

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 596 245**

51 Int. Cl.:

C07J 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.10.2013 PCT/EP2013/071930**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.05.2014 WO14064032**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.10.2013 E 13789206 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.09.2016 EP 2909225**

54 Título: **Procedimiento para la purificación de acetato de abiraterona**

30 Prioridad:

22.10.2012 IT MI20121788

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

05.01.2017

73 Titular/es:

**OLON S.P.A. (100.0%)
Strada Rivoltana km. 6/7
20090 Rodano (MI), IT**

72 Inventor/es:

**ALPEGIANI, MARCO;
CRISTIANO, TANIA y
CUCCHETTI, EUGENIO**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 596 245 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 purificación de acetato de abiraterona

La invención se refiere a un procedimiento para la purificación de acetato de abiraterona crudo mediante tratamiento con resinas poliméricas en solvente acuoso. El producto purificado se recupera mediante concentración y filtración simples.

5 Antecedentes de la invención

El acetato de abiraterona, cuyo nombre químico es acetato de (3 β)-17-(3-piridinil)androsta-5,16-dien-3-ilo, es el profármaco del metabolito activo abiraterona, un inhibidor selectivo de la enzima CYP 17.

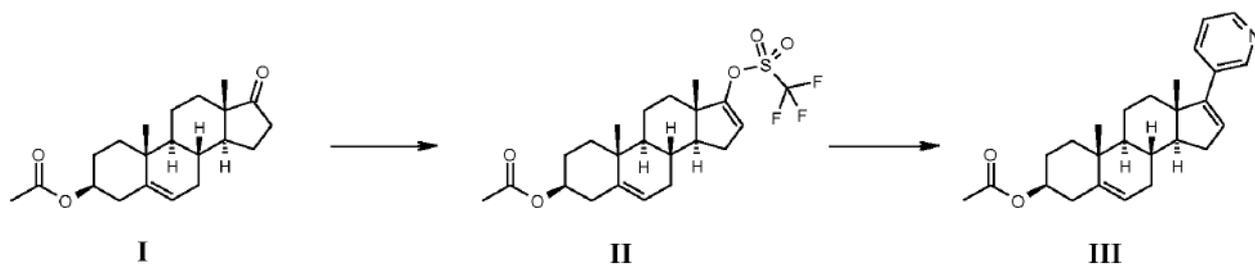
El acetato de abiraterona es el ingrediente activo de un medicamento novedoso para el tratamiento del carcinoma de próstata en hombres adultos.

10 La preparación de acetato de abiraterona se divulgó originalmente en el documento EP0633893.

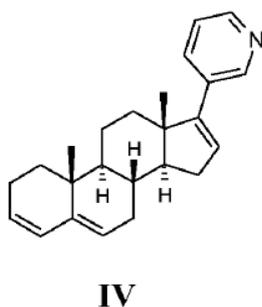
El esquema de síntesis incluye la conversión de acetato de deshidroepiandrosterona-3 (I) en el correspondiente triflato de enol (II) mediante tratamiento con anhídrido trifluorometanosulfónico y 2,6-di-ter-butil-4-metilpiridina.

La reacción de Suzuki entre trifluorometanosulfonato de 3 β -acetoxiandrosta-5,16-dien-17-ilo (II) y dietil(3-piridil)borano proporciona acetato de abiraterona crudo que se purifica mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con una mezcla de éter etílico y éter de petróleo, y finalmente se cristaliza a partir de hexano.

15



El acetato de abiraterona crudo obtenido en dichas condiciones contiene cantidades sustanciales de la siguiente impureza (IV), que se deriva de la eliminación de ácido acético en presencia de 2,6-di-ter-butil-4-metilpiridina [Journal of Medicinal Chemistry 38, 2463-2471 (1995)]



20

El uso de bases más comunes, más baratas de 2,6-di-ter-butil-4-metilpiridina se reivindica en la solicitud de patente WO2006/021777 (véanse también los documentos EP1781683 y US8236946); ante todo se evita la formación de la impureza IV usando dichas bases, aunque no se completa la reacción de formación de intermedio II y el acetato de abiraterona crudo obtenido después de la reacción de Suzuki contiene cantidades apreciables de acetato de deshidroepiandrosterona-3 (I). Dicho producto crudo puede purificarse mediante salificación de III con ácido metanosulfónico (documento WO2006/021776, véanse también documentos EP1789432 y US8076474); sin embargo, la pureza del mesilato obtenido de esta manera no es muy alta incluso después de re-cristalización a partir de alcohol isopropílico (pureza de producto crudo <90%, pureza de producto purificado aproximadamente 96%), y el rendimiento total es bastante malo.

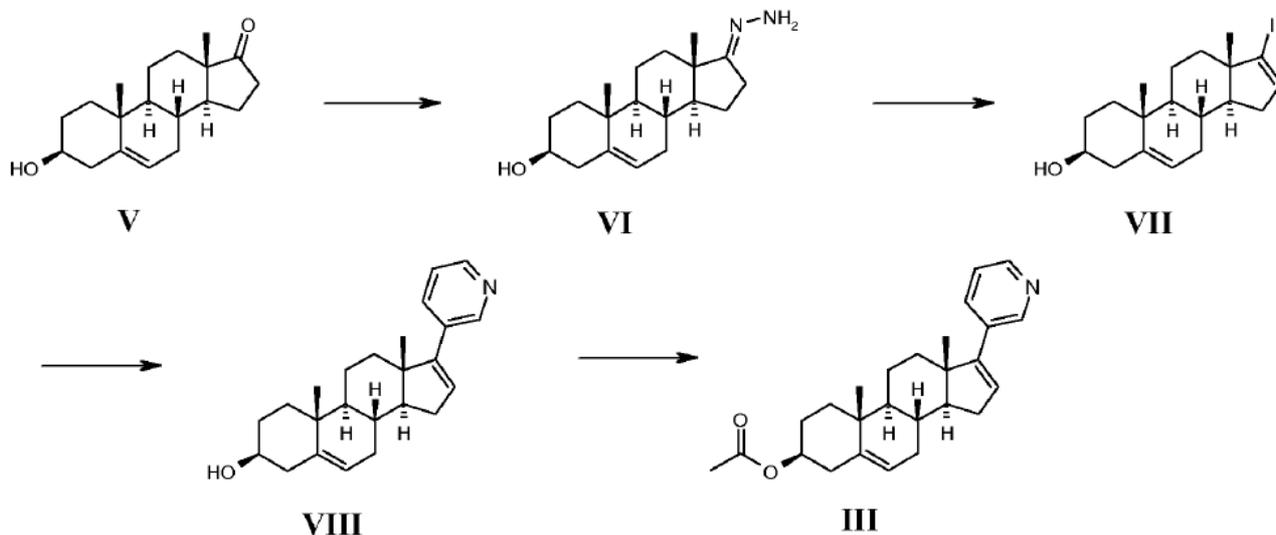
25

30

Una secuencia que comprende purificación de producto crudo III por medio de la formación de la sal con ácido sulfúrico, reconversión a III y cristalizaciones finales a partir de diclorometano/éter de petróleo y etanol/agua se divulga en el

documento IPCOM000211139D. Los rendimientos y la calidad de los productos obtenidos no se reportan y el tratamiento con anhídrido acético / DMAP se realiza antes de las cristalizaciones finales.

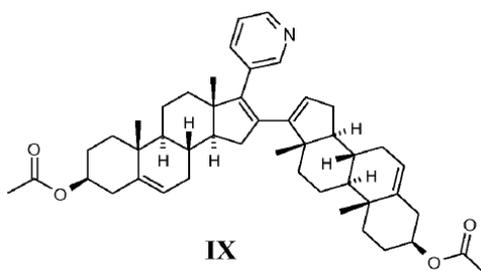
Un procedimiento alternativo para la preparación de acetato de abiraterona se divulga en el documento EP0721461.



- 5 El producto intermedio clave de este procedimiento es 17-yodo-androsta-5,16-dien-3 β -ol VII, obtenido en dos etapas a partir de deshidroepiandrosterona V mediante hidrazona VI. La reacción de Suzuki entre yoduro de vinilo VII y dietil(3-piridil)borano proporciona abiraterona VIII, que luego es acetilada para producir acetato de abiraterona III.

El procedimiento se describe detalladamente en Organic Preparations and Procedures International 29, 123-128 (1997).

- 10 Tal como en el caso del procedimiento de síntesis ilustrado en el esquema previo, este procedimiento también requiere una operación elaborada para la purificación de acetato de abiraterona crudo, que comprende (véase la publicación citada antes) una etapa de cromatografía de fase directa (sílice) y una etapa de cromatografía de fase inversa (LiChroprep® RP-8), conjuntamente con cristalizaciones repetidas a partir de solventes orgánicos. Esta operación elaborada de purificación se requiere principalmente para retirar una impureza crítica que se forma durante la síntesis de VIII mediante la reacción de tipo Heck entre VII y VIII para producir "dímero" IX después de acetilación.



- 15 Todos los procedimientos de cromatografía mencionados son inadecuados para usar en la producción de acetato de abiraterona a escala industrial.

Si los procedimientos de purificación descritos en el arte previo fueran aplicados sería muy difícil eliminar de manera completa las impurezas presentes; por otra parte los procedimientos son difíciles y las pérdidas son muy altas.

- 20 Descripción de la invención

Ahora bien, los inventores han encontrado de manera sorprendente que el acetato de abiraterona puede obtenerse con altos rendimientos de alta pureza mediante un procedimiento de purificación de bajo costo que se implementa fácilmente a escala industrial.

- 25 La presente invención proporciona un procedimiento para la purificación de acetato de abiraterona a partir de productos crudos, de modo independiente del procedimiento de síntesis utilizado para su preparación; el procedimiento comprende

ES 2 596 245 T3

- la preparación de una solución de producto crudo, la adsorción sobre una resina de polímero y elusión de acetato de abiraterona desde la resina utilizando una mezcla de agua y un solvente polar en calidad de eluyente.
- 5 El procedimiento de acuerdo con la invención el acetato de abiraterona crudo tiene una pureza generalmente que se encuentra entre 50 y 95%. El producto obtenido después de la purificación tiene una pureza por encima de 99.5%, y las impurezas presentes después de la purificación no exceden 0.10% respectivamente. Por otra parte, dicho procedimiento de purificación de acuerdo con la invención retira metales pesados de manera muy eficiente y el paladio utilizado para obtener acetato de abiraterona crudo (que se encuentra presente en cantidades sustanciales en el producto crudo) es indetectable en el acetato de abiraterona purificado de acuerdo con la invención.
- 10 La técnica de purificación utilizada preferiblemente es una cromatografía de interacción hidrófuga. Las resinas pueden tener una matriz de acrílico o de estireno-divinilbenceno y no tienen grupos funcionales.
- Por ejemplo, pueden usarse las resinas Diaion HP o SP (Mitsubishi) o Amberlite XAD (Rohm and Haas).
- La resina utilizada puede tener una distribución de tamaño de partícula que se encuentra entre 50 y 600 μm , preferiblemente entre 60 y 200 μm .
- 15 La resinas utilizadas pueden regenerarse fácilmente y equilibrarse para ciclos múltiples sin necesidad de retirarlas de la columna. También pueden usarse para una cantidad muy grande de ciclos, sin reducir significativamente su capacidad selectiva.
- 20 El acetato de abiraterona crudo se disuelve típicamente en la cantidad mínima de un solvente orgánico tal como metanol, etanol, isopropanol, n-propanol, acetonitrilo, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano o acetona, o en una mezcla de solvente orgánico con agua. La concentración final del producto crudo se encuentra preferiblemente entre 10 y 200 mg/mL. La temperatura de disolución se encuentra preferiblemente entre 15 y 40°C.
- Mediante filtración pueden retirarse materiales insolubles cualesquiera.
- La abiraterona cruda, solubilizada tal como se ha descrito antes, se carga a una columna que contiene resina equilibrada con una mezcla de solvente orgánico/agua o un solvente orgánico/regulador acuoso de pH, para permitir la formación de enlaces hidrófugos entre el producto y la resina.
- 25 La cantidad de producto cargado puede encontrarse entre 5 de 50 gramos por litro de resina, preferiblemente entre 10 y 30 gramos por litro de resina.
- El solvente utilizado puede ser, por ejemplo, metanol, isopropanol, etanol, acetonitrilo o acetona, o una mezcla de los mismos.
- 30 Cuando se usan reguladores acuosos de pH, la solución acuosa contendrá preferiblemente sales de metal alcalino o de amonio de ácidos inorgánicos tales como ácido fosfórico, o de ácidos carboxílicos tales como ácido fórmico o ácido acético, u otras sales tales como tris-(2-hidroximetil)-aminometano clorhidrato (TRIS-HCl). La molaridad de las soluciones de regulador de pH puede encontrarse entre 10 y 300 mM, preferiblemente entre 10 y 100 mM.
- La concentración de solvente en la mezcla de partida tiene que ser tal que permita la formación de enlaces hidrófugos entre el producto y la resina, y generalmente se encuentra entre 30 y 80%.
- 35 La elución (en modo isocrático o gradiente) se realiza preferiblemente con mezclas a concentraciones crecientes de solvente.
- La velocidad de elución puede encontrarse entre 0,5 y 2,0 volúmenes de solvente por volumen de resina por hora.
- 40 El eluido se recoge de manera típica en fracciones y se analiza mediante una técnica de análisis adecuada tal como TLC, GC o HPLC, para establecer el procedimiento para colección de las fracciones que contienen abiraterona con un alto grado de pureza, y opcionalmente las fracciones que contienen impurezas significativas.
- En condiciones óptimas de operación, las fracciones de acetato de abiraterona con alta pureza se recogen usualmente después de 4-8 volúmenes de lecho de mezcla de eluyente.
- El proceso completo de cromatografía, que incluye la regeneración de la resina, normalmente requiere 6 a 12 volúmenes de lecho de eluyente.
- 45 Las fracciones que contienen acetato de abiraterona con una pureza por encima de 99,5% se concentran al vacío hasta un volumen residual que asciende a 5-40% del volumen inicial. De esta manera se retira parcial o totalmente el solvente y se insolubiliza el acetato de abiraterona en la fase acuosa remanente.

ES 2 596 245 T3

Luego se recupera el producto mediante filtración o centrifugación y se lavan los cristales con una cantidad mínima de agua.

La pérdida de producto en el licor madre habitualmente se encuentra por debajo de 1 %.

El producto puede secarse al vacío a una temperatura que se encuentra por lo general entre 30 y 60°C.

- 5 Normalmente se obtiene un producto cristalino blanco con una pureza HPLC que se encuentra entre 99.5 y 99.8% y un análisis por encima de 99%.

Las resinas utilizadas para la purificación a la cual se refiere la presente solicitud de patente pueden reutilizarse numerosas veces. No es necesario regenerar la resina después de cada corrida de cromatografía. La resina puede regenerarse fácilmente de acuerdo con las instrucciones del fabricante después de una cantidad dada de ciclos.

- 10 El procedimiento se ilustrará ahora más a fondo mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1 -Síntesis de acetato de abiraterona crudo mediante triflato de vinilo II

- 15 Se adicionan anhídrido trifluorometanosulfónico (137 mL) y picolina (75 mL) en cloruro de metileno (2,5 L) secuencialmente a una solución de acetato de prasterona (250 g) en cloruro de metileno (2,5 L), manteniendo la temperatura entre -5°C y 0°C, y se dejan agitando durante aproximadamente 2 h. Después de adicionar agua fría (3,7 L; 0-2°C) sin exceder la temperatura de 10°C, la fase orgánica se separa y se lava con una solución acuosa fría de HCl de 2N luego con cloruro de sodio acuoso. Luego la mezcla se concentra al vacío para obtener un residuo oleoso (aproximadamente 340 g).

- 20 El triflato de vinilo crudo obtenido de esta manera (aproximadamente una mezcla 4:1 de triflato de vinilo y acetato de prasterona) se lleva a tetrahidrofurano (3,7 L). Se carga dietil(3-piridil)borano (90 g), cloruro de bis(trifenilfosfina) paladio II (3.8 g) y una solución acuosa de carbonato de sodio de 2M (1 L) en un ambiente de gas inerte. La mezcla resultante se somete a reflujo durante aproximadamente 1 hora, luego se enfría a temperatura ambiente y se adicionan acetato de etilo (2,5 L) y agua (2,5 L). La fase acuosa se re-extrae con acetato de etilo (1,4 L), las fases orgánicas combinadas se tratan con carbón decolorante (aproximadamente 100 g), y luego se concentran al vacío para obtener acetato de abiraterona crudo como un aceite (320 g; pureza de aproximadamente 87%; análisis 51%).

- 25 Ejemplo 2 - Síntesis de acetato de abiraterona crudo mediante yoduro de vinilo VII

- 30 17-Yodoandrosta-5,16-dien-3β-ol [Organic Preparations y Procedures Int., 29, 123-134 (1997)] (90 g) en tetrahidrofurano (1,0 L), en un ambiente de gas inerte, se adiciona con dietil(3-piridil)borano (40 g), cloruro de bis(trifenilfosfina) paladio II (1,5 g) y una solución acuosa de carbonato de sodio de 2M (450 mL). La mezcla resultante se somete a reflujo hasta que se completa la reacción (aproximadamente 50 h), luego se enfría a temperatura ambiente y se adiciona tetrahidrofurano (1 L). La fase orgánica se separa y se lava con una solución acuosa de cloruro de sodio al 5%, luego se seca sobre sulfato de magnesio. Luego se concentra el residuo al vacío y el concentrado se lleva a éter de ter-butilo metilo (aproximadamente 600 mL) para obtener un sólido arenoso el cual se aísla mediante filtración (a 0-5°C) y se seca al vacío 40°C durante 16 h.

- 35 La abiraterona cruda obtenida de esta manera (aproximadamente 64 g) se lleva a cloruro de metileno (350 mL), y la mezcla resultante se enfría a una temperatura de -5 to 0°C, se adiciona con anhídrido acético (130 mL) y luego con trietilamina (190 mL), manteniendo la temperatura a -5 hasta 0°C. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 25 h, luego se lava con agua y se concentra el vacío, y se lleva el residuo a acetona (250 mL). El sólido resultante se aísla mediante filtración (a 0-5°C) y se seca al vacío a 40 °C durante 16 h (aproximadamente 46 g; pureza: 82.5%; análisis: aproximadamente 73%). Una segunda fracción de acetato de abiraterona crudo, en forma de aceite, se obtienen mediante concentración de licor madre al vacío (54 g, pureza: 74%, análisis: aproximadamente 45%).

Ejemplo 3 -Síntesis de acetato de abiraterona crudo mediante triflato de vinilo II

- 45 Se agrega gota a gota anhídrido trifluorometanosulfónico (235 g) a una solución de acetato de prasterona (250 g) en cloruro de metileno (5 L), manteniendo la temperatura entre - 5°C y 0°C, y se adiciona en porciones carbonato de sodio anhidro (80 g). La mezcla se agita durante 4h a 0-5°C. Se adiciona agua fría (2,5 L) y la fase orgánica se separa y se lava con una solución acuosa de cloruro de sodio al 10%. La mezcla se trata con carbón decolorante (120 g), y luego se concentra al vacío para obtener un residuo oleoso (aproximadamente 355 g). El triflato de vinilo obtenido de esta manera se lleva a tetrahidrofurano (3,0 L), y se cargan sucesivamente dietil(3-piridil)borano (100 g), cloruro de bis(trifenilfosfina) paladio II (3,3 g) y una solución acuosa de carbonato de sodio de 2M (900 mL) en un ambiente de gas inerte. La mezcla resultante se somete a reflujo durante aproximadamente 1 h, luego se enfría a temperatura ambiente y se adicionan acetato de etilo (2,5 L) y agua (2,5 L). La fase acuosa se re-extrae con acetato de etilo (1,4 L), y las fases orgánicas combinadas se tratan con carbón decolorante (aproximadamente 100 g), y luego se concentran al vacío para obtener acetato de abiraterona crudo en forma de un aceite (304 g; pureza aproximadamente de 92%; análisis 52%).

Ejemplo 4 -Síntesis de acetato de abiraterona crudo mediante triflato de vinilo II

5 Se agrega gota a gota anhídrido trifluorometanosulfónico (45,4 mL) a una solución de acetato de prasterona (100 g) y 2,6-di-ter-butil-4-metilpiridina (58 g) en cloruro de metileno (1 L) a -5°C, manteniendo la temperatura entre - 5°C y 0°C y agitando a dicha temperatura durante aproximadamente 5 h. La mezcla se concentra luego al vacío y el concentrado se lleva a n-hexano (aproximadamente 1500 mL) para obtener un precipitado que se aísla mediante filtración. La solución filtrada se lava con una solución de ácido clorhídrico de 1N (aproximadamente 1,5 L) y luego con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (500 mL). La fase orgánica se adiciona con carbonato de potasio (50 g), y la suspensión resultante se agita durante aproximadamente 15 h a temperatura ambiente, luego se filtra. Después de retirar el solvente al vacío se obtiene un aceite (aproximadamente 110 g), el cual se lleva a tetrahidrofurano (1,5 L). La solución se desgasifica y se adiciona secuencialmente dietil(3-piridil)borano (54.5 g), cloruro de bis(trifenilfosfina) paladio II (1,8 g) y una solución acuosa de carbonato de sodio de 2M (500 mL) en un ambiente de gas inerte. La mezcla resultante se somete a reflujo durante aproximadamente 1 hora, luego se enfría a temperatura ambiente y se adiciona acetato de etilo (1L) y agua (1L). La fase acuosa se re-extrae con acetato de etilo (0,5 L), y las fases orgánicas combinadas se concentran al vacío para obtener acetato de abiraterona crudo en forma de aceite (230 g; pureza alrededor de 88 %; análisis 35%).

Ejemplo 5 -Purificación de acetato de abiraterona crudo obtenido mediante triflato de vinilo II

El acetato de abiraterona crudo, obtenido tal como se ha descrito en el Ejemplo 1 (aproximadamente 300 g) se disuelve en una mezcla de IPA y acetonitrilo y se carga en una columna empacada con 9 litros de resina DIAION HP20ss (Mitsubishi) condicionada con una mezcla de acetonitrilo / IPA /regulador de pH de acetato de amonio.

20 La mezcla es eluida con una mezcla de acetonitrilo / IPA / regulador de pH de acetato de amonio de 10mM en la proporción de 68:2:30 (aproximadamente 20 L), y luego con un gradiente de acetonitrilo (aproximadamente 60 litros). Las fracciones que contienen el producto con una pureza por encima de 99.5% (monitoreo con HPLC) se combina (volumen total: aproximadamente 25 L; contenido de acetato de abiraterona: aproximadamente 125 g).

25 Después de la concentración de la mezcla, la filtración, el lavado con agua y el secado (12 h, 40°C), se obtienen acetato de abiraterona en forma de un sólido cristalino (120 g; pureza según HPLC de 99.6%).

Método de análisis de HPLC: columna Fenomenex Luna C8, 150x4.6 mm, 5 µm; se usa un gradiente en el cual la fase A consiste en una solución de 10 mM de acetato de amonio en H₂O y la fase B consiste en acetonitrilo que contiene 2% de isopropanol; detección a 254 y 220 nm].

Ejemplo 6 - Purificación de acetato de abiraterona crudo obtenido mediante yoduro de vinilo VII

30 El acetato de abiraterona crudo, obtenido tal como se ha descrito en el Ejemplo 2 (100 g) se disuelve en una mezcla de IPA y acetonitrilo y la solución se carga a una columna empacada con 5 litros de resina DIAION HP20ss (Mitsubishi) equilibrada en acetonitrilo / IPA / regulador de pH de acetato de amonio.

La columna fue eluida con acetonitrilo / IPA / regulador de pH de acetato de amonio de 10 mM en una proporción de 78:2:20 (aproximadamente 20 L).

35 Las fracciones recogidas durante la elución fueron analizadas mediante el procedimiento de HPLC descrito antes y aquellas que contenían abiraterona con una pureza por encima de 99,5% fueron combinadas y concentradas al vacío. La suspensión resultante fue filtrada y lavada con agua y los cristales fueron secados tal como se describió antes para obtener alrededor de 50 g de acetato de abiraterona con una pureza de HPLC de 99,7%.

40 La impureza principal presente en el producto crudo, más precisamente el dímero IX, puede recuperarse mediante elución con acetonitrilo / ácido acético 95:5.

Ejemplo 7 - Purificación de acetato de abiraterona crudo obtenido mediante triflato de vinilo II

El acetato de abiraterona crudo, obtenido tal como se ha descrito en el Ejemplo 3, se purifica de manera similar al procedimiento descrito en el Ejemplo 5, y se obtiene acetato de abiraterona con un rendimiento de 86% y una pureza según HPLC de 99.79%.

45 Ejemplo 8 – Purificación de acetato de abiraterona crudo obtenido mediante triflato de vinilo II

El acetato de abiraterona crudo, obtenido tal como se ha descrito en el Ejemplo 4, se purifica de manera similar al procedimiento descrito en el Ejemplo 5, y se obtiene acetato de abiraterona con un rendimiento de 91% y una pureza según HPLC de 99.55%.

Ejemplo 9 - Purificación de acetato de abiraterona crudo obtenido mediante triflato de vinilo II

ES 2 596 245 T3

El acetato de abiraterona crudo, obtenido tal como se ha descrito en el Ejemplo 1 (pureza según HPLC del producto crudo: aproximadamente 87%; contenido de acetato de abiraterona: aproximadamente 500 g) se disuelve en una mezcla de IPA y acetonitrilo y se carga a una columna empacada con 9 litros de resina DIAION HP20ss (Mitsubishi) acondicionada con una mezcla de acetonitrilo / IPA / regulador de pH de acetato de amonio.

- 5 La mezcla es eluida con una mezcla de acetonitrilo / IPA / regulador de pH de acetato de amonio de 10 mM en la proporción de 68:2:30 (aproximadamente 20 L), y luego con un gradiente de acetonitrilo (alrededor de 60 litros). Las fracciones que contienen el producto con una pureza por encima de 99.5% (monitoreo con HPLC) se combinan (volumen total: alrededor de 25 L; contenido de acetato de abiraterona: alrededor de 425 g).
- 10 Después de la concentración de la mezcla, la filtración, el lavado con agua y el secado (12 h, 40°C), se obtiene acetato de abiraterona en forma de un sólido cristalino blanco (420 g; pureza según HPLC de 99.6%).

Reivindicaciones

1. Un procedimiento para la purificación de acetato de abiraterona a partir de productos crudos, el cual comprende preparar una solución del producto crudo, adsorberlo sobre una resina de polímero y eluir acetato de abiraterona desde la resina utilizando una mezcla de agua/regulador acuoso de pH y un solvente polar en calidad de eluyente.
- 5 2. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 en el cual la resina de polímero es una resina adecuada para cromatografía de interacción hidrófuga.
3. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 en el cual las resinas se seleccionan de resinas con una matriz de acrílico o de estireno-divinilbenceno libre de grupos funcionales.
- 10 4. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2 o 3 en el cual la resina tiene una distribución de tamaño de partícula en un intervalo desde 50 hasta 600 μm , preferiblemente desde 60 hasta 200 μm .
5. Un procedimiento de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 4 en el cual el acetato de abiraterona crudo se disuelve en metanol, etanol, isopropanol, n-propanol, acetonitrilo, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano o acetona o en una mezcla de dichos solventes con agua.
- 15 6. Un procedimiento de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 5 en el cual el eluyente utilizado para eluir la resina es una mezcla de agua o agentes acuosos de regulación de pH con uno o más solventes seleccionados de metanol, isopropanol, etanol, acetonitrilo, acetona o una mezcla de los mismos.
7. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6 en el cual la elución isocrática o gradiente se realiza con mezclas que tienen concentraciones crecientes de solvente.