(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

COURBEVOIE

(11) **N° de publication :** ***3 145 563***

(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) **N° d'enregistrement national :** **24 01020**

(51) Int Cl[8] : ***C 07 C 39/17*** *(2024.01), C 07 C 35/44*

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt :** 01.02.24.

(30) **Priorité :** 02.02.23 EP PCT/EP2023/052547.

(43) **Date de mise à la disposition du public de la demande :** 09.08.24 Bulletin 24/32.

(56) **Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire :** *Ce dernier n'a pas été établi à la date de publication de la demande.*

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés :**

( ) **Demande(s) d'extension :**

(71) **Demandeur(s) :** *INDUSTRIALE CHIMICA S.R.L.* *Société régie selon les lois d'Italie* — IT.

(72) **Inventeur(s) :** LENNA Roberto, BALDRIGHI Michele et MOSCHENI Daniele.

(73) **Titulaire(s) :** INDUSTRIALE CHIMICA S.R.L. Société régie selon les lois d'Italie.

(74) **Mandataire(s) :** WEINSTEIN SERVICES & CONSEILS.

(54) Procédé de préparation de (15α,16α,17β)-estra-1,3,5(10)-triène-3,15,16,17-tétrol (estétrol) monohydraté.

(57) La présente invention concerne un procédé de préparation de (15α,16α,17B)-estra-1,3,5(10)-triène-3,15,16,17-tétrol monohydraté, également appelé estétrol monohydraté, ayant la formule décrite ci-dessous :

FR 3 145 563 - A1

Description

Titre de l'invention : Procédé de préparation de (15α,16α,17β)-estra-1,3,5(10)-triène-3,15,16,17-tétrol (estétrol) monohydraté

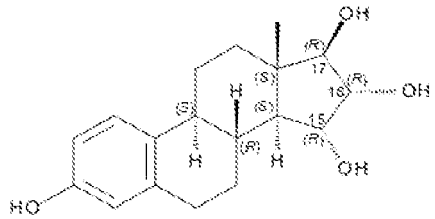
DOMAINE DE L'INVENTION

[0001] La présente invention concerne le domaine des procédés de synthèse de principes actifs à usage pharmaceutique (API), et en particulier un procédé de préparation à l'échelle industrielle du composé (15α,16α,17β)-estra-1,3,5(10)-triène-3,15,16,17-tétrol monohydraté, également appelé estétrol monohydraté.

ÉTAT DE LA TECHNIQUE

[0002] L'estétrol est un principe actif ayant une activité pharmacologique qui le rend utile pour le traitement hormonal substitutif (THS), dans la contraception féminine ou dans le traitement des dysfonctionnements auto-immuns liés aux déséquilibres hormonaux. Le composé est un produit naturel isolé à partir d'urine humaine et est connu depuis des années ; il a été décrit pour la première fois dans l'article « Synthesis of epimeric 15-hydroxyestriols, new and potential metabolites of estradiol », J. Fishman et al., JOC vol. 33, n° 8, août 1968, p. 3133-3135 (composé Ia de la figure à la page 3133).

[0003] La formule structurale de l'estétrol est présentée ci-dessous :



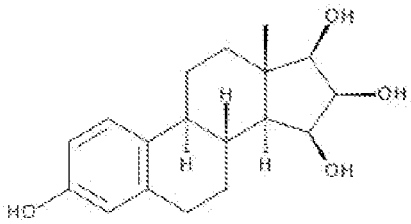
Estétrol

[0004] Les positions 15, 16 et 17 du squelette stéroïdien (mis en évidence dans la formule présentée ci-dessus) comportent chacune un radical hydroxyle qui, comme indiqué dans la formule structurale ci-dessus, a un agencement spatial défini, à savoir les groupes hydroxy aux positions 15 et 16, ont une configuration α tandis que le groupe hydroxy à la position 17 a une configuration β.

[0005] La teneur en impuretés inférieure à une limite définie dans un principe actif est une condition obligatoire pour permettre son utilisation dans des préparations pharmaceutiques ; les limites acceptées par les directives internationales pour les substances pharmaceutiques sont de 0,1 % pour celles inconnues et de 0,15 % pour celles identifiées. La capacité à respecter ces limites est donc une caractéristique fondamentale pour définir un procédé applicable dans l'industrie. Tout procédé, quel que

soit le rendement, fournissant un API avec une teneur en impuretés qui ne respecte pas les limites ci-dessus n'est pas utile dans l'industrie étant donné que l'API obtenu ne peut bénéficier d'une autorisation de mise sur le marché par les autorités compétentes (EMA, FDA, etc.).

[0006] Dans le cas de l'estétrol, la littérature scientifique et des brevets s'est jusqu'à présent concentrée sur des procédés visant à produire le composé avec un rendement élevé, de manière à être adapté à une application industrielle et avec la pureté élevée nécessaire pour les produits pharmaceutiques ; en particulier, un des objectifs des procédés industriels est d'éviter la présence de l'isomère 15β,16β,17β du composé, de la formule structurale ci-dessous, à partir duquel l'estétrol doit être purifié de façon à être utilisé dans des préparations pharmaceutiques :



Isomère 15β,16β,17β

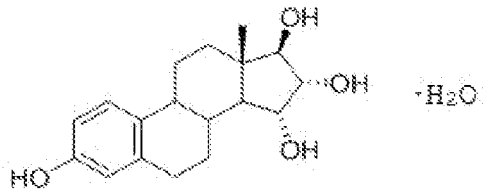
[0007] La demande de brevet WO 2004/041839 A2 (page 6, lignes 5-10) décrit un procédé d'obtention d'estétrol dont la pureté peut atteindre 99 %, la somme des impuretés individuelles ne dépassant pas 1 %.

[0008] Les demandes ultérieures relatives à la production d'estétrol sont, par exemple, WO 2012/164096 A1, WO 2013/034780 A1, WO 2013/050553 A1, WO 2015/040051 A1, WO 2015-086643 A1 et WO 2021/044302 A1 ; par exemple, le document WO 2015/040051 A1 décrit, dans les exemples, l'obtention d'un rapport estétrol/isomère 15β,16β,17β allant jusqu'à 99:1.

[0009] D'autres exigences de l'industrie pharmaceutique sont liées à la stabilité et à l'aptitude au traitement des composés d'intérêt.

[0010] Les molécules actives peuvent être plus stables lorsqu'elles sont fournies sous forme de sels, de complexes ou de solvates, à partir desquels la molécule peut être aisément libérée dans des conditions métaboliques ; en outre, les molécules actives sont presque invariablement formulées avec des excipients pour produire des compositions administrables, dans lesquelles les excipients remplissent différentes fonctions telles que le contrôle du taux de libération du composant actif, le masquage d'un goût désagréable, l'ajustement de l'unité de dosage à un poids et un volume manipulables, etc.

[0011] Une forme utile d'estétrol est le monohydrate, c'est-à-dire un solvate du composé avec de l'eau dans un rapport stœchiométrique 1:1 ; l'estétrol monohydraté pouvant être représenté comme suit :



[0012] Les publications de brevet ci-dessus concernent le procédé de synthèse de l'estétrol et des sels ou solvates du composé sont mentionnés au passage, par exemple dans WO 2015-086643 A1, ou pas du tout mentionnés ; aucune desdites publications ne fait mention d'un procédé reproductible de préparation de l'estétrol monohydraté à l'échelle industrielle et avec le niveau de pureté nécessaire.

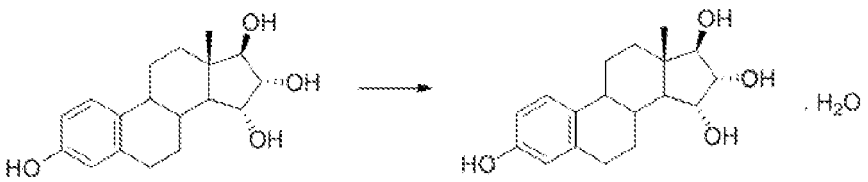
[0013] La demande de brevet WO 2021/058716 A1, au nom du présent demandeur, décrit un procédé de production d'estétrol monohydraté, qui consiste à dissoudre de l'estétrol anhydre dans un solvant organique miscible dans l'eau, mélanger la solution obtenue avec de l'eau, éliminer le solvant organique par distillation pour obtenir une suspension, maintenir la suspension sous agitation, puis filtrer, laver et enfin sécher le solide sous pression réduite. Le procédé de WO 2021/058716 A1 est fiable et fournit de façon fiable de l'estétrol monohydraté de qualité et de pureté adaptées pour l'application prévue, mais met en œuvre l'utilisation de solvants organiques qui doivent être distillés puis récupérés, ce qui ajoute du temps et des coûts à l'ensemble du processus ; en outre, il est nécessaire de veiller avec le plus grand soin à ce que le solvant soit complètement éliminé et ne soit pas présent dans les unités posologiques finales.

[0014] Il est un objet de la présente invention de fournir un procédé de préparation d'estétrol monohydraté qui est adapté à une application industrielle, fournissant le composé en qualité pharmaceutique, tout en évitant l'utilisation de solvants organiques.

RÉSUMÉ DE L'INVENTION

[0015] L'objet de la présente invention est de fournir un procédé de préparation d'estétrol monohydraté industriellement applicable, sans avoir recours à des techniques de purification.

[0016] L'invention concerne un procédé de transformation d'estétrol en estétrol monohydraté :



Estétrol *Estétrol monohydraté*

qui comprend la mise en contact d'estétrol anhydre avec de l'eau pure, sous forme de liquide ou de vapeur.

BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS

[0017] Les [[Fig.1]] et [[Fig.2]] représentent les diffractogrammes DRX d'estétrol monohydraté pouvant être obtenus avec le premier mode de réalisation du procédé de l'invention, dans différentes conditions ;

La [[Fig.3]] représente le diffractogramme DRX d'estétrol monohydraté pouvant être obtenu avec le deuxième mode de réalisation du procédé de l'invention.

DESCRIPTION DÉTAILLÉE DE L'INVENTION

[0018] L'invention concerne un procédé de préparation d'estétrol monohydraté à partir d'estétrol anhydre.

[0019] L'estétrol anhydre peut être produit selon l'un quelconque des procédés connus dans l'état de la technique ; un procédé préféré est celui comprenant les étapes A) à D) de WO 2021/058716 A1. L'estétrol anhydre peut être utilisé à la fois sous forme cristalline et sous forme amorphe.

[0020] « Eau pure », dans la présente description et dans les revendications, désigne de l'eau distillée.

[0021] Dans un premier mode de réalisation, l'invention concerne un procédé comprenant la mise en contact d'estétrol anhydre avec de l'eau pure, selon les étapes suivantes :

a) préparation et agitation d'une suspension d'estétrol anhydre dans de l'eau pendant au moins 5 minutes, de façon à obtenir une suspension d'estétrol monohydraté ;

b) filtration de la suspension d'estétrol monohydraté obtenue à l'étape a) pour produire de l'estétrol monohydraté humide ;

c) séchage de l'estétrol monohydraté humide de l'étape b) de façon à obtenir de l'estétrol monohydraté.

[0022] L'agitation de l'étape a) est effectuée à une température comprise entre 5 et 90 °C, de préférence entre 15 et 35 °C.

[0023] Les inventeurs ont étudié l'évolution au cours du temps de la transformation d'estétrol anhydre en estétrol monohydraté, par préparation de suspensions concentrées du composé anhydre dans l'eau, échantillonnage de la suspension concentrée à différents temps, séchage de l'échantillon et analyse de celui-ci par XRPD ; un exemple des résultats obtenus est représenté par les différents diffractogrammes de la [Fig.1]. Les analyses montrent que les signaux correspondant à l'estétrol anhydre disparaissent après seulement quelques minutes d'agitation dans l'eau, en se transformant rapidement en estétrol monohydraté.

[0024] Le séchage de l'étape c) est effectué à une pression inférieure à 800 mbar, de préférence inférieure à 500 mbar, et plus préférablement inférieure à 250 mbar, à une température comprise entre 15 et 50 °C, de préférence entre 15 et 35 °C.

[0025] Dans le deuxième mode de réalisation, l'invention consiste en un procédé de transformation d'estétrol anhydre en estétrol monohydraté par une simple procédure de conditionnement, ledit procédé comprenant une première étape d) d'exposition de poudres d'estétrol anhydre pendant au moins 24 heures à une atmosphère avec au moins 75 % d'humidité relative (HR) à une température comprise entre 20 et 25 °C, et une deuxième étape e) de récupération des poudres d'estétrol monohydraté.

[0026] À la fin de l'étape d), la transformation est terminée et les poudres d'estétrol monohydraté peuvent être simplement récupérées à l'étape e), prêtes à être utilisées dans des formulations pharmaceutiques, sans autre traitement.

[0027] L'étape d) est conduite de préférence sous une atmosphère avec une HR d'au moins 90 % et, indépendamment de la HR, de préférence pendant au moins 36 heures.

[0028] L'invention est davantage illustrée par les exemples ci-après.

INSTRUMENTS EXPÉRIMENTAUX, PROCÉDÉS ET CONDITIONS

HPLC :

Système de chromatographie Agilent modèle 1260 Infinity ; détecteur UV modèle G1315C DAD VL+

Méthode HPLC :

Conditions chromatographiques :

- Colonne : Supelco Discovery C18 150x4,6 mm, 5 µm
- Débit : 1 ml/min
- Détecteur : UV 280 nm
- Volume d'injection : 25 µl
- Température : 22 °C
- Phase mobile A : Solution à 4,29 g/l de CH3COONH4 dans eau/méthanol/acétonitrile 90/6/4
- Phase mobile B : Solution à 38,6 g/l de CH3COONH4 dans eau/méthanol/acétonitrile 10/54/36

Temps (min)	Phase mobile A (v/v)	Phase 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

XPRD :

Les analyses XRPD ont été effectuées à l'aide d'un diffractomètre à poudre Bruker D2 Phaser (2e édition) fonctionnant en géométrie Bragg-Brentano, équipé d'un passeur multi-échantillons rotatif et d'un détecteur linéaire de type SSD (Lynxeye). La source de rayons X était un tube à rayons X avec une anode en cuivre fonctionnant à 30 KV et 10 mA. Pour l'analyse, des rayons X ayant une longueur d'onde correspondant au Kα moyen du cuivre (λ = 1,54184 Å) ont été utilisés. Le rayonnement Kβ a été filtré à travers un filtre en nickel.

[0029] Des porte-échantillons en silicium « zéro bruit de fond » à surface plane ont été utilisés sur lesquels l'échantillon a été étalé pour former une couche mince. Pendant l'analyse, le porte-échantillon tournait à une vitesse de 60 tr/min.

[0030] Le balayage a été effectué dans la plage de 4 à 40° 2θ avec des incréments de 0,016° 2θ et un temps d'acquisition de 1,0 s pour chaque incrément.

[0031] Les diffractogrammes ont été traités au moyen du logiciel Bruker DIFFRAC.EVA.

NOTES

[0032] L'eau utilisée dans les descriptions expérimentales désigne de l'eau pure, sauf indication contraire.

EXEMPLE 1

[0033] Cet exemple fait référence au premier mode de réalisation du procédé de l'invention, l'hydratation de l'estétrol anhydre par suspension dans l'eau.

[0034] 3,0 g d'estétrol anhydre cristallin pur ont été placés dans un flacon de 100 ml.

[0035] De l'eau pure (30 ml, 10 v/m) est ajoutée et le mélange est agité à l'aide d'un agitateur mécanique à 20-25 °C.

[0036] Des échantillons de suspension concentrée sont prélevés après 5 min, 1 h et 4,5 h.

[0037] Les échantillons sont filtrés sous vide, séchés sur filtre pendant 10 min et analysés par XRPD.

[0038] Les résultats des essais XRPD sont présentés sur les figures 1 et 2.

[0039] Sur la [Fig.1], le diffractogramme du bas, indiqué au temps zéro (t = 0 h) concerne l'estétrol anhydre de départ, les trois diffractogrammes intermédiaires concernent les échantillons prélevés aux temps indiqués, tandis que le diffractogramme supérieur a été obtenu avec un échantillon d'estétrol monohydraté pur préparé selon le procédé décrit dans WO 2021/058716 A1, et a été ajouté à titre de référence.

[0040] La [Fig.2] est un agrandissement sur l'axe vertical des deux diffractogrammes à t = 0 h et t = 4,5 h de la [Fig.1], qui permet de contrôler plus aisément la disparition des pics d'estétrol anhydre et l'apparition des pics d'estétrol monohydraté.

[0041] L'échantillon final, après 4,5 h en suspension concentrée, était l'estétrol monohydraté (cristaux blancs, pureté HPLC = 100 %).

[0042] La liste des pics XRPD est présentée dans le tableau 1 ci-dessous :

[Tableaux1]

Angle 2θ (°)	Intensité relative
7,0	8,1 %
12,2	15,4 %
12,6	100,0 %
13,4	11,7 %
13,6	88,3 %
15,0	8,4 %
17,6	10,3 %
18,7	11,8 %
21,0	85,9 %
21,8	9,1 %
23,2	17,9 %
25,3	6,9 %
30,8	6,5 %
34,6	4,4 %
38,4	6,2 %

[0043] La liste de pics dans le tableau 1 correspond, avec l'approximation habituelle de ± 0,2°, aux données rapportées dans WO 2021/058716 A1 pour l'estétrol monohydraté.

EXEMPLE 2

[0044] Cet exemple fait référence au deuxième mode de réalisation du procédé de l'invention, l'hydratation de l'estétrol anhydre dans une chambre à 100 % HR.

[0045] 3,0 g d'estétrol anhydre pur sont placés dans un cristallisoir sous la forme d'une couche mince.

[0046] Le cristallisoir est placé dans un dessiccateur en verre rempli au fond d'eau à $20 < T < 25$ °C.

[0047] Des petits échantillons de poudres sont collectés après 3,5 h, 7 h, 24 h, 48 h et analysés par XRPD. Les diffractogrammes obtenus sont reproduits sur la [Fig.3], dans laquelle le diffractogramme au temps zéro (t = 0 h) concerne l'estétrol anhydre, le diffractogramme du haut, ajouté à titre de référence, a été obtenu avec un échantillon d'estétrol monohydraté pur préparé selon le procédé décrit dans WO 2021/058716 A1, et les quatre diffractogrammes intermédiaires ont été enregistrés sur les échantillons

obtenus après les temps de traitement indiqués.

[0048] L'échantillon final, après 48 h d'exposition sous atmosphère humide, était l'estétrol monohydraté (cristaux blancs, pureté HPLC = 100 %).

[0049] La liste des pics XRPD est présentée dans le tableau 2 ci-dessous :

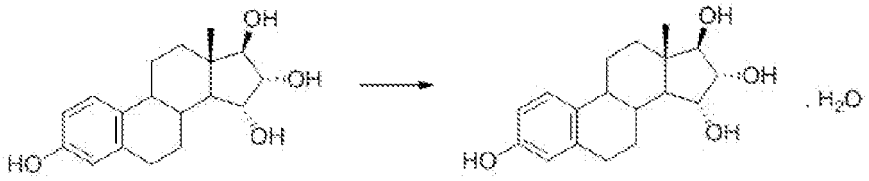
[Tableaux2]

Angle 2θ (°)	Intensité relative
6,9	1,8 %
12,1	9,6 %
12,6	49,9 %
13,2	6,8 %
13,6	45,5 %
15,0	3,4 %
17,5	3,5 %
18,6	2,6 %
20,9	100,0 %
21,7	10,7 %
23,1	4,1 %
25,4	3,5 %
28,9	1,3 %
30,7	1,6 %
34,8	0,9 %
38,4	0,8 %

[0050] La liste de pics dans le tableau 2 correspond, avec l'approximation habituelle de ± 0,2°, aux données rapportées dans WO 2021/058716 A1 pour l'estétrol monohydraté.

Revendications

[Revendication 1] Procédé de transformation de l'estétrol en estétrol monohydraté :



Estétrol Estétrol monohydraté

qui comprend la mise en contact d'estétrol anhydre avec de l'eau pure, sous forme de liquide ou de vapeur.

[Revendication 2] Procédé selon la revendication 1, dans lequel de l'estétrol anhydre est mis en contact avec de l'eau pure sous forme liquide, comprenant les étapes suivantes :

a. préparation et agitation d'une suspension d'estétrol anhydre dans de l'eau pendant au moins 5 minutes, de façon à obtenir une suspension d'estétrol monohydraté ;
b. filtration de la suspension d'estétrol monohydraté obtenue à l'étape a) pour produire de l'estétrol monohydraté humide ;
c. séchage de l'estétrol monohydraté humide de l'étape b) de façon à obtenir de l'estétrol monohydraté.

[Revendication 3] Procédé selon la revendication 2, dans lequel l'étape a) est conduite à une température comprise entre 5 et 90 °C.

[Revendication 4] Procédé selon la revendication 3, dans lequel l'étape a) est conduite à une température de préférence comprise entre 15 et 35 °C.

[Revendication 5] Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 4, dans lequel l'étape c) est conduite à une pression inférieure à 800 mbar.

[Revendication 6] Procédé selon la revendication 5, dans lequel l'étape c) est conduite à une pression inférieure à 500 mbar.

[Revendication 7] Procédé selon la revendication 6, dans lequel l'étape c) est conduite à une pression inférieure à 250 mbar.

[Revendication 8] Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 7, dans lequel l'étape c) est conduite à une température comprise entre 15 et 50 °C.

[Revendication 9] Procédé selon la revendication 8, dans lequel l'étape c) est conduite à une température comprise entre 15 et 35 °C.

[Revendication 10] Procédé selon la revendication 1, dans lequel l'estétrol anhydre est mis en contact avec de l'eau pure sous forme de vapeur, comprenant les

étapes suivantes :

d) exposition de poudres d'estétrol anhydre pendant au moins 24 heures à une atmosphère avec au moins 75 % d'humidité relative (HR) à une température comprise entre 20 et 25 °C ;

e) récupération de l'estétrol monohydraté obtenu à l'étape d).

[Revendication 11] Procédé selon la revendication 10, dans lequel l'étape d) est conduite sous une atmosphère avec une HR d'au moins 90 %.

[Revendication 12] Procédé selon la revendication 10 ou 11, dans lequel l'étape d) est conduite pendant au moins 36 heures.

[Fig. 1]

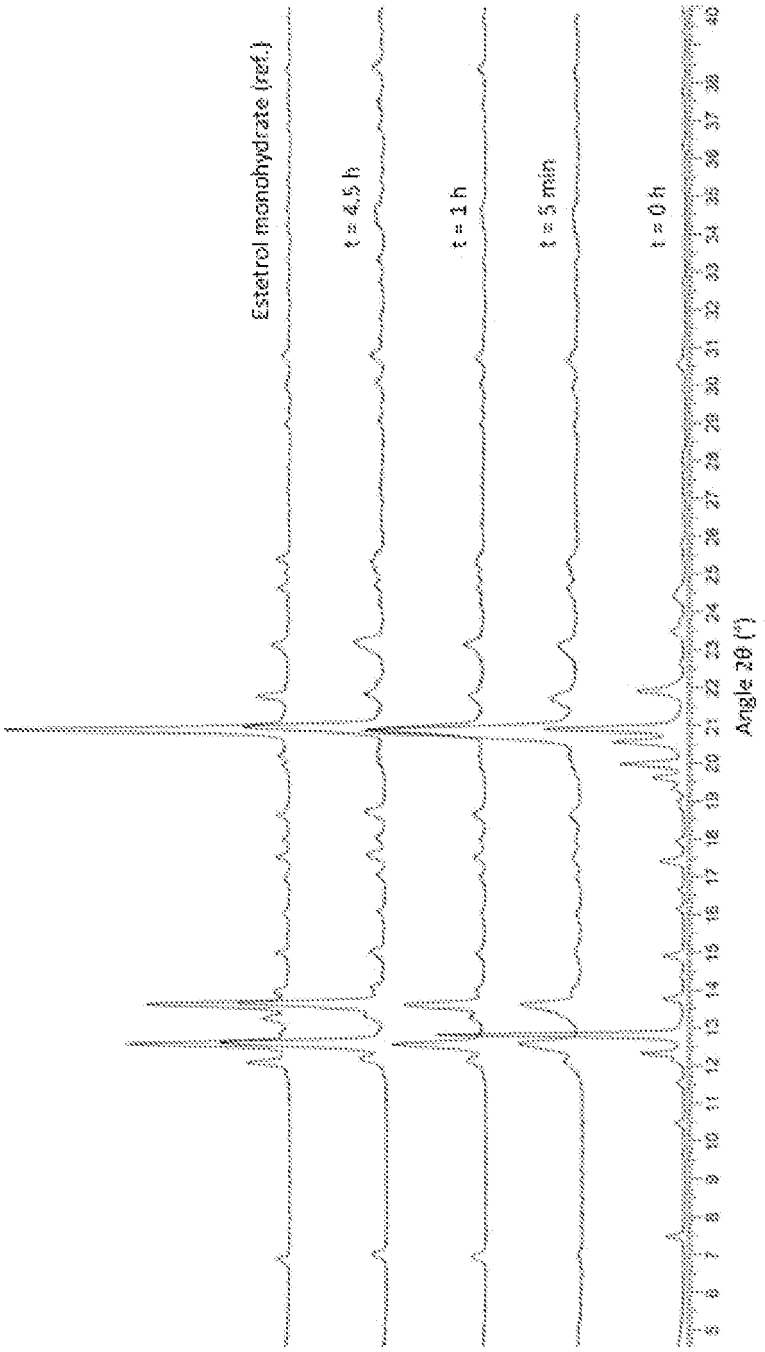


Fig. 1

[Fig. 2]

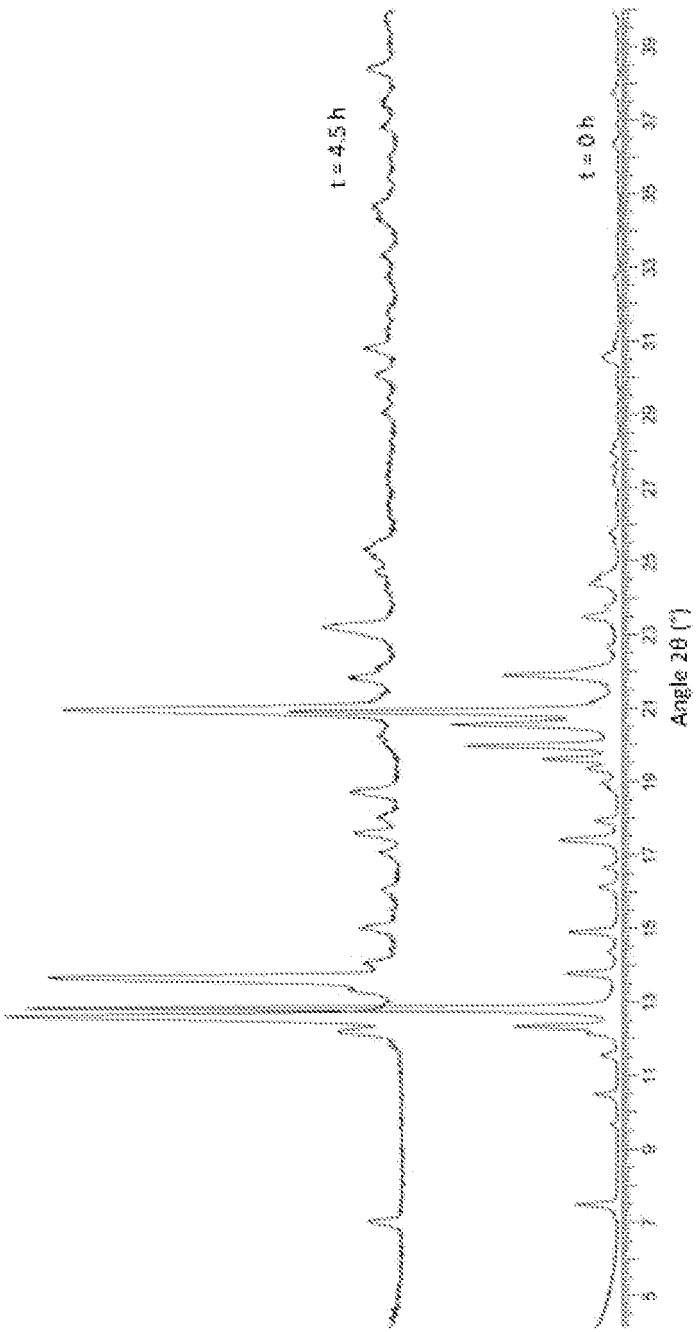


Fig. 2

[Fig. 3]

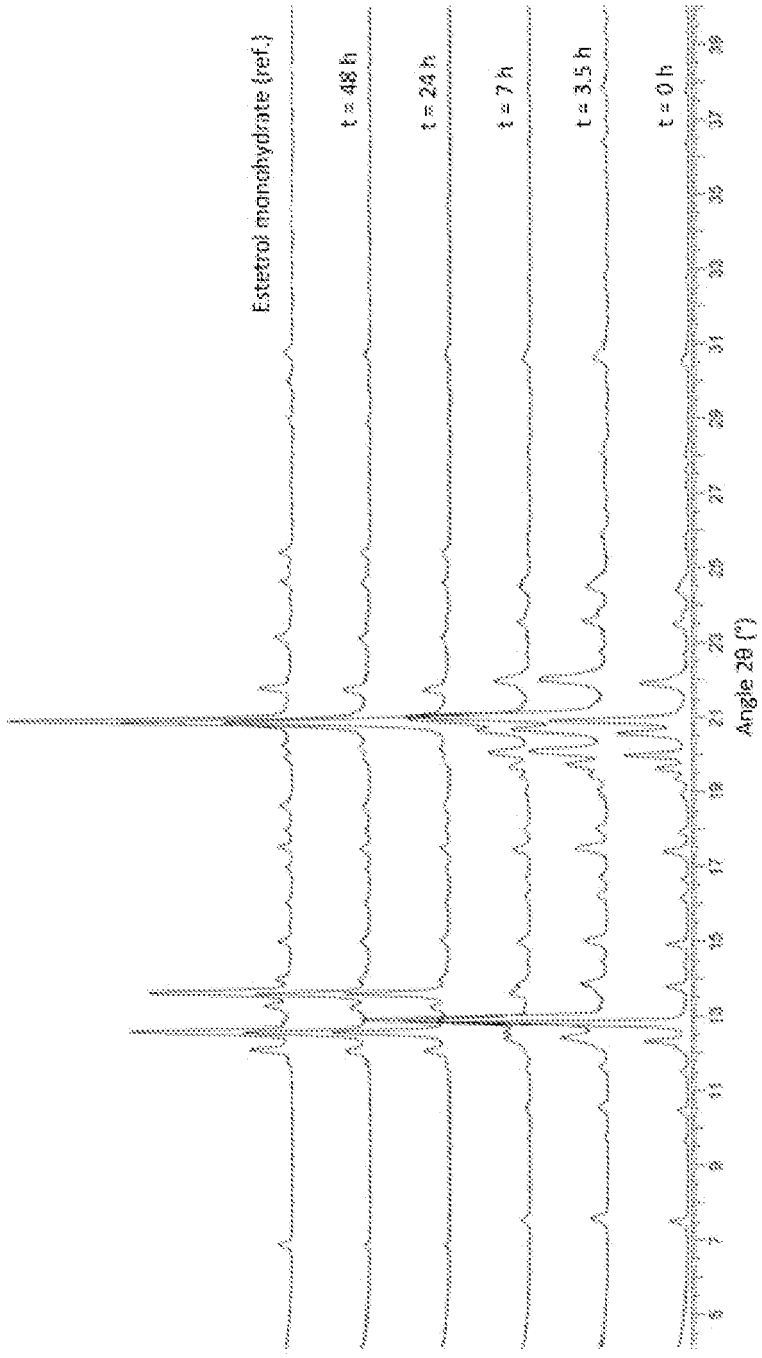


Fig. 3