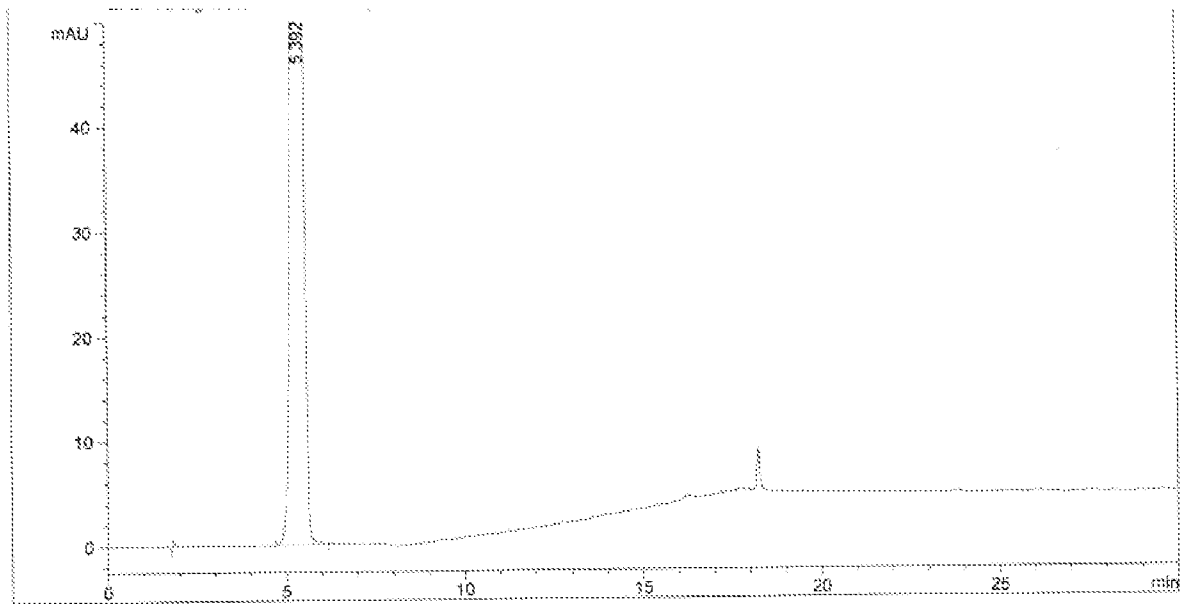


Figura 2

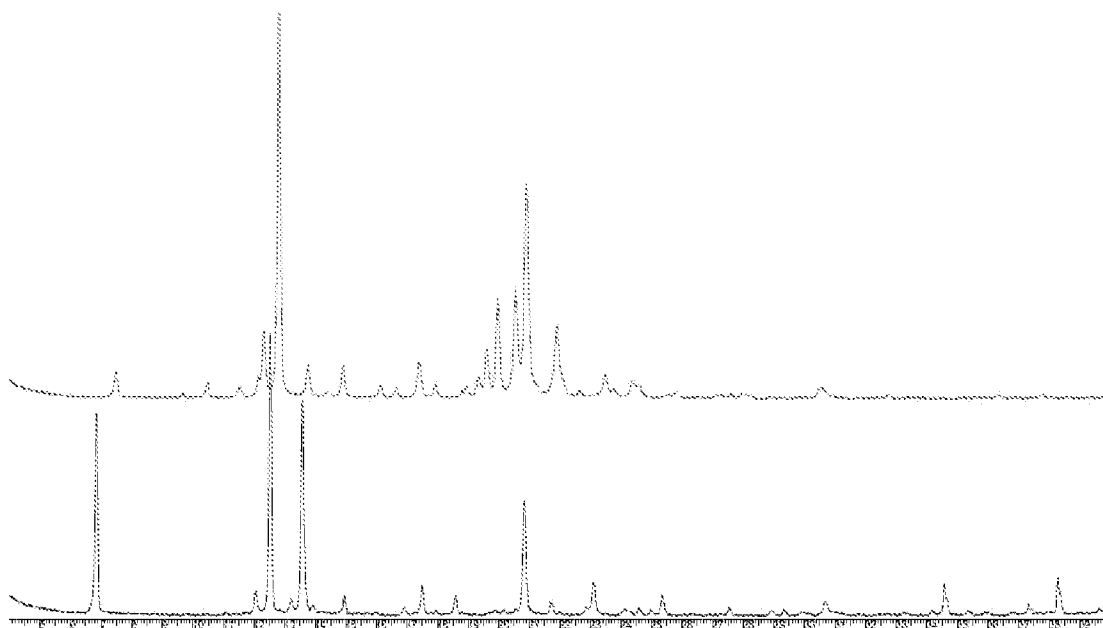


Figura 3

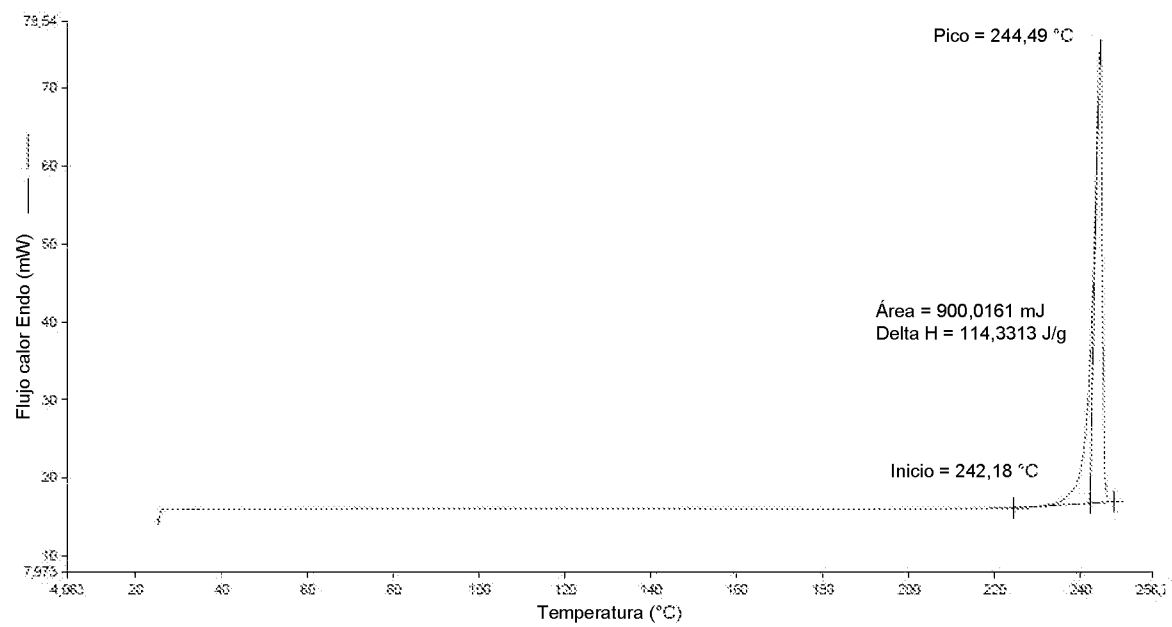


Figura 4

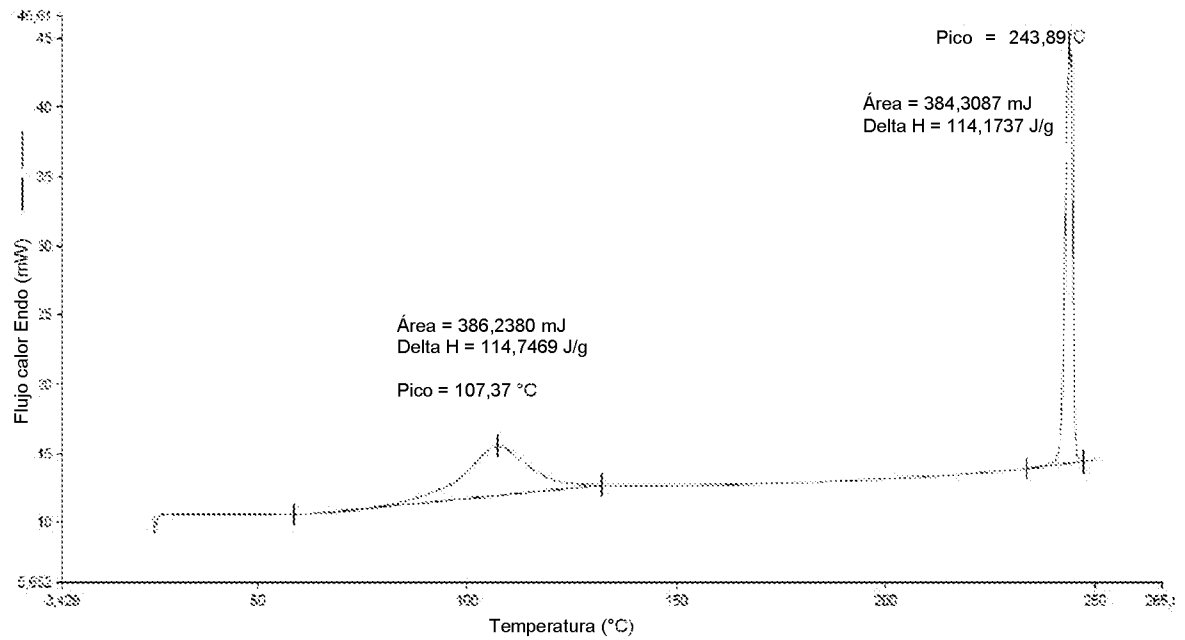


Figura 5