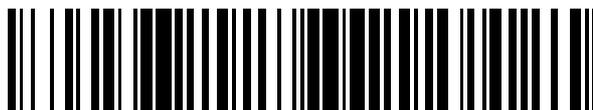


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 441 996**

51 Int. Cl.:

**C07D 491/10** (2006.01)

**A61K 31/55** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.02.2008 E 08706020 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2013 EP 2121701**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de 4a,5,9,10,11,12,-hexahidro-6H-benzofuro[3a,3,2-ef][2]benzazepina altamente pura asi como sus derivados**

30 Prioridad:

**22.02.2007 AT 2802007**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**07.02.2014**

73 Titular/es:

**SANOCHEMIA PHARMAZEUTIKA AG (100.0%)  
BOLTZMANNSGASSE 11  
1090 WIEN, AT**

72 Inventor/es:

**WELZIG, STEFAN;  
GERDENITSCH, ANTON;  
ROTHENBURGER, JAN;  
KOLAR, SUSANNE y  
SCHERLEITHNER, ALEXANDRA**

74 Agente/Representante:

**ROEB DÍAZ-ÁLVAREZ, María**

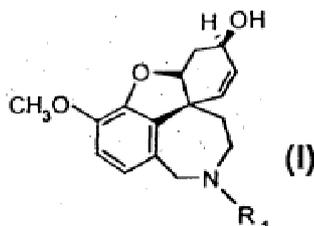
ES 2 441 996 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

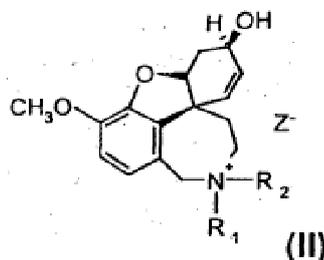
## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la preparación de 4a,5,9,10,11,12,-hexahidro-6H-benzofuro[3a,3,2-ef][2]benzazepina altamente pura así como sus derivados

5 La invención se refiere a procedimientos para la preparación de 4a,5,9,10,11,12,-hexahidro-6H-benzofuro[3a,3,2-ef][2]benzazepina altamente pura así como sus derivados con la fórmula general I y II



y



10 o sales de la misma, en la que R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que está constituido por hidrógeno, hidroxilo, alcoxilo, alquilo de bajo peso molecular, que eventualmente está sustituido con al menos un halógeno, alquenilo de bajo peso molecular, alquinilo de bajo peso molecular, arilo, aralquilo, ariloxialquilo, formilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, alquiloxicarbonilo, ariloxicarbonilo, aralquiloxicarbonilo, alquilsulfonilo, aralquilsulfonilo, arilsulfonilo y en la que R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que está constituido por hidrógeno, formilo, alquilo, alquenilo, arilo, aralquilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, alquiloxicarbonilo, ariloxicarbonilo, aralquiloxicarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, arilsulfonilo y aralquilsulfonilo y en la que Z es un anión de un ácido orgánico farmacéuticamente aceptable o un anión inorgánico.

20 Galantamina es un alcaloide que se produce predominantemente en plantas del tipo *Amaryllidaceae* con alta actividad farmacológica. Ha de destacarse en particular su acción como inhibidor selectivo de acetilcolinesterasa y el uso que está relacionado con esto en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Alzheimer. Las cantidades aisladas de la campanilla de las nieves caucásica que se produce naturalmente *Galanthus Woronoyi* no son sin embargo suficientes para cubrir la demanda de una sustancia bruta  
25 farmacéutica. Desde finales de los años sesenta se conocen por tanto síntesis de galantamina, que sin embargo muestran rutas de reacción en ocasiones largas y no económicas con malos rendimientos totales.

De acuerdo con el documento WO-A-97/110777 debe conseguirse mediante selección dirigida de bromonarwedina como producto de partida una ruta económica para la síntesis de galantamina en tanto que se desbrome bromonarwedina con acetato de paladio (II) con la adición de trifenilfosfina. La narwedina racémica obtenida  
30 contiene sin embargo aproximadamente 700 - 800 ppM de paladio, que no puede separarse tampoco tras tratamiento múltiples veces con carbón activo. También en otras etapas de reacción, tal como la reducción de narwedina racémica, que se describe de acuerdo con el documento WO-A-96/12692 de la parte solicitante, se detecta paladio posteriormente en el producto de reacción a pesar del tratamiento múltiples veces.

Galantamina o derivados de galantamina, que presentan paladio en un volumen de 700 - 800 ppM, no son adecuados sin embargo para la preparación de fármacos, tales como agentes para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, dado que en el organismo pueden producirse reacciones secundarias indeseadas de manera condicionada por los restos de paladio. Según esto están normalizados los valores límite con <5 ppm para la  
40 administración oral de fármacos, véase "Note for Guidance on specification limits for residues of metal catalysts" CPMP/SWP/QWP/4446/00.

La invención se basa por tanto en el objetivo de indicar procedimientos del tipo mencionado anteriormente, con los que puedan cumplirse los valores límite normalizados mencionados anteriormente.

45 De acuerdo con la invención se propone un procedimiento para la preparación de los compuestos mencionados anteriormente con la fórmula general (I) o (II), en el que se desbroma en una etapa de reacción 1 bromonarwedina

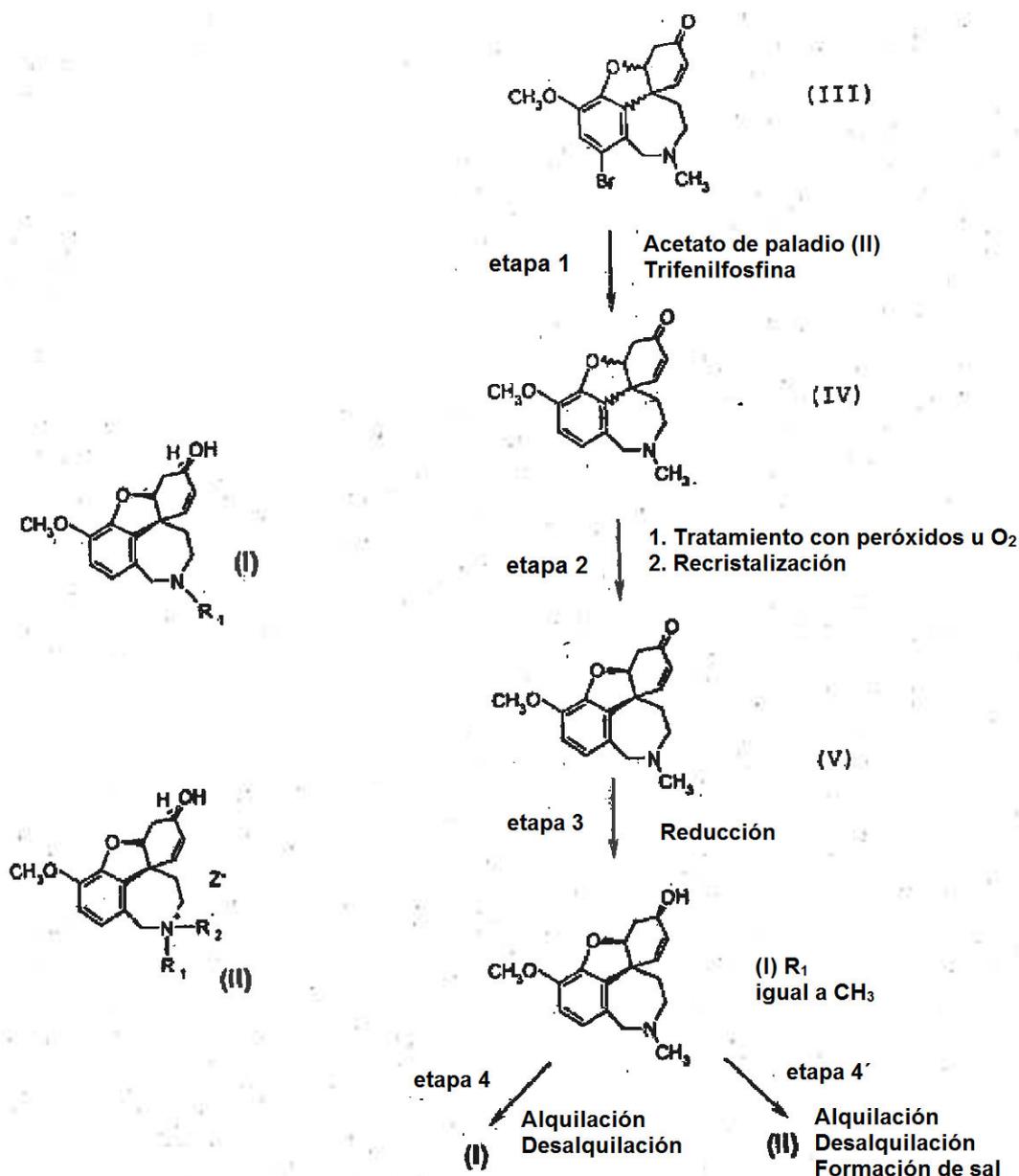
racémica (III) con acetato de paladio (II) y trifenilfosfina, en una etapa de reacción 2 se trata la mezcla de reacción que contiene narwedina racémica (IV)' en contacto con oxígeno y en una se convierte en la narwedina enantioméricamente pura (V) y en el que se obtiene en una etapa de reacción 3 mediante reducción galantamina enantioméricamente pura de fórmula general (I) con R<sub>1</sub> igual a CH<sub>3</sub> y en una etapa de reacción 4 mediante alquilación o desalquilación se obtienen compuestos de fórmula general (I) o en una etapa de reacción 4' mediante alquilación y desalquilación así como formación de sal posterior se obtienen compuestos de fórmula general (II).

5

Como alternativa se propone de acuerdo con la invención un procedimiento para la preparación de los compuestos mencionados anteriormente con la fórmula general (I) o (II), en el que se desbroma en una etapa de reacción 1 bromonarwedina racémica (III) con acetato de paladio (II) y trifenilfosfina, en una etapa de reacción 2 se trata la mezcla de reacción que contiene narwedina racémica (IV) usando peróxidos y en una se convierte en la narwedina enantioméricamente pura (V) y en el que se obtiene en una etapa de reacción 3 mediante reducción galantamina enantioméricamente pura de fórmula general (I) con R<sub>1</sub> igual a CH<sub>3</sub> y en una etapa de reacción 4 mediante alquilación o desalquilación se obtienen compuestos de fórmula general (I) o en una etapa de reacción 4' mediante alquilación y desalquilación así como formación de sal posterior se obtienen compuestos de fórmula general (II).

10

15



Ciertas configuraciones ventajosas del procedimiento de acuerdo con la invención se dan a conocer de acuerdo con las reivindicaciones dependientes.

La invención se refiere además a narwedina enantioméricamente pura de fórmula general (V), que se prepara mediante la etapa de síntesis 1 así como la etapa de síntesis 2 y presenta una proporción residual de paladio inferior a 26 ppm, de manera preferente inferior a 24 ppm, de manera especialmente preferente inferior a 14 ppm.

5 La invención se refiere además a galantamina enantioméricamente pura de fórmula general (I) con R<sub>1</sub> igual a CH<sub>3</sub>, que se prepara mediante las etapas de síntesis 1 a 3 con una o varias etapas de purificación respectivamente conectadas posteriormente, preferentemente recristalización y presenta una proporción residual de paladio inferior a 5 ppm.

10 La invención se refiere además a derivados de galantamina de fórmulas generales (I) y (II), que se preparan según un procedimiento con las etapas de síntesis 1 a 4 o 4' así como etapas de purificación respectivamente conectadas posteriormente, preferentemente recristalización y presentan una proporción residual de paladio inferior a 5 ppm.

15 La invención se refiere además al uso de galantamina enantioméricamente pura para la preparación de fármacos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, tal como la enfermedad de Alzheimer.

20 La invención se refiere igualmente al uso de derivados de galantamina altamente puros con las fórmulas generales (I) y (II) para la preparación de fármacos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, tal como la enfermedad de Alzheimer.

La invención se explica en más detalle a continuación por medio de ejemplos de realización para la realización de la invención, haciéndose referencia a las etapas de procedimiento de acuerdo con el esquema de reacción:

25 Etapa 1: bromonarwedina racémica de fórmula general (III) se suspende en DMF, se mezcla con NaCO<sub>2</sub>H, PPH<sub>3</sub>, acetato de paladio (II) así como hidróxido de sodio. Esta mezcla de reacción se calienta a 94 °C y se mantiene a esta temperatura durante seis horas, siguiéndose al desarrollo de la reacción por medio de cromatografía. A continuación se trata la mezcla de reacción, separándose DMF por destilación, precipitándose narwedina racémica (IV) mediante adición de agua y separándose.

30 Etapa 2.1: la narwedina racémica (IV) obtenida se suspende en una mezcla de etanol/trietilamina y se mezcla con carbón activo y un coadyuvante de filtración. La mezcla se calienta con agitación intensiva durante de una a cuatro horas con reflujo, soplándose una mezcla de nitrógeno y aire con por ejemplo un 5 % en volumen de oxígeno a través del reactor. De manera sorprendente se encontró que mediante el tratamiento con carbón activo por un lado y el contacto con oxígeno por otro lado pudo conseguirse la reducción de las proporciones de paladio de claramente  
35 por encima del 95 % en comparación con proporciones de paladio conocidas, detectables. Este se explicará en más detalle por medio de la siguiente tabla.

	1ª carga	2ª carga	3ª carga
	Pd (ppm)	Pd (ppm)	Pd (ppm)
Narwedina racémica	813	748	753
(-)-Narwedina	24	26	14

40 De esta lista en forma de tabla puede deducirse que en la mezcla de narwedina racémica pueden detectarse restos de paladio de 748 a 813 ppM. Los productos de reacción con estas proporciones de paladio no son adecuados para un uso posterior para la preparación de un fármaco. Mediante el tratamiento de acuerdo con la invención de la mezcla de reacción con carbón activo con contacto con oxígeno simultáneo se transforma el catalizador de paladio en una forma insoluble, oxidada, de modo que es posible una separación en un intervalo de ppm inferior a 26, de manera preferente inferior a 24, de manera especialmente preferente inferior a 14.

45 En una variante de procedimiento alternativa se suspende la narwedina racémica (IV) obtenida igualmente en una mezcla de etanol/trietilamina y se mezcla con carbón activo y un coadyuvante de filtración; sin embargo se mezcla esta mezcla a continuación con agitación intensiva con un 0,1 - 1 % en peso de peróxido de hidrógeno lentamente y se calienta durante una a cuatro horas con reflujo. De manera sorprendente se encontró también en esta variante de  
50 procedimiento que mediante el tratamiento con carbón activo por un lado y el uso de peróxido de hidrógeno por otro lado pudo reducirse claramente tras la filtración la proporción de paladio en comparación con proporciones de paladio conocidas, detectables. Los valores medidos pueden deducirse de la siguiente tabla:

	1ª carga	2ª carga	3ª carga
	Pd (ppm)	Pd (ppm)	Pd (ppm)
<b>Narwedina racémica</b>	800	810	763
<b>(-)-Narwedina (tratada con H2O2)</b>	22	24	16

55

- En otra variante de procedimiento se mezcla la mezcla que está compuesta de narwedina racémica (IV), etanol, trietilamina, carbón activo y un coadyuvante de filtración con agitación intensiva con un 0,1 - 1 % en peso de ácido metacloroperbenzoico y se calienta durante de una a cuatro horas con reflujo. También en esta variante de procedimiento se encontró de manera sorprendente que mediante el tratamiento con carbón activo por un lado y el uso de ácido metacloroperbenzoico por otro lado pudo reducirse esencialmente tras la filtración la proporción de paladio en comparación con proporciones de paladio conocidas, detectables. Los valores determinados están mencionados en la siguiente tabla:

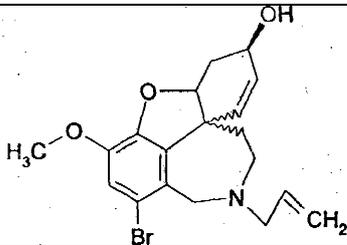
	1ª carga	2ª carga	3ª carga
	Pd (ppm)	Pd (ppm)	Pd (ppm)
<b>Narwedina racémica</b>	778	805	767
<b>(-)-Narwedina (tratado con MCPBA)</b>	20	23	18

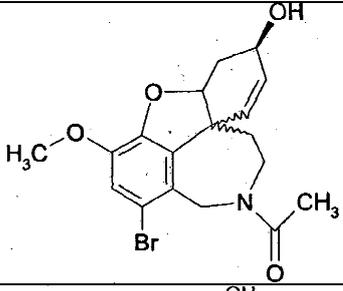
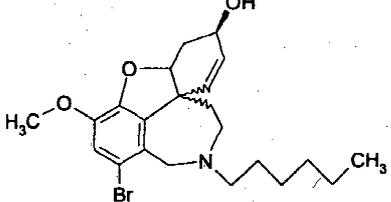
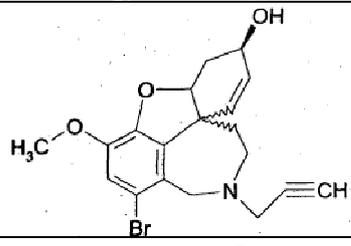
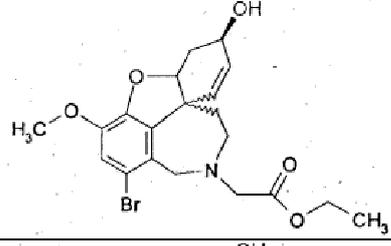
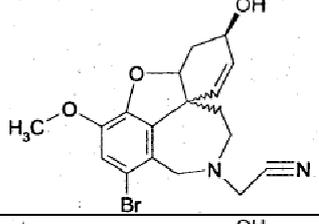
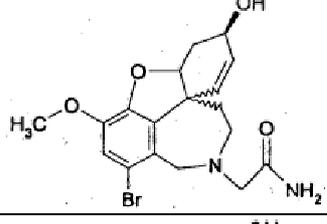
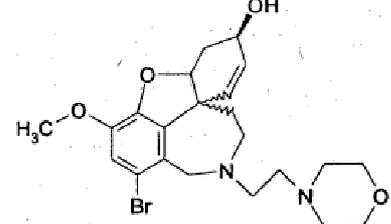
- Etapa 2.2: la mezcla de reacción obtenida tras la etapa 2.1 se enfría y se inocula con cristales de (-)Narwedina, de modo que se obtiene (-)narwedina enantioméricamente pura con la fórmula general (V). Etapa 3: la (-)narwedina enantioméricamente pura obtenida tras la recristalización con la fórmula general (V) se mezcla tal como se describe en el documento WO-A-96/12692 con una disolución uno molar de L-selectrida en THF, se deja agitar durante una hora, se mezcla con etanol y se inocula. Mediante la reducción enantioméricamente selectiva se obtiene galantamina enantioméricamente pura de fórmula general (I) para  $R_1=CH_3$ . Mediante recristalización una o varias veces se consiguen proporciones residuales de paladio inferiores a 5 ppm. Esto por tanto, dado que mediante el tratamiento con oxígeno o peróxido de acuerdo con la etapa de síntesis 2.1 se transforma el catalizador de paladio en una forma insoluble, oxidada que puede separarse fácilmente dentro de la purificación mediante recristalización.
- Etapa 4: el compuesto de fórmula general (I) con  $R_1$  igual a  $CH_3$  puede someterse a una desalquilación u otra alquilación para introducir así los restos  $R_1$  o  $R_2$  en el átomo de nitrógeno.

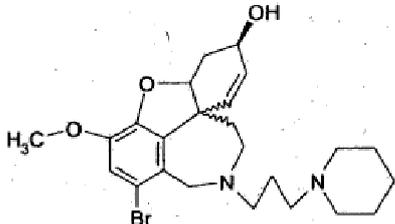
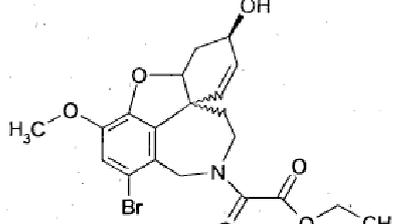
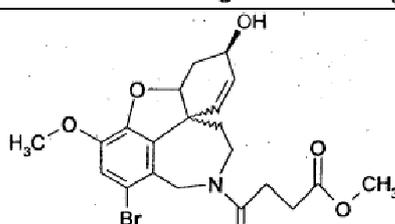
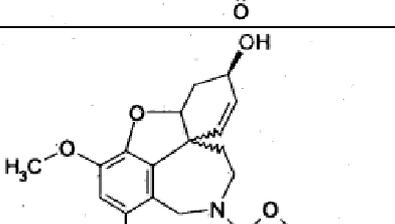
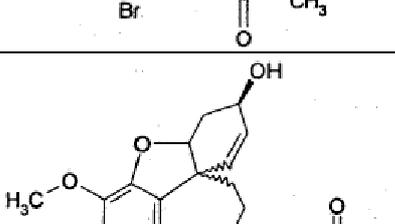
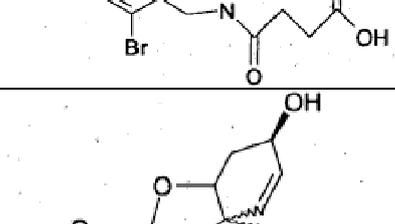
- Etapa 4': la etapa 4' se realiza de manera análoga a la etapa 4 con la diferencia de que se realiza otra reacción con un ácido, tal como por ejemplo bromhídrico, para dar sales farmacéuticamente aceptables con contraanión  $Z^-$  tal como por ejemplo un bromuro. También los compuestos con la fórmula general (I) o (II) pueden purificarse, en caso necesario, posteriormente mediante recristalización, de modo que se consigue una proporción residual inferior a 5 ppm.

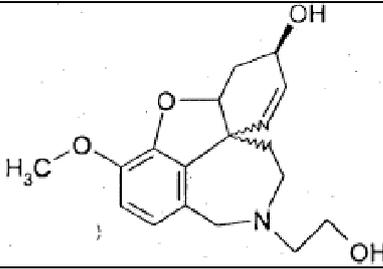
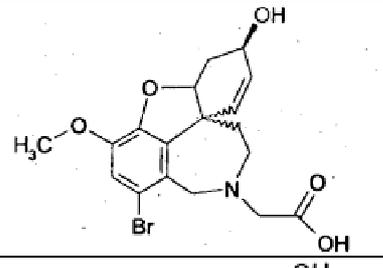
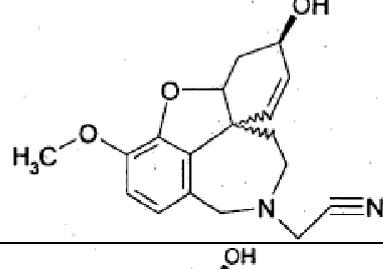
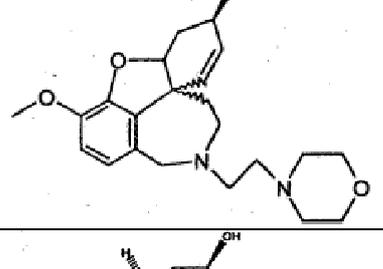
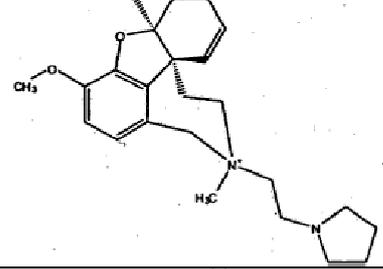
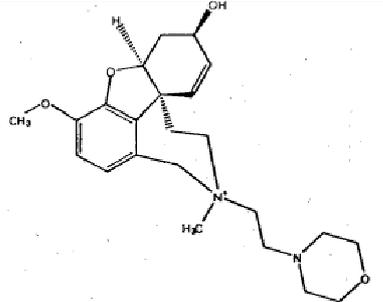
- Los ejemplos de realización mencionados anteriormente se realizaron de manera que  $R_1$  o  $R_2$  muestran un patrón de sustituyentes, en el que sustituyentes de carbono alifáticos presentan un número de carbonos en el intervalo de 1 a 6 y el resto aromático arilo se selecciona del grupo furilo, fenilo, piridinilo, piridazilo, pirazinilo, pirazolilo, imidazilo y pirazilo.

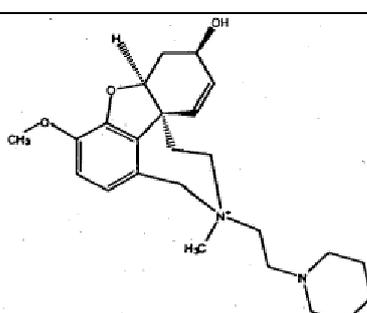
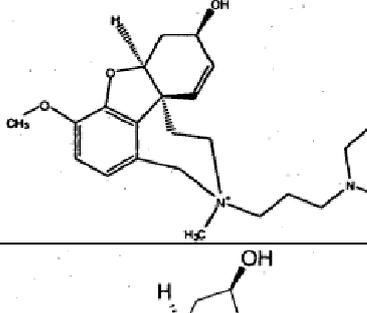
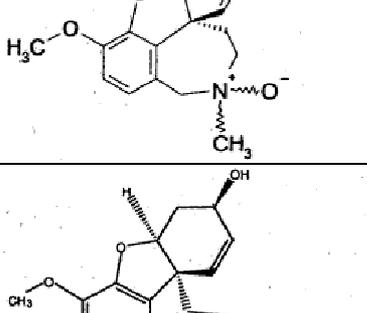
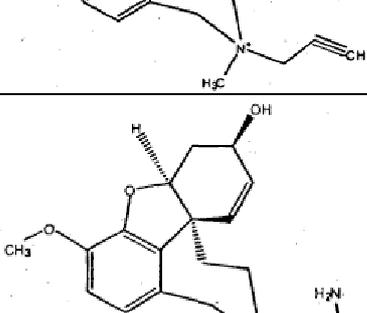
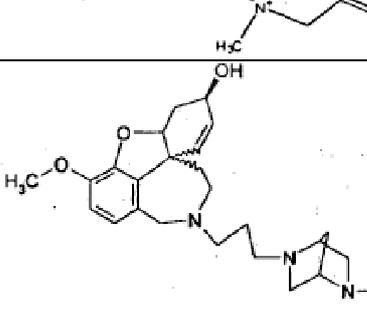
- La acción farmacológica de los compuestos de acuerdo con las fórmulas generales (I) y (II) puede cubrirse por medio de los valores  $CI^{50}$  medidos, dado que éstos representan aquellas concentraciones, con las que se produce una inhibición del 50 % de la acetilcolinesterasa (AChEI) o de la butirilcolinesterasa (BuChEI). Los valores de inhibición satisfactorios (véase el siguiente resumen) son además un indicio de que los compuestos de fórmulas generales (I) o (II) son adecuados para la preparación de fármacos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, tal como la enfermedad de Alzheimer.

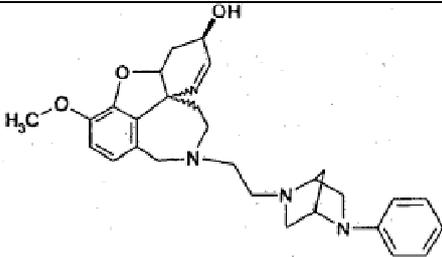
EJEMPLO	FÓRMULA	CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN	CI50 de AChEI	CI50 de BuChEI
1		SPH-1097	200	2,6

EJEMPLO	FÓRMULA	CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN	CI50 de AChEI	CI50 de BuChEI
2		SPH-1071	49	14
3		SPH-1054	12	0,2
4		SPH-1075	63	10
5		SPH-1080	200	56
6		SPH-1069	200	70
7		SPH-1081	200	15
8		SPH-1078	200	4,4

EJEMPLO	FÓRMULA	CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN	CI50 de AChEI	CI50 de BuChEI
9		SPH-1106	23	3,3
10		SPH-1070	32.5	11
11		SPH-1072	200	200
12		SPH-1082	200	200
13		SPH-1090	200	200
14		SPH-1095	34	6,35

EJEMPLO	FÓRMULA	CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN	CI50 de AChEI	CI50 de BuChEI
15		SPH-1096	15	19
16		SPH-1089	200	200
17		SPH-1099	37	200
18		SPH-1098	13	7
19		SPH-1023	60	8
20		SPH-1098 (rac)	13 (rac)	7 (rac)

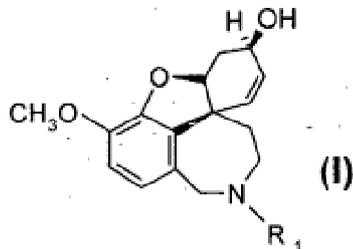
EJEMPLO	FÓRMULA	CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN	CI50 de AChEI	CI50 de BuChEI
21		SPH-1144	6,2	3,6
22		SPH-1019	30	5,6
23		SPH-1052	200	200
24		SPH-1058	1,35	1,6
25		SPH-1140	3,1	2,5
26		SPH-1195	24,5	7,5

EJEMPLO	FÓRMULA	CÓDIGO DE INVESTIGACIÓN	CI50 de AChEI	CI50 de BuChEI
27		SPH-1329	2.9	0.9

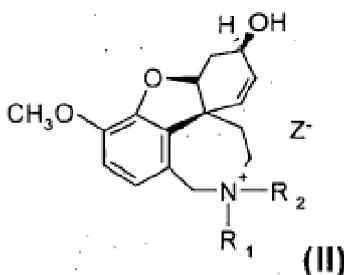
- En resumen puede decirse que mediante el tratamiento de acuerdo con la invención de una narwedina desbromada obtenida mediante catálisis de paladio, concretamente mediante contacto con oxígeno o peróxidos, pudiéndose transformar el catalizador de paladio usado en una forma de óxido insoluble y puede separarse de manera sencilla.
- 5 Mediante este tratamiento, que satisface absolutamente las normas de seguridad, de la mezcla de reacción se logra reducir de manera sorprendente los restos de paladio en el intervalo de 5 ppm, de modo que pudieron obtenerse galantamina altamente pura o derivados de galantamina altamente puros, que pudo (pudieron) usarse directamente en la preparación de fármacos, tales como por ejemplo aquellos para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

REIVINDICACIONES

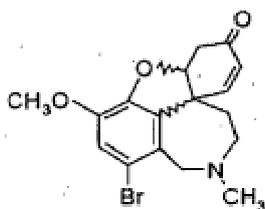
1. Procedimiento para la preparación de 4a,5,9,10,11,12,-hexahidro-6H-benzofuro[3a,3,2-ef][2]benzazepina altamente pura así como sus derivados con la fórmula general I y II



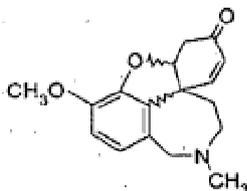
5 y



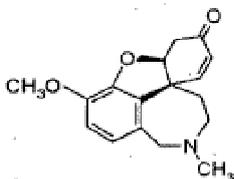
o sales de la misma, en la que R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que está constituido por hidrógeno, hidroxilo, alcoxilo, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), que eventualmente está sustituido con al menos un halógeno, alquenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquinilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, aralquilo, ariloxialquilo, formilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, alquiloxicarbonilo, ariloxicarbonilo, aralquiloxicarbonilo, alquilsulfonilo, aralquilsulfonilo, arilsulfonilo y en la que R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que está constituido por hidrógeno, formilo, alquilo, alquenilo, arilo, aralquilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, alquiloxicarbonilo, ariloxicarbonilo, aralquiloxicarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo y aralquilsulfonilo y en la que Z<sup>-</sup> es un anión de un ácido orgánico farmacéuticamente aceptable o un anión inorgánico, **caracterizado por que** se desbroma en una etapa de reacción 1 bromonarwedina racémica (III)



con acetato de paladio (II) y trifenilfosfina, en una etapa de reacción 2 la mezcla de reacción que contiene narwedina racémica (IV)



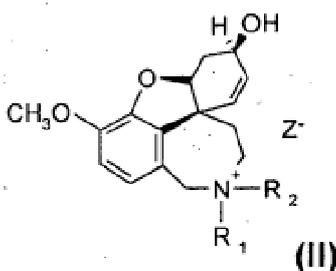
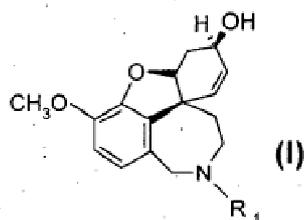
20 se trata con contacto con oxígeno y en una se convierte en la narwedina enantioméricamente pura (V)



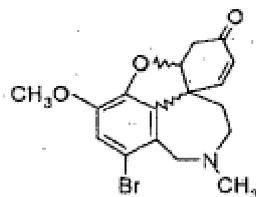
en el que se sopla a través del reactor una mezcla de nitrógeno y aire que contiene del 0,2 % al 20 % en volumen de oxígeno en presencia de carbón activo, y en el que se obtiene en una etapa de reacción 3 mediante reducción galantamina enantioméricamente pura de fórmula general (I) con  $R_1$  igual a  $CH_3$  y en una etapa de reacción 4 mediante alquilación o desalquilación se obtienen compuestos de fórmula general (I) o en una etapa de reacción 4' mediante alquilación y desalquilación así como formación de sal posterior se obtienen compuestos de fórmula general (II).

2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado por que** a la etapa de reacción 3 y/o a la etapa de reacción 4 está/están conectada/conectadas posteriormente una o varias etapas de purificación, que se realizan mediante recristalización.

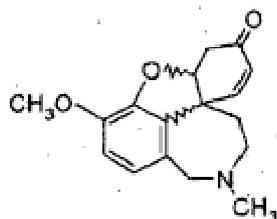
3. Procedimiento para la preparación de 4a,5,9,10,11,12,-hexahidro-6H-benzofuro[3a,3,2-ef][2]benzazepina altamente pura así como sus derivados con la fórmula general I y II



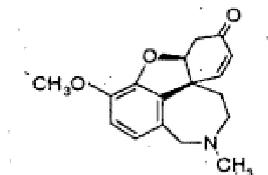
o sales de la misma, en la que  $R_1$  se selecciona del grupo que está constituido por hidrógeno, hidroxilo, alcoxilo, alquilo ( $C_1-C_6$ ), que eventualmente está sustituido con al menos un halógeno, alquenilo ( $C_1-C_6$ ), alquinilo ( $C_1-C_6$ ), arilo, aralquilo, ariloxialquilo, formilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, alquiloxicarbonilo, ariloxicarbonilo, aralquiloxicarbonilo, alquilsulfonilo, aralquilsulfonilo, arilsulfonilo y en la que  $R_2$  se selecciona del grupo que está constituido por hidrógeno, formilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, alquiloxicarbonilo, ariloxicarbonilo, aralquiloxicarbonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo y aralquilsulfonilo y en la que  $Z^-$  es un anión de un ácido orgánico farmacéuticamente aceptable o un anión inorgánico, **caracterizado por que** se desbroma en una etapa de reacción 1 bromonarwedina racémica (III)



con acetato de paladio (II) y trifenilfosfina, en una etapa de reacción 2 se trata la mezcla de reacción que contiene narwedina racémica (IV)



en presencia de peróxidos y carbón activo y en una se convierte en la narwedina enantioméricamente pura (V)



y en el que en una etapa de reacción 3 mediante reducción se obtiene galantamina enantioméricamente pura de fórmula general (I) con  $R_1$  igual a  $CH_3$  y en una etapa de reacción 4 mediante alquilación o desalquilación se obtienen compuestos de fórmula general (I) o en una etapa de reacción 4' mediante alquilación y desalquilación así como formación de sal posterior se obtienen compuestos de fórmula general (II).

- 5 4. Procedimiento según la reivindicación 3, **caracterizado por que** en la etapa de reacción 2 se usan como peróxidos peróxidos inorgánicos.
- 10 5. Procedimiento según la reivindicación 4, **caracterizado por que** como peróxido inorgánico se usa peróxido de hidrógeno.
6. Procedimiento según la reivindicación 3, **caracterizado por que** en la etapa de reacción 2 se usan como peróxidos peróxidos orgánicos.
- 15 7. Procedimiento según la reivindicación 6, **caracterizado por que** como peróxido orgánico se usa ácido metacloroperbenzoico.
- 20 8. Procedimiento según una de las reivindicaciones 3 a 7, **caracterizado por que** a la etapa de reacción 3 y/o a la etapa de reacción 4 está/están conectadas posteriormente una o varias etapas de purificación, que se realizan por recristalización.