

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 021 585**

51 Int. Cl.:

**B01D 15/18** (2006.01)

**B01D 15/32** (2006.01)

**A61K 31/352** (2006.01)

**C07D 311/80** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.10.2019 PCT/EP2019/077106**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.04.2020 WO20074453**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2019 E 19786300 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.03.2025 EP 3863744**

54 Título: **Método para purificar cannabinoides**

30 Prioridad:

**09.10.2018 US 201816155646**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**27.05.2025**

73 Titular/es:

**SARTORIUS CHROMATOGRAPHY EQUIPMENT  
(100.00%)**

**Site Eiffel, Boulevard de la Moselle  
54340 Pompey, FR**

72 Inventor/es:

**HUR, JIN SEOK**

74 Agente/Representante:

**DEL VALLE VALIENTE, Sonia**

ES 3 021 585 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

Método para purificar cannabinoides

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un método para purificar cannabinoides, comprendiendo el método una etapa de poner una mezcla inicial que contiene al menos un cannabinoide en contacto con una fase estacionaria a base de sílice que comprende grupos amino y/o diol.

10

**Antecedentes de la técnica**

Durante mucho tiempo, se ha considerado que el cannabis tiene propiedades medicinales para el tratamiento de diversas enfermedades y trastornos, tales como los calambres, las migrañas, las convulsiones y la atenuación de las náuseas y los vómitos. Por lo tanto, el cannabis puede usarse, por ejemplo, para estimular el apetito de una persona infectada por el VIH, para tratar las náuseas y los vómitos provocados por la quimioterapia o para reducir los calambres y los espasmos musculares en pacientes que padecen esclerosis múltiple.

15

Los cannabinoides son los principales componentes activos de la planta *Cannabis sativa*. Los cannabinoides naturales más importantes presentes en la hierba de cannabis son el ácido  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinólico ( $\Delta^9$ -THCA) y el ácido cannabidiólico (CBDA), con pequeñas cantidades de los correspondientes cannabinoides neutros  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) y cannabidiol (CBD). Aunque el  $\Delta^9$ -THC es psicoactivo, el CBD es un compuesto farmacéuticamente activo desprovisto de actividad psicoactiva. Otros cannabinoides importantes son el cannabigerol (CBG), el cannabinoil (CBN), el cannabiniol (CBND), el cannabicromeno (CBC) y el  $\Delta^8$ -tetrahidrocannabinol ( $\Delta^8$ -THC).

20

25

Aunque, en algunos casos, los pacientes pueden usar marihuana cruda para reducir o tratar sus síntomas, este producto es menos adecuado para aplicaciones farmacéuticas. Por lo tanto, es preferible separar y purificar los cannabinoides presentes en la hierba de cannabis para usarlos en formulaciones farmacéuticas.

30

Además, debido al número y cantidad de sustancias fitosanitarias utilizadas para el cultivo de cannabis, es importante eliminar todo rastro de sustancias fitosanitarias de los compuestos cannabinoides para que puedan usarse en formulaciones farmacéuticas.

35

Surgen necesidades similares en el contexto del desarrollo de composiciones derivadas del cannabis para uso recreativo.

40

El documento US 8.895.078 se refiere a un método para producir un extracto a partir de materia vegetal de cannabis, que contiene tetrahidrocannabinol, cannabidiol y, opcionalmente, sus correspondientes ácidos carboxílicos. El documento también se refiere a la producción de cannabidiol a partir del extracto.

40

Los documentos US 7.700.368 y GB 2.393.182 describen métodos para la preparación de cannabinoides en formas sustancialmente puras a partir de materiales vegetales.

45

El documento US 6.403.126 describe un método para extraer cannabinoides, cannflavinas y/o aceites esenciales del cáñamo. El documento también describe un método para la producción de un extracto de cáñamo que carece de  $\Delta^9$ -THC.

45

El documento WO 2013/165251 se refiere a un método para preparar un aislado de  $\Delta^9$ -THC a partir de un extracto con disolvente bruto de material vegetal de cannabis.

50

El documento US 6.365.416 describe un método para preparar THC mediante la extracción de un material vegetal con un disolvente no polar seguido de destilación al vacío y cromatografía.

55

El documento US 2007/077660 describe un método para la detección de un cannabinoide en una muestra de cannabis, en donde el método se basa en la CCF.

60

El documento CN 108314608 describe un método de extracción y separación del cannabidiol, en donde la solubilidad en agua del cannabidiol se potencia mediante la adopción de una solución alcalina y el cannabidiol se extrae y se enriquece utilizando un disolvente orgánico; a continuación, el cannabidiol se purifica y se enriquece a través de una columna de resina de poliamida, óxido de aluminio neutro y una columna de gel de sílice unido; a continuación, el cannabidiol se cristaliza para obtener cannabidiol de alta pureza. Todavía existe la necesidad de un método mejorado para purificar compuestos cannabinoides, que permita notablemente la separación entre compuestos cannabinoides e impurezas, tales como sustancias fitosanitarias, así como que permita la separación entre los propios compuestos cannabinoides diferentes.

65

**Resumen de la invención**

Un objeto de la invención es proporcionar un método para la purificación cromatográfica de al menos un compuesto cannabinoide, en donde el método comprende una etapa de purificación principal que comprende las etapas de:

- 5 - inyectar una mezcla inicial que comprende el al menos un compuesto cannabinoide y uno o más compuestos adicionales en una fase estacionaria principal que comprende partículas de sílice, comprendiendo las partículas de sílice grupos amino y/o diol;
- 10 - realizar una elución con una solución de elución y recoger una o más fracciones de elución, en donde la solución de elución es una mezcla de un alcano y un alcohol; y
- opcionalmente, lavar la fase estacionaria principal con una solución de lavado y recoger una o más fracciones de lavado;
- 15 conteniendo al menos una de las fracciones de elución o fracciones de lavado el al menos un compuesto cannabinoide purificado del uno o más compuestos adicionales.

Según algunas realizaciones, el al menos un compuesto cannabinoide se selecciona entre  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol, cannabidiol, cannabinol, cannabigerol, cannabicromeno, cannabidivarol, tetrahidrocannabidiol, tetrahidrocannabidivarol,  $\Delta^8$ -tetrahidrocannabinol, ácidos carboxílicos precursores de los compuestos anteriores, compuestos de origen natural relacionados y sus derivados, y combinaciones de los mismos, y/o en donde el uno o más compuestos adicionales se seleccionan entre compuestos cannabinoides, plaguicidas, reguladores del crecimiento de las plantas y combinaciones de los mismos.

25 Según algunas realizaciones, el método comprende además una etapa de purificación preliminar antes de la etapa de purificación principal, comprendiendo dicha etapa de purificación preliminar las etapas de:

- 30 - poner una mezcla preliminar que comprende el al menos un compuesto cannabinoide, el uno o más compuestos adicionales y uno o más de otros compuestos, en contacto con una fase estacionaria preliminar; y
- recoger al menos una fracción líquida enriquecida en el al menos un compuesto cannabinoide y el uno o más compuestos adicionales y agotada en los otros compuestos, proporcionando dicha al menos una fracción líquida la mezcla inicial.

35 Según algunas realizaciones, la fase estacionaria preliminar comprende partículas de sílice que comprenden grupos amino y/o diol.

Según algunas realizaciones, la etapa de purificación preliminar comprende poner la mezcla preliminar en contacto con la fase estacionaria preliminar en una solución en suspensión, para formar una suspensión; filtrar para recoger una primera fracción; opcionalmente, resuspender la fase estacionaria preliminar en una o más soluciones adicionales, y filtrar para recoger una o más fracciones adicionales; siendo la fracción líquida enriquecida en el al menos un compuesto cannabinoide y el uno o más compuestos adicionales y agotada en los otros compuestos, al menos una de las fracciones primera y posteriores.

45 Según algunas realizaciones, la etapa de purificación preliminar comprende poner en contacto la mezcla preliminar con la fase estacionaria preliminar inyectando la mezcla preliminar en la fase estacionaria preliminar; realizar una elución con una solución de elución y recoger una o más fracciones de elución preliminares; y opcionalmente lavar la fase estacionaria preliminar con una solución de lavado y recoger una o más fracciones de lavado preliminares; siendo al menos una de dichas fracciones de elución preliminares y/o fracciones de lavado preliminares, la fracción líquida enriquecida en el al menos un compuesto cannabinoide y el uno o más compuestos adicionales y agotada en los otros compuestos.

50 Según algunas realizaciones, los uno o más de otros compuestos se seleccionan entre compuestos cannabinoides, plaguicidas, reguladores del crecimiento de las plantas y combinaciones de los mismos.

55 Según algunas realizaciones, la etapa de purificación principal se lleva a cabo en una instalación elegida entre una instalación de una sola columna o una instalación de múltiples columnas; o en donde la etapa de purificación preliminar, si está presente, se lleva a cabo en una instalación elegida entre una instalación de una sola columna o una instalación de múltiples columnas y la etapa de purificación principal se lleva a cabo en una instalación de múltiples columnas.

60 Según algunas realizaciones, la mezcla inicial o la mezcla preliminar es un extracto de cannabis.

65 Según algunas realizaciones, el alcohol de la solución de elución se selecciona independientemente entre etanol y metanol, y el alcano de la solución de elución se selecciona independientemente entre pentano, hexano, heptano y

octano; y/o en donde la solución de elución de la etapa de purificación principal tiene una relación de volumen de alcano a alcohol de 99/1 a 50/50.

5 Según algunas realizaciones, cada una de entre la solución de elución de la etapa de purificación preliminar y la solución de lavado de la etapa de purificación principal y, opcionalmente, de la etapa de purificación preliminar, es una mezcla de un disolvente polar y un disolvente no polar; el disolvente polar se selecciona preferiblemente independientemente entre etanol, metanol y agua, y el disolvente no polar se selecciona preferiblemente independientemente entre pentano, hexano, heptano y octano; y en donde la solución de elución de la etapa de purificación preliminar tiene preferiblemente una relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de 99/1 a 50/50; y la solución de lavado de la etapa de purificación principal y, opcionalmente, de la etapa de purificación preliminar, tiene preferiblemente una relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de 1/99 a 50/50.

15 Según algunas realizaciones, el método comprende además equilibrar la fase estacionaria principal con una solución de equilibrado para equilibrar la fase estacionaria principal para una inyección adicional, siendo la solución de elución de la etapa de purificación principal y la solución de equilibrado preferiblemente las mismas.

20 Según algunas realizaciones, la etapa de purificación principal se lleva a cabo en una instalación que tiene una longitud total del lecho inferior a 100 cm; y en donde la etapa de purificación preliminar, si está presente, se lleva a cabo en una instalación que tiene una longitud total del lecho inferior a 100 cm.

25 Según algunas realizaciones, el método se lleva a cabo en una instalación que comprende una o más columnas cromatográficas que tienen un diámetro igual o superior a 5 cm, y/o en donde la instalación tiene un volumen muerto total inferior o igual al 30 %, preferiblemente inferior o igual al 20 %, más preferiblemente inferior o igual al 10 % e incluso más preferiblemente inferior o igual al 5 % del volumen total de la fase estacionaria principal de la instalación.

Según algunas realizaciones, la inyección de la mezcla inicial se realiza de forma continua o discontinua.

30 Según algunas realizaciones, la proporción en peso del al menos un compuesto cannabinoide purificado con respecto a la cantidad del al menos un compuesto cannabinoide presente en la mezcla inicial es de al menos el 95 %, preferiblemente al menos el 98 %, más preferiblemente al menos el 99 % y con la máxima preferencia al menos el 99,5 % o el 99,9 %, y/o en donde la al menos una fracción de elución o fracción de lavado que contiene el al menos un compuesto cannabinoide purificado del uno o más compuestos adicionales comprende además una proporción en peso del uno o más compuestos adicionales que es inferior al 5 %, preferiblemente al menos el 2 %, más preferiblemente inferior al 1 % y con la máxima preferencia inferior al 0,5 % o inferior al 0,1 %, con respecto a la cantidad del uno o más compuestos adicionales presentes en la mezcla inicial.

40 La presente invención permite abordar la necesidad mencionada anteriormente. En particular, la invención proporciona un método mejorado para purificar compuestos cannabinoides, que permite notablemente la separación entre compuestos cannabinoides e impurezas, tales como sustancias fitosanitarias, así como que permite la separación entre los propios compuestos cannabinoides diferentes.

45 Esto se logra mediante el uso de partículas de sílice que comprenden grupos amino y/o diol. Como resultado, la polaridad de la sílice aumenta en comparación con la sílice desnuda, mejorando de este modo la separación no sólo entre los compuestos cannabinoides y las impurezas, tales como las sustancias fitosanitarias, sino también entre los diferentes compuestos cannabinoides presentes en la misma mezcla inicial.

50 En algunas realizaciones, la invención permite purificar los compuestos cannabinoides de una manera más eficiente, es decir, con un mayor rendimiento y/o con una mayor selectividad y/o en un tiempo más corto y/o con un menor consumo de disolvente.

55 En la técnica anterior de la cromatografía, se pueden usar algunas expresiones con diferentes significados. En aras de la claridad, se presenta la siguiente definición de las expresiones “solución de elución” y “solución de lavado”. Hay que tener en cuenta los diferentes componentes de una alimentación, dependiendo de sus tiempos de retención, en comparación con el tiempo de retención de un producto no retenido. Estos componentes pueden considerarse como:

- débilmente retenidos cuando sus tiempos de retención son inferiores al doble del tiempo de retención de un producto no retenido; estos componentes débilmente retenidos se recogen con el uso de una solución de elución;
- 60 - altamente retenidos cuando sus tiempos de retención son de 2 a aproximadamente 15 veces el tiempo de retención de un producto no retenido; estos componentes altamente retenidos se recogen con el uso de una solución de elución y pueden requerir una modulación de la fuerza del eluyente;
- fuertemente retenidos o fijos cuando sus tiempos de retención son superiores aproximadamente a 15 veces el tiempo de retención de un producto no retenido; estos componentes fuertemente retenidos se eliminan y se recogen con el uso de una solución de lavado.

Por lo tanto, una solución de elución es una solución que puede eluir productos débilmente y altamente retenidos. La fuerza eluyente de la solución de elución puede aumentarse para disminuir los tiempos de retención de algunos componentes.

5 Una solución de lavado es una solución con una alta fuerza de elución que puede eliminar los componentes fuertemente retenidos o fijos de la fase estacionaria.

### Breve descripción de los dibujos

10 Las Figuras 1 a 5 son cromatogramas obtenidos al implementar la purificación de cannabinoides según diversas realizaciones de la invención, como se describe con más detalle en la sección de ejemplos. El tiempo (en minutos) se muestra en el eje x y la intensidad de la señal se muestra en el eje y.

### 15 Descripción de las realizaciones

La invención se describirá ahora con más detalle sin limitación en la siguiente descripción.

20 El método de la invención comprende una etapa de purificación principal, en donde una mezcla inicial que comprende al menos un compuesto cannabinoide y uno o más compuestos adicionales (tales como impurezas o contaminantes) se somete a separación cromatográfica usando una fase estacionaria principal que comprende partículas de sílice que comprenden grupos amino y/o diol.

25 Opcionalmente, el método de la invención también puede comprender una etapa de purificación preliminar, antes de la etapa de purificación principal, en donde se obtiene la mezcla inicial, partiendo de una mezcla preliminar que contiene el al menos un compuesto cannabinoide, el uno o más compuestos adicionales, así como uno o más de otros compuestos.

30 El material de partida del método de la invención es, por lo tanto, la mezcla inicial o la mezcla preliminar, dependiendo de si la etapa de purificación preliminar está presente o no.

35 El al menos un compuesto cannabinoide recuperado en forma purificada puede usarse en particular en una composición terapéutica o en una composición recreativa. En particular, puede formularse como una composición de cigarrillo electrónico.

#### Material de partida

40 Aparte del al menos un compuesto cannabinoide, el uno o más compuestos adicionales y, opcionalmente, el uno o más de otros compuestos, el material de partida puede comprender notablemente agua o puede ser una solución a base de agua. Alternativamente, el material de partida puede comprender o estar basado en un disolvente no acuoso. Alternativamente, el material de partida puede estar en forma de extracto seco.

45 El material de partida puede comprender uno o más compuestos cannabinoides, por ejemplo, derivados de una planta de cannabis. La expresión “*planta de cannabis*” se refiere a *Cannabis sativa* de tipo silvestre y también a variantes de la misma, que incluyen quimiovariedades de cannabis que contienen naturalmente diferentes cantidades de cannabinoides individuales, que incluyen también *Cannabis sativa* subespecie *indica* que incluye las variantes *var. indica* y *var. kafiristanica*, *Cannabis indica*, así como plantas que son el resultado de cruzamientos genéticos, autocruzamientos o híbridos de las mismas.

50 El material de partida puede comprender al menos un compuesto cannabinoide seleccionado entre  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC), cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN), cannabigerol (CBG), cannabicromeno (CBC), cannabidivarol (CBDV), tetrahidrocannabidiol (THCBD), tetrahidrocannabidivarol (THCBDV), tetrahidrocannabigerol (THCBG), tetrahidrocannabicromeno (THCBC),  $\Delta^8$ -tetrahidrocannabinol, ácidos carboxílicos precursores de los compuestos anteriores, compuestos de origen natural relacionados y sus derivados.

55 Según algunas realizaciones, el material de partida comprende un único compuesto cannabinoide.

60 Según algunas realizaciones preferidas, el material de partida comprende más de un compuesto cannabinoide. En este caso, se busca purificar al menos uno o posiblemente varios de los cannabinoides. Otros de los compuestos cannabinoides pueden considerarse opcionalmente como impurezas o contaminantes (en la presente memoria, “*compuestos adicionales*” y/u “*otros compuestos*”) y puede buscarse separarlos y eliminarlos.

Preferiblemente, el material de partida comprende al menos  $\Delta^9$ -THC y/o CBD y/o CBN.

65 Según algunas realizaciones, el material de partida puede comprender del 5 al 100 % de compuestos cannabinoides, y preferiblemente del 10 al 100 % de compuestos cannabinoides, con respecto al peso seco total del material de

## ES 3 021 585 T3

partida. Por lo tanto, el material de partida puede comprender del 5 al 10 %; o del 10 al 20 %; o del 20 al 30 %; o del 30 al 40 %; o del 40 al 50 %; o del 50 al 60 %; o del 60 al 70 %; o del 70 al 80 %; o del 80 al 90 %; o del 90 al 100 % de compuestos cannabinoides, con respecto al peso seco total del material de partida.

5 Cuando el material de partida comprende  $\Delta^9$ -THC, el  $\Delta^9$ -THC puede representar del 0,01 al 99,9 %, y preferiblemente del 0,1 al 95 % del peso seco total del material de partida. Por ejemplo, el  $\Delta^9$ -THC puede representar del 0,01 al 0,1 %; o del 0,1 al 0,5 %; o del 0,5 al 1 %; o del 1 al 2 %; o del 2 al 3 %; o del 3 al 4 %; o del 4 al 5 %; o del 5 al 10 %; o del 10 al 15 %; o del 15 al 20 %; o del 20 al 25 %; o del 25 al 30 %; o del 30 al 35 %; o del 35 al 40 %; o del 40 al 45 %; o del 45 al 50 %; o del 50 al 55 %; o del 55 al 60 %; o del 60 al 65 %; o del 65 al 70 %; o del 70 al 75 %; o del 75 al 80 %; o del 80 al 85 %; o del 85 al 90 %; o del 90 al 95 %; o del 95 al 99,9 % del peso seco total del material de partida.

10 Cuando el material de partida comprende CBD, el CBD puede representar del 0,01 al 9,9 %, y preferiblemente del 0,1 al 95 % del peso seco total del material de partida. Por ejemplo, el CBD puede representar del 0,01 al 0,1 %; o del 0,1 al 0,5 %; o del 0,5 al 1 %; o del 1 al 2 %; o del 2 al 3 %; o del 3 al 4 %; o del 4 al 5 %; o del 5 al 10 %; o del 10 al 15 %; o del 15 al 20 %; o del 20 al 25 %; o del 25 al 30 %; o del 30 al 35 %; o del 35 al 40 %; o del 40 al 45 %; o del 45 al 50 %; o del 50 al 55 %; o del 55 al 60 %; o del 60 al 65 %; o del 65 al 70 %; o del 70 al 75 %; o del 75 al 80 %; o del 80 al 85 %; o del 85 al 90 %; o del 90 al 95 %; o del 95 al 99,9 % del peso seco total del material de partida.

15 El material de partida comprende uno o más compuestos adicionales y, opcionalmente, otros compuestos, que se van a separar del al menos un compuesto cannabinoide.

20 En algunas variaciones, los compuestos adicionales y/u otros compuestos pueden comprender o consistir en compuestos cannabinoides, que pueden seleccionarse en particular entre la lista anterior.

25 Por ejemplo, el compuesto que se va a purificar puede ser CBD, y los compuestos adicionales y/u otros compuestos que se van a separar del mismo pueden comprender o consistir en  $\Delta^9$ -THC y/o CBN. O el compuesto que se va a purificar puede ser CBN, y los compuestos adicionales y/u otros compuestos que se van a separar del mismo pueden comprender o consistir en  $\Delta^9$ -THC y/o CBD. O el compuesto que se va a purificar puede ser  $\Delta^9$ -THC, y los compuestos adicionales y/u otros compuestos que se van a separar del mismo pueden comprender o consistir en CBD y/o CBN.

30 En algunas variaciones, los compuestos adicionales y/o compuestos adicionales pueden comprender o consistir en plaguicidas y/o reguladores del crecimiento de las plantas.

35 Los plaguicidas son sustancias destinadas a repeler, matar o controlar cualquier especie designada como "plaga", que incluye malas hierbas, insectos, roedores, hongos u otros organismos. Los plaguicidas incluyen herbicidas, insecticidas, rodenticidas, fungicidas y bactericidas.

40 Los reguladores del crecimiento de las plantas son sustancias o mezclas de sustancias destinadas a acelerar o retrasar la velocidad de crecimiento o la velocidad de maduración, o a alterar de cualquier otro modo el comportamiento de las plantas o los productos de las mismas. Los nutrientes vegetales, los oligoelementos, los productos químicos nutricionales, los inoculantes vegetales y los modificadores del suelo no se consideran reguladores del crecimiento de las plantas.

45 Los ejemplos de plaguicidas y reguladores del crecimiento de las plantas incluyen daminozida, neonicotinoides tales como, p. ej., imidacloprid y tiametoxam, estrobilurinas tales como, p. ej., azoxiestrobina y trifloxiestrobina, triazoles tales como miclobutanilo, avermectina, etoxazol, bifenazato, así como sus derivados.

50 Según algunas realizaciones, el material de partida comprende un único compuesto adicional que debe separarse del al menos un compuesto cannabinoide.

Según otras realizaciones, el material de partida comprende varios compuestos adicionales y/o compuestos adicionales que se van a separar del al menos un compuesto cannabinoide.

55 En algunas realizaciones, los compuestos adicionales y/u otros compuestos comprenden o consisten en uno o más compuestos cannabinoides, por un lado, más uno o más plaguicidas y/o reguladores del crecimiento de las plantas, por otro lado.

60 Según algunas realizaciones, el material de partida puede comprender del 0,01 al 50 % del uno o más compuestos adicionales y/u otros compuestos, y preferiblemente del 0,1 al 50 % del uno o más compuestos adicionales y/u otros compuestos, basándose en el peso seco total del material de partida. Por ejemplo, el material de partida puede comprender del 0,01 al 0,1 %; o del 0,1 al 0,5 %; o del 0,5 al 1 %; o del 1 al 2 %; o del 2 al 3 %; o del 3 al 4 %; o del 4 al 5 %; o del 5 al 10 %; o del 10 al 15 %; o del 15 al 20 %; o del 20 al 25 %; o del 25 al 30 %; o del 30 al 35 %; o del 35 al 40 %; o del 40 al 45 %; o del 45 al 50 % del uno o más compuestos adicionales y/u otros compuestos.

65 En particular, el material de partida puede comprender del 0,01 al 50 % de uno o más reguladores del crecimiento de las plantas y/o plaguicidas, y preferiblemente del 0,1 al 50 % de uno o más reguladores del crecimiento de las plantas

y/o plaguicidas, con respecto al peso seco total del material de partida. Por ejemplo, el material de partida puede comprender del 0,01 al 0,1 %; o del 0,1 al 0,5 %; o del 0,5 al 1 %; o del 1 al 2 %; o del 2 al 3 %; o del 3 al 4 %; o del 4 al 5 %; o del 5 al 10 %; o del 10 al 15 %; o del 15 al 20 %; o del 20 al 25 %; o del 25 al 30 %; o del 30 al 35 %; o del 35 al 40 %; o del 40 al 45 %; o del 45 al 50 % de uno o más reguladores del crecimiento de las plantas y/o plaguicidas.

5 Una ventaja de la presente invención es que permite separar los compuestos cannabinoides de los productos químicos tales como los reguladores del crecimiento de las plantas y/o los plaguicidas que pueden estar presentes en cantidades mínimas en un material de partida.

10 Además del al menos un compuesto cannabinoide que se va a purificar y el uno o más compuestos adicionales y/u otros compuestos, el material de partida también puede comprender ceras naturales, terpenos y flavonoides.

15 El material de partida puede ser un extracto obtenido de una planta de cannabis. La planta de cannabis puede incluir diferentes especies, como el cáñamo y la marihuana. El material de partida puede ser un extracto de cannabis, notablemente un extracto de cáñamo, o un extracto de marihuana, o una mezcla derivada de uno de ellos. Por “*extracto de marihuana*” se entiende un extracto en donde el  $\Delta^9$ -THC es el principal compuesto cannabinoide. Por “*extracto de cáñamo*” se entiende un extracto enriquecido en CBD, y/o en donde el CBD es el principal compuesto cannabinoide y en donde el  $\Delta^9$ -THC se encuentra en niveles bajos.

20 El material de partida puede obtenerse extrayendo fluidos de cannabis con un disolvente no polar, un alcohol (tal como etanol) o dióxido de carbono líquido, preferiblemente con un disolvente no polar. Puede usarse cualquier disolvente no polar capaz de solubilizar la planta de cannabis. Los disolventes no polares preferidos incluyen disolventes no polares líquidos que comprenden alcanos de cadena lineal o ramificada de C5 a C12, preferiblemente de C5 a C8. Más preferiblemente, el disolvente no polar es hexano o heptano.

25 El material de partida puede prepararse solubilizando una parte de la planta de cannabis en un disolvente de extracción, eliminando el material insoluble de la solución resultante y eliminando el disolvente de extracción de la solución para formar la mezcla inicial que el contiene al menos un compuesto cannabinoide.

30 Fase estacionaria principal

En la etapa de purificación principal, se hace uso de una fase estacionaria principal, que comprende partículas de sílice o consiste preferiblemente en partículas de sílice.

35 Estas partículas de sílice de la invención forman un denominado gel de sílice cuando están en solución. Comprenden grupos amino y/o diol en su superficie. En otras palabras, las partículas de sílice comprenden funciones injertadas de aminas y/o dioles. Cuando se usan en una instalación cromatográfica, las partículas de sílice forman una fase normal, lo que significa que las partículas de sílice son en su mayoría polares y se cree que la separación entre especies depende principalmente de interacciones polares entre las diversas especies y las partículas.

40 Las partículas de sílice pueden comprender, en particular, grupos de fórmula (I) en su superficie: (I)  $-\text{Si}-\text{R}-\text{NH}_2$ , en donde R es un grupo enlazador que puede comprender, por ejemplo, de 1 a 20 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 10 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono y, opcionalmente, al menos un heteroátomo, preferiblemente oxígeno. R puede ser, en particular,  $(\text{CH}_2-\text{CH}_2)$  o  $(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2)$ . Alternativamente, las partículas de sílice pueden comprender grupos de fórmula (II) en su superficie: (II)  $-\text{Si}-\text{R}_1(\text{OH})-\text{R}_2(\text{OH})$ , en donde  $\text{R}_1$  y  $\text{R}_2$  son grupos enlazadores, cada uno de los cuales puede comprender, por ejemplo, de 1 a 20 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 10 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono y, opcionalmente, al menos un heteroátomo, preferiblemente oxígeno.  $\text{R}_1$  puede ser, en particular,  $(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n$ , en donde m y n son números enteros preferiblemente de 1 a 4, más preferiblemente de 1 a 3 y, por ejemplo, m = 3 y n = 1.  $\text{R}_2$  puede ser, en particular,  $(\text{CH}_2)_m$ , en donde m es un número entero, preferiblemente de 1 a 3, o de 1 a 2, y con la máxima preferencia m es 1.

50 Las partículas de sílice pueden tener preferiblemente un diámetro volumétrico promedio ( $\text{Dv}_{50}$ ) igual o inferior a 200  $\mu\text{m}$ , o 150  $\mu\text{m}$ , o 100  $\mu\text{m}$ , o 50  $\mu\text{m}$ , o 20  $\mu\text{m}$ .

55 En algunas realizaciones, el  $\text{Dv}_{50}$  de las partículas de sílice es de 1  $\mu\text{m}$  a 50  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de 2  $\mu\text{m}$  a 30  $\mu\text{m}$ , o de 5  $\mu\text{m}$  a 20  $\mu\text{m}$ .

60 El término  $\text{Dv}_{50}$  se refiere al percentil 50 de la distribución de tamaño de partículas, es decir, el 50 % de las partículas tienen un tamaño (correspondiente al diámetro de las partículas, cuando las partículas son esféricas) inferior al  $\text{Dv}_{50}$  y el 50 % tienen un tamaño superior al  $\text{Dv}_{50}$ . Esta es la mediana de la distribución volumétrica de las partículas de sílice.

65 Preferiblemente, la distribución del diámetro volumétrico de las partículas de sílice tiene solo un pico (distribución monodispersa). El coeficiente de uniformidad de esta distribución puede ser, por ejemplo, inferior o igual a 1,5, o inferior o igual a 1,3, o inferior o igual a 1,15. La distribución de tamaño de partículas de las partículas de sílice puede determinarse mediante granulometría láser (norma NF 13320).

Etapa de purificación principal

- 5 En la etapa de purificación principal, el al menos un compuesto cannabinoide se separa sustancialmente del uno o más compuestos adicionales en una instalación cromatográfica.
- Como primera etapa, la mezcla inicial se pone en contacto con la fase estacionaria principal que comprende partículas de sílice como se ha descrito anteriormente, inyectando la mezcla inicial en dicha fase estacionaria principal.
- 10 Antes de que la mezcla inicial se ponga en contacto con la fase estacionaria principal, puede opcionalmente diluirse o disolverse (si es un extracto seco) en un disolvente o, alternativamente, usarse tal cual. Los disolventes que pueden usarse para disolver la mezcla inicial incluyen alcanos C5-C12 tales como heptano y hexano, alcoholes tales como etanol o sus mezclas. Estos disolventes son preferiblemente similares a la solución de elución que se describe a continuación, aunque no de forma limitativa.
- 15 A continuación, se lleva a cabo una etapa de elución haciendo pasar una solución de elución a través de la fase estacionaria principal. Opcionalmente, esto va seguido de una etapa de lavado que se realiza haciendo pasar una solución de lavado a través de la fase estacionaria principal.
- 20 Se recoge al menos una fracción en la etapa de elución.
- Si se lleva a cabo la etapa de lavado, se recoge al menos una fracción en la etapa de lavado.
- 25 En algunas realizaciones, se recoge una sola fracción en la etapa de elución. En otras realizaciones, se recogen al menos dos fracciones en la etapa de elución.
- En algunas realizaciones, se recoge una sola fracción en la etapa de lavado. En otras realizaciones, se recogen al menos dos fracciones en la etapa de lavado.
- 30 Puede recogerse más de una fracción en diferentes momentos en una etapa determinada.
- Al menos una de las fracciones recogidas contiene el al menos un compuesto cannabinoide (deseado) purificado del uno o más compuestos adicionales, lo que significa que la fracción está enriquecida en el al menos un compuesto cannabinoide y agotada en el uno o más compuestos adicionales.
- 35 Por una fracción “*enriquecida*” en una especie A y “*agotada*” en una especie B, se entiende que la relación de las concentraciones en peso de la especie A/especie B en la fracción es superior a la de la mezcla inicial (independientemente de los efectos de la concentración o la dilución global).
- 40 La relación puede ser mayor en al menos un factor de 10 o 100 o 1000 o 10000.
- La proporción en peso del al menos un compuesto cannabinoide purificado con respecto a la cantidad del al menos un compuesto cannabinoide presente en la mezcla inicial puede ser de al menos el 95 %, preferiblemente de al menos el 98 %, más preferiblemente de al menos el 99 % y con la máxima preferencia de al menos el 99,5 % o el 99,9 %.
- 45 La proporción en peso del uno o más compuestos adicionales recuperados en la al menos una fracción de elución o fracción de lavado que comprende el al menos un compuesto cannabinoide purificado con respecto a la cantidad presente en la mezcla inicial puede ser inferior al 5 %, preferiblemente de al menos el 2 %, más preferiblemente inferior al 1 % y con la máxima preferencia inferior al 0,5 % o inferior al 0,1 %.
- 50 La proporción en peso del uno o más compuestos adicionales con respecto al al menos un compuesto cannabinoide purificado, en la al menos una fracción de elución o fracción de lavado que comprende el al menos un compuesto cannabinoide purificado, puede ser en particular inferior al 2 %, preferiblemente inferior al 1 %, más preferiblemente inferior al 0,5 %, con la máxima preferencia inferior al 0,1 % o inferior al 0,05 % o inferior al 0,01 %.
- 55 Otras fracciones recogidas pueden enriquecerse en uno o varios de los uno o más compuestos adicionales y agotarse en el al menos un compuesto cannabinoide (deseado).
- 60 La proporción en peso del uno o más compuestos adicionales recuperados en fracciones distintas de la fracción que contiene el al menos un compuesto cannabinoide purificado, con respecto a la cantidad presente en la mezcla inicial, puede ser de al menos el 95 %, preferiblemente de al menos el 98 %, más preferiblemente de al menos el 99 % y con la máxima preferencia de al menos el 99,5 % o el 99,9 %.
- 65 En algunas realizaciones, la fracción que contiene el al menos un compuesto cannabinoide purificado se obtiene en la etapa de elución.

En algunas realizaciones, puede obtenerse al menos una fracción enriquecida en uno o más compuestos adicionales en la etapa de elución.

5 En algunas realizaciones, puede obtenerse al menos una fracción enriquecida en uno o más compuestos adicionales en la etapa de lavado.

En algunas realizaciones, puede obtenerse al menos una fracción enriquecida en uno o más compuestos adicionales en la etapa de elución y al menos una fracción enriquecida en uno o más de otros compuestos adicionales puede obtenerse en la etapa de lavado.

10 En algunas realizaciones, al menos parte, y posiblemente todos, los compuestos adicionales presentes en la mezcla inicial tienen una afinidad más fuerte por la fase estacionaria principal que por el al menos un compuesto cannabinoide y, por lo tanto, quedan retenidos en ella durante la etapa de elución (y opcionalmente se lavan durante la etapa de lavado).

15 En algunas realizaciones, al menos parte, y posiblemente todos, los compuestos adicionales tienen una afinidad más débil por la fase estacionaria principal que el al menos un compuesto cannabinoide y, por lo tanto, se eluyen durante la etapa de elución antes del al menos un compuesto cannabinoide y se recogen por separado.

20 En algunas realizaciones, algunos de los compuestos adicionales tienen una afinidad más débil por la fase estacionaria principal que el al menos un compuesto cannabinoide y otros de los compuestos adicionales tienen una afinidad más fuerte por la fase estacionaria principal que el al menos un compuesto cannabinoide. Estos compuestos adicionales respectivos se recogen de este modo en diferentes fracciones.

25 En algunas realizaciones ilustrativas, durante la etapa de elución, se recupera una primera fracción que contiene una mezcla de compuestos cannabinoides (que incluyen, por ejemplo,  $\Delta^9$ -THC, CBD y CBN), así como una o más fracciones que contienen compuestos adicionales (tales como plaguicidas o reguladores del crecimiento de las plantas) que pueden ser, por ejemplo, más polares que los compuestos cannabinoides. La primera fracción está sustancialmente libre de estos compuestos adicionales. Los neonicotinoides (tales como el tiametoxam y el imidacloprid) son ejemplos de dichos compuestos adicionales. Otros compuestos adicionales pueden coeluirse en la primera fracción y pueden separarse en otra etapa. Sin embargo, otros compuestos adicionales pueden permanecer unidos a la fase estacionaria principal y pueden liberarse y recogerse en una fracción durante una etapa de lavado posterior.

35 En otras realizaciones ilustrativas, durante la etapa de elución, pueden recuperarse dos o más fracciones que contienen compuestos cannabinoides y, opcionalmente, puede recuperarse por separado al menos otra fracción que contiene compuestos adicionales (tales como plaguicidas o reguladores del crecimiento de las plantas), que puede ser, por ejemplo, no polar. Las estrobilurinas, tales como la trifloxiestrobina, son ejemplos de dichos compuestos adicionales. Las fracciones que contienen compuestos cannabinoides pueden ser, por ejemplo, una fracción que contiene  $\Delta^9$ -THC, por un lado, y otra fracción que contiene CBD y CBN, por otro lado; o una fracción que contiene  $\Delta^9$ -THC, una fracción que contiene CBD y una fracción que contiene CBN. Cada una de las fracciones anteriores puede estar sustancialmente libre de los compuestos indicados como contenidos en otra fracción. Otros compuestos adicionales pueden permanecer unidos a la fase estacionaria principal y pueden liberarse y recogerse en una fracción durante una etapa de lavado posterior.

45 En otras realizaciones ilustrativas, algunos o todos los compuestos adicionales se eluyen durante la etapa de elución, mientras que el al menos un compuesto cannabinoide permanece unido a la fase estacionaria principal. A continuación, el al menos un compuesto cannabinoide puede recogerse durante una etapa de lavado posterior, como una fracción sustancialmente libre de los compuestos adicionales eluidos durante la etapa de elución.

50 Una solución de elución puede ser un disolvente no polar. Una solución de elución también puede ser, más preferiblemente, una mezcla de un disolvente polar y uno no polar.

55 Por "*disolvente polar*" se entiende en la presente memoria un disolvente que tiene una constante dieléctrica a una temperatura de 20 °C que es de al menos 15. Por "*disolvente no polar*" se entiende en la presente memoria un disolvente que tiene una constante dieléctrica a una temperatura de 20 °C que es inferior a 15.

60 El disolvente polar puede ser, en particular, un alcohol, tal como etanol o metanol, agua y mezclas de los mismos. Preferiblemente, se usa etanol como disolvente polar.

El disolvente no polar puede ser en particular un alcano, preferiblemente un alcano de C5 a C10. Más preferiblemente, el disolvente no polar puede seleccionarse entre pentano, hexano, heptano y octano. Según las realizaciones preferidas, el disolvente no polar es hexano o heptano, más preferiblemente heptano.

65 La solución de elución según las reivindicaciones es una mezcla de un alcano y un alcohol.

- 5 La elución puede realizarse en modo isocrático o modo de gradiente. En el modo isocrático, la composición de la solución de elución permanece constante durante la etapa de elución. En el modo de gradiente, la composición de la solución de elución varía durante la etapa de elución. En particular, la proporción en volumen de disolvente polar con respecto a disolvente no polar en la solución de elución puede variar durante la etapa de elución. En particular, la proporción en volumen de disolvente polar con respecto a disolvente no polar en la solución de elución puede aumentar durante la etapa de elución. Sin embargo, se prefiere el modo isocrático.
- 10 La solución de elución puede tener una relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de 99/1 a 50/50. Más preferiblemente, esta relación de volumen es de 98/2 a 60/40. Por lo tanto, la relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de la solución de elución puede ser, por ejemplo, de 99/1 a 90/10; o de 90/10 a 80/20; o de 80/20 a 70/30; o de 70/30 a 60/40; o de 60/40 a 50/50.
- 15 En la etapa de lavado opcional, la fase estacionaria principal se puede lavar con una solución de lavado. Durante esta etapa, los compuestos retenidos en la fase estacionaria principal se pueden lavar y, opcionalmente, recuperar, como una o más fracciones.
- 20 La solución de lavado puede ser un disolvente polar. La solución de lavado también puede ser, más preferiblemente, una mezcla de un disolvente polar y uno no polar.
- 25 El disolvente polar puede ser, en particular, un alcohol tal como etanol o metanol, agua y mezclas de los mismos. Preferiblemente, se usa etanol como disolvente polar.
- 30 El disolvente no polar en particular es un alcano, preferiblemente un alcano de C5 a C10. Más preferiblemente, el disolvente no polar puede seleccionarse entre pentano, hexano, heptano y octano. Según las realizaciones preferidas, el disolvente no polar es hexano o heptano, siendo más preferido el heptano.
- 35 La solución de lavado puede tener notablemente una relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de 1/99 a 50/50. Más preferiblemente, esta relación de volumen es de 2/98 a 40/60. Por lo tanto, la relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de la solución de lavado puede ser de 1/99 a 10/90; o de 10/90 a 20/80; o de 20/80 a 30/70; o de 30/70 a 40/60; o de 40/60 a 50/50.
- 40 Preferiblemente, la solución de lavado es más polar (es decir, contiene una mayor proporción relativa de disolvente polar) que la solución de elución.
- 45 El lavado puede realizarse en modo isocrático o modo de gradiente. En el modo isocrático, la composición de la solución de lavado permanece constante durante la etapa de lavado. En el modo de gradiente, la composición de la solución de lavado varía durante la etapa de lavado. En particular, la proporción en volumen de disolvente polar con respecto a disolvente no polar en la solución de lavado puede variar durante la etapa de lavado. En particular, la proporción en volumen de disolvente polar con respecto a disolvente no polar en la solución de lavado puede aumentar durante la etapa de lavado. Sin embargo, se prefiere el modo isocrático.
- 50 Opcionalmente, la fase estacionaria principal puede equilibrarse poniéndola en contacto con una solución de equilibrado. Esta etapa hace que los sitios de adsorción de la fase estacionaria principal estén disponibles para otra purificación.
- 55 La solución de equilibrio puede ser un disolvente no polar. La solución de equilibrado también puede ser, más preferiblemente, una mezcla de un disolvente polar y uno no polar.
- 60 El disolvente polar puede ser, en particular, un alcohol tal como etanol o metanol, agua y mezclas de los mismos. Preferiblemente, se usa etanol como disolvente polar.
- 65 El disolvente no polar puede ser en particular un alcano, preferiblemente un alcano de C5 a C10. Más preferiblemente, el disolvente no polar puede seleccionarse entre pentano, hexano, heptano y octano. Según las realizaciones preferidas, el disolvente no polar es hexano o heptano, siendo más preferido el heptano.
- La solución de equilibrado puede tener notablemente una relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de 99/1 a 50/50. Más preferiblemente, esta relación de volumen es de 98/2 a 60/40. Por lo tanto, la relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de la solución de equilibrado puede ser de 99/1 a 90/10; o de 90/10 a 80/20; o de 80/20 a 70/30; o de 70/30 a 60/40; o de 60/40 a 50/50.
- Preferiblemente, la solución de equilibrio es la misma que la solución de elución.
- Etapa de purificación preliminar mediante purificación cromatográfica
- 65 El método de la invención puede comprender dos etapas sucesivas, una etapa de purificación preliminar o pretratamiento (que se describe a continuación) y una etapa de purificación principal (descrita anteriormente). En la

etapa preliminar, la mezcla inicial se prepara a partir de una mezcla preliminar correspondiente al material de partida descrito anteriormente. En esta etapa, se hace uso de una fase estacionaria preliminar.

5 La etapa de purificación preliminar puede ser una etapa de purificación cromatográfica.

La fase estacionaria preliminar puede ser igual o diferente de la fase estacionaria principal.

10 Según algunas realizaciones, la fase estacionaria preliminar puede comprender partículas de sílice. En particular, la fase estacionaria preliminar puede comprender o consistir en partículas de sílice que comprenden grupos amino y/o diol, como se describió anteriormente.

15 Si las fases estacionarias preliminar y principal son las mismas, pueden usarse dos lechos diferentes de la misma fase estacionaria, por ejemplo, en dos instalaciones cromatográficas diferentes. Alternativamente, las fases estacionaria preliminar y principal pueden ser el mismo lecho en la misma instalación cromatográfica, utilizadas sucesivamente en diferentes momentos.

Según algunas realizaciones, la fase estacionaria preliminar puede comprender o consistir en partículas de sílice no funcionalizadas.

20 Durante una primera etapa, la mezcla preliminar se pone en contacto con la fase estacionaria preliminar inyectando la mezcla preliminar en la fase estacionaria preliminar.

25 A continuación, se lleva a cabo una elución con una solución de elución para recoger una o más fracciones de elución preliminares, seguida opcionalmente de una etapa de lavado con una solución de lavado para recoger una o más fracciones de lavado preliminares.

Se recoge al menos una fracción de elución preliminar en la etapa de elución.

30 Si se lleva a cabo la etapa de lavado, se recoge al menos una fracción de lavado preliminar en la etapa de lavado.

En algunas realizaciones, se recoge una única fracción de elución preliminar en la etapa de elución. En otras realizaciones, se recogen al menos dos fracciones de elución preliminares en la etapa de elución.

35 En algunas realizaciones, se recoge una única fracción de lavado preliminar en la etapa de lavado. En otras realizaciones, se recogen al menos dos fracciones de lavado preliminares en la etapa de lavado.

Puede recogerse más de una fracción preliminar en diferentes momentos en una etapa determinada.

40 Al menos una de las fracciones de elución preliminares o las fracciones de lavado preliminares es una fracción líquida enriquecida en el al menos un compuesto cannabinoide y el uno o más compuestos adicionales y agotada en los otros compuestos. Dicha fracción líquida proporciona la mezcla inicial y se usa en la etapa de purificación principal.

45 Cada etapa de elución, cada solución de elución, cada etapa de lavado y cada solución de lavado pueden ser como se ha descrito con más detalle anteriormente con respecto a la etapa de purificación principal. La solución de elución de la etapa de purificación preliminar puede ser la misma que la solución de elución de la etapa de purificación principal, o preferiblemente diferente.

50 En algunas realizaciones, la solución de elución de la etapa de purificación principal es más polar que la solución de elución de la etapa de purificación preliminar.

En algunas realizaciones, la solución de elución de la etapa de purificación principal es menos polar que la solución de elución de la etapa de purificación preliminar.

55 La solución de elución de la etapa de purificación preliminar es preferiblemente una mezcla de un disolvente polar y uno no polar.

El disolvente polar puede ser, en particular, un alcohol, tal como etanol o metanol, agua y mezclas de los mismos. Preferiblemente, se usa etanol como disolvente polar.

60 El disolvente no polar puede ser en particular un alcano, preferiblemente un alcano de C5 a C10. Más preferiblemente, el disolvente no polar puede seleccionarse entre pentano, hexano, heptano y octano. Según las realizaciones preferidas, el disolvente no polar es hexano o heptano, más preferiblemente heptano.

65 La solución de elución de la etapa de purificación preliminar puede tener una relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de 99/1 a 50/50. Más preferiblemente, esta relación de volumen es de 98/2 a 60/40. Por lo tanto, la relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de la solución de elución de la etapa de

purificación preliminar puede ser, por ejemplo, de 99/1 a 90/10; o de 90/10 a 80/20; o de 80/20 a 70/30; o de 70/30 a 60/40; o de 60/40 a 50/50.

5 La fase estacionaria preliminar puede equilibrarse después de la elución y el lavado opcional de la etapa de purificación preliminar, como se ha descrito anteriormente con respecto a la etapa de purificación principal. Esto es útil en particular si se va a usar de nuevo como la fase estacionaria principal en la etapa de purificación principal.

10 Esta variante puede ser ventajosa para separar al menos un compuesto cannabinoide de varios compuestos o grupos de compuestos diferentes. En la etapa de purificación preliminar, el al menos un compuesto cannabinoide se separa de los otros compuestos, pero sustancialmente no se separa de los compuestos adicionales.

15 Como resultado, la mezcla inicial proporcionada por la etapa de purificación preliminar se enriquece en el al menos un compuesto cannabinoide y los compuestos adicionales y se agota en los otros compuestos, con respecto a la mezcla preliminar.

La relación de la concentración en peso del al menos un compuesto cannabinoide con respecto a la concentración en peso de los otros compuestos es superior en la mezcla inicial que en la mezcla preliminar, preferiblemente en al menos un factor de 10 o 100 o 1000 o 10000.

20 La proporción en peso del al menos un compuesto cannabinoide en la mezcla inicial con respecto a la cantidad del al menos un compuesto cannabinoide presente en la mezcla preliminar puede ser de al menos el 95 %, preferiblemente de al menos el 98 %, más preferiblemente de al menos el 99 % y con la máxima preferencia de al menos el 99,5 % o el 99,9 %.

25 La proporción en peso del uno o más de otros compuestos recuperados en la mezcla inicial con respecto a la cantidad presente en la mezcla preliminar puede ser inferior al 5 %, preferiblemente de al menos el 2 %, más preferiblemente inferior al 1 % y con la máxima preferencia inferior al 0,5 % o inferior al 0,1 %.

30 La proporción en peso del uno o más de otros compuestos con respecto al al menos un compuesto cannabinoide en la mezcla inicial puede ser, en particular, inferior al 2 %, preferiblemente inferior al 1 %, más preferiblemente inferior al 0,5 %, con la máxima preferencia inferior al 0,1 % o inferior al 0,05 % o inferior al 0,01 %.

35 A continuación, en la etapa de purificación principal, el al menos un compuesto cannabinoide se separa de los compuestos adicionales. Como resultado, en la etapa de purificación principal, se recoge una fracción que se enriquece en el al menos un compuesto cannabinoide y se agota en los compuestos adicionales (con respecto a la mezcla inicial obtenida después de la etapa de purificación preliminar).

40 Los principales beneficios de un proceso en dos etapas son que el tamaño de las columnas y los volúmenes de los disolventes pueden ajustarse a la separación específica del al menos un compuesto cannabinoide de los otros compuestos en la etapa de purificación preliminar y a la separación específica del al menos un compuesto cannabinoide de los compuestos adicionales en la etapa de purificación principal.

45 En realizaciones preferidas, la etapa de purificación preliminar se diseña para separar el al menos un compuesto cannabinoide de las impurezas fuertemente retenidas (otros compuestos). Dado que las diferencias en el tiempo de retención son mayores durante la etapa de purificación preliminar, se requiere una cantidad reducida de fase estacionaria y de disolventes, en comparación con la etapa de purificación principal.

50 En algunas realizaciones, los compuestos adicionales pueden comprender reguladores del crecimiento de las plantas y/o plaguicidas no polares (tales como, en particular, estrobilurinas, tales como trifloxiestrobina) y, opcionalmente, compuestos cannabinoides; y los otros compuestos pueden comprender reguladores del crecimiento de las plantas polares y/o plaguicidas (tales como, en particular, neonicotinoides, p. ej., imidacloprid y tiametoxam y/o daminozida).

55 En la etapa de purificación principal, un compuesto cannabinoide particular (deseado), por ejemplo, seleccionado del grupo de CBN, CBD y  $\Delta^9$ -THC, puede separarse de uno o más de otros compuestos cannabinoides, por ejemplo, también seleccionados del grupo de CBN, CBD y  $\Delta^9$ -THC, y también puede separarse de los reguladores del crecimiento de las plantas y/o plaguicidas no polares (tales como una estrobilurina, p. ej., trifloxiestrobina). Por lo tanto, pueden recogerse varias fracciones distintas en la etapa de purificación principal.

60 Etapa de purificación preliminar mediante purificación por suspensión

65 Como variante de la etapa de purificación preliminar anterior mediante purificación cromatográfica, la etapa de purificación preliminar también puede llevarse a cabo poniendo la mezcla preliminar en contacto con la fase estacionaria preliminar, en una solución en suspensión para formar una suspensión. Por ejemplo, la fase estacionaria preliminar puede mezclarse con la mezcla preliminar (y la solución de suspensión), en un tanque provisto de elementos de agitación. Dichos elementos de agitación pueden incluir, por ejemplo, uno o más agitadores, una bomba de recirculación o similares. El tanque puede ser, por ejemplo, un reactor de lecho fluidizado. Después de un tiempo de

residencia determinado, la suspensión puede filtrarse, recogiendo una primera fracción por un lado y la fase estacionaria preliminar por otro lado.

5 Opcionalmente, la fase estacionaria preliminar puede resuspenderse en una solución adicional y filtrarse para recoger una fracción adicional. Esta etapa puede repetirse varias veces si es necesario.

10 Al menos una de entre la primera fracción o las otras es una fracción líquida enriquecida en el al menos un compuesto cannabinoide y el uno o más compuestos adicionales y agotada en los otros compuestos. Dicha fracción líquida proporciona la mezcla inicial y se usa en la etapa de purificación principal.

La fase estacionaria preliminar utilizada en la purificación por suspensión puede ser la misma que la fase estacionaria preliminar utilizada en la purificación cromatográfica preliminar, como se ha descrito anteriormente.

15 Alternativamente, la fase estacionaria preliminar puede comprender o consistir en carbón activado.

Alternativamente, la fase estacionaria preliminar puede comprender o consistir en una o más zeolitas.

20 La solución en suspensión puede ser una solución de elución como se ha descrito anteriormente con respecto a la etapa de purificación preliminar mediante purificación cromatográfica.

Según algunas realizaciones, la solución adicional utilizada para la resuspensión de la fase estacionaria preliminar también puede ser una solución de elución como se ha descrito anteriormente con respecto a la etapa de purificación preliminar mediante purificación cromatográfica.

25 Según algunas realizaciones, la solución adicional utilizada para la resuspensión de la fase estacionaria preliminar puede ser una solución de lavado como se ha descrito anteriormente con respecto a la etapa de purificación preliminar mediante purificación cromatográfica.

30 Según algunas realizaciones, y en caso de que la fase estacionaria preliminar se resuspenda más de una vez, por ejemplo, dos veces, la primera resuspensión puede llevarse a cabo con una solución de elución como se ha descrito anteriormente con respecto a la etapa de purificación preliminar mediante purificación cromatográfica, y la segunda resuspensión puede llevarse a cabo con una solución de lavado como se ha descrito anteriormente con respecto a la etapa de purificación preliminar mediante purificación cromatográfica.

35 Opcionalmente, la fase estacionaria preliminar puede suspenderse finalmente en una solución de equilibrado como se ha descrito anteriormente con respecto a la etapa de purificación preliminar mediante purificación cromatográfica para lograr el equilibrio de la fase estacionaria preliminar antes de reutilizar la fase estacionaria preliminar para otra purificación.

40 Instalaciones cromatográficas y condiciones de operación

El método según la invención puede ser discontinuo (o por lotes), semicontinuo o continuo.

45 El método según la invención puede llevarse a cabo a una temperatura constante o a diferentes temperaturas sucesivas. Preferiblemente, la temperatura es sustancialmente constante. La temperatura a la que se lleva a cabo el método puede oscilar preferiblemente entre 10 y 40 °C, más preferiblemente entre 15 y 30 °C y con la máxima preferencia entre 20 y 25 °C.

50 La expresión "*etapas de purificación cromatográfica*", que se usa a continuación, se refiere a la etapa de purificación principal, así como a la etapa de purificación preliminar cuando se lleva a cabo mediante una purificación cromatográfica.

55 Las etapas de purificación cromatográfica según la invención se llevan a cabo preferiblemente a una presión de 0,1 a 10 MPa (de 1 a 100 bar) y preferiblemente de 1 a 4 MPa (de 10 a 40 bar).

Las etapas de purificación cromatográfica según la invención pueden implementarse en una instalación cromatográfica que tenga un lecho estático o preferiblemente en una instalación cromatográfica con un lecho no estático.

60 En una instalación cromatográfica con un lecho estático, la mezcla de compuestos que se va a separar se percola en un espacio cerrado (o columna) generalmente cilíndrico. La columna contiene un lecho de material poroso (fase estacionaria) que es permeable a los fluidos. La velocidad de percolación de cada compuesto en la mezcla depende de las propiedades físicas del compuesto. Los compuestos más retenidos en la fase estacionaria percolan más lentamente que los compuestos menos retenidos en la fase estacionaria.

65 Es posible llevar a cabo dicho tratamiento en varias columnas en serie o en paralelo, pero generalmente se aplica un sistema de instalación de separación cromatográfica con un lecho estático con una sola columna.

Los ejemplos de dichas instalaciones cromatográficas con un lecho estático son los sistemas de HPLC (cromatografía de líquidos de alto rendimiento) o CYCLOJET™ (un sistema con reciclaje en estado estacionario).

5 El sistema CYCLOJET™ es como se describe en el documento US 6.063.284, al que se hace referencia expresa. Ésta es una instalación de separación cromatográfica discontinua con una sola columna, en la que las especies más retenidas (i) y a continuación las especies menos retenidas (ii) se recogen por separado en la salida de la columna, reciclándose la porción no separada del cromatograma mediante la bomba principal y la mezcla que se va a separar se inyecta periódicamente por medio de un circuito de inyección ubicado esencialmente en el medio de la porción  
10 reciclada del cromatograma. Después de varios ciclos cromatográficos, el proceso alcanza un estado estacionario periódico en el que la cantidad de productos inyectados es igual a la cantidad de productos separados recogidos por separado en la salida de la columna.

15 Una alternativa al sistema CYCLOJET™ que usa dos columnas se describe en el documento US 5.630.943, al que se hace referencia expresa.

Una instalación con un lecho no estático es una instalación de múltiples columnas, en la que las posiciones relativas del lecho de fase estacionaria y de los puntos de inyección o recogida de los flujos se mueven con el tiempo.

20 Son ejemplos de dichas instalaciones cromatográficas con un lecho no estático son los sistemas SMB (lecho móvil simulado), iSMB (lecho móvil simulado mejorado), SSMB (lecho móvil simulado secuencial), AMB (lecho móvil real), VARICOL™, MODICON™, POWERFEED™, MCSGP o GSSR (cromatografía de gradiente de múltiples columnas).

25 Un sistema SMB comprende una pluralidad de columnas individuales que contienen un adsorbente, que están conectadas en serie. Un flujo de eluyente cruza las columnas a lo largo de una primera dirección. Los puntos de inyección del flujo de alimentación y del flujo de eluyente, así como los puntos para recoger los compuestos separados, se desplazan periódica y simultáneamente por medio de un conjunto de válvulas. El efecto global es simular el funcionamiento de una sola columna que contiene un lecho móvil de adsorbente sólido, moviéndose el adsorbente  
30 sólido en una dirección de flujo a contracorriente con respecto al flujo de eluyente. Por lo tanto, un sistema SMB consiste en columnas que contienen lechos estacionarios de adsorbente sólido a través de los cuales pasa el eluyente, pero la operación es de tal modo que se simula un lecho en movimiento continuo como flujo a contracorriente.

35 La forma más convencional de un sistema SMB es el sistema SMB con cuatro zonas. Otras formas posibles son los sistemas SMB con tres zonas y los sistemas SMB con dos zonas (como se describe en el artículo “*Two Section Simulated Moving Bed Process*” de Kwangnam Lee, en *Separation Science and Technology* 35 (4):519-534, 2000, al que se hace referencia expresa).

40 En los sistemas iSMB y SSMB, existe al menos una etapa en la que el sistema funciona en un circuito cerrado, sin entrada ni salida de producto.

45 Un sistema iSMB es como se describe en los documentos EP 0.342.629 y US 5.064.539, a los que se hace referencia expresa.

Un sistema SSMB divide las introducciones y recogidas de los flujos en subsecuencias aplicadas periódicamente.

50 Otras alternativas de los sistemas SMB son: el sistema SMB, que varía con el tiempo, y el sistema POWERFEED™, como se describe en el documento US 5.102.553 y en el artículo “*PowerFeed operation of simulated moving bed units: changing flow-rates during the switching interval*”, de Zhang y col. en *Journal of Chromatography A*, 1006:87-99, 2003, al que se hace referencia expresa; el sistema MODICON™ como se describe en el documento US 7.479.228, al que se hace referencia expresa; y el sistema SMB con recirculación interna, como se describe en el documento US 8.282.831, al que se hace referencia expresa.

55 Un sistema AMB tiene un funcionamiento similar al de un sistema SMB. Sin embargo, en lugar de desplazar el flujo de alimentación y los puntos de inyección del eluyente, así como los puntos de recogida, por medio de un conjunto de válvulas, un conjunto de unidades de adsorción (columnas) se desplaza físicamente con respecto a los puntos de alimentación y recogida. De nuevo, la operación permite la simulación de un lecho móvil continuo a contracorriente.

60 Un sistema de cromatografía VARICOL™ es como se describe en los documentos US 6.136.198, US 6.375.839, US 6.413.419 y US 6.712.973, a los que se hace referencia expresamente. Un sistema VARICOL™ comprende una pluralidad de columnas individuales que contienen un adsorbente, que están conectadas en serie. Se hace pasar un eluyente a las columnas a lo largo de una primera dirección. Los puntos de inyección para la mezcla que se va a separar y para el eluyente y los puntos para recoger los compuestos separados en el sistema se desplazan periódicamente de forma asíncrona, por medio de un conjunto de válvulas. El efecto global es generar zonas de separación con una longitud variable en el tiempo, asignando de este modo la fase estacionaria de forma dinámica en  
65 las zonas donde es más útil y permitiendo un poder de separación similar con menos unidades de separación cromatográfica y una mayor productividad.

Las etapas de purificación cromatográfica de la presente invención pueden llevarse a cabo en una instalación cromatográfica de una sola columna.

5 Las etapas de purificación cromatográfica de la presente invención también pueden llevarse a cabo en una instalación cromatográfica de múltiples columnas con una inyección de alimentación discontinua, tal como, aunque no de forma limitativa, el procesamiento BioSC (como se describe en el documento EP 2040811) o DCC (como se describe en el documento EP 1912716).

10 Las etapas de purificación cromatográfica de la presente invención se llevan a cabo preferiblemente en una instalación de cromatografía de líquidos de alta presión.

15 Según algunas realizaciones, el método de la invención solo comprende la etapa de purificación principal (sin la etapa de purificación preliminar) y puede realizarse en una instalación de una sola columna, o en una instalación de dos o tres columnas elegida entre MCSGP o GSSR o DCC, o en una instalación de cuatro o cinco o seis o siete u ocho columnas elegidas entre SMB, iSMB, SSMB, AMB, VARICOL™, MODICON™ y POWERFEED™. En todas las instalaciones anteriores, la longitud total del lecho para la fase estacionaria oscila preferiblemente entre 10 cm y 100 cm.

20 Según algunas realizaciones, el método de la presente invención comprende la etapa de purificación preliminar y la etapa de purificación principal y:

- la fase de purificación preliminar puede llevarse a cabo usando una instalación de una sola columna, o usando una instalación de dos o tres columnas, tal como DCC, o usando una instalación de cuatro o cinco o seis, siete u ocho columnas, elegida entre BioSC, SMB, iSMB, SSMB, AMB, VARICOL™, MODICON™ y POWERFEED™. En todas las instalaciones anteriores, la longitud total del lecho para la fase estacionaria oscila preferiblemente entre 10 cm y 100 cm.

- La etapa de purificación principal puede llevarse a cabo usando una instalación de una sola columna, o usando una instalación de dos o tres columnas elegida entre MCSGP o GSSR o DCC, o usando una instalación de cuatro o cinco o seis o siete u ocho columnas elegida entre SMB, iSMB, SSMB, AMB, VARICOL™, MODICON™ y POWERFEED™. En todas las instalaciones anteriores, la longitud total del lecho para la fase estacionaria oscila preferiblemente entre 10 cm y 100 cm.

35 Las etapas de purificación cromatográfica de la presente invención pueden llevarse a cabo en una o más instalaciones que comprenden una o más columnas cromatográficas que tienen un diámetro (diámetro interno) igual o superior a 5 cm. Por ejemplo, el diámetro de una o más columnas cromatográficas puede ser de 5 a 10 cm; o de 10 a 20 cm; o de 20 a 30 cm; o de 30 a 40 cm; o de 40 a 50 cm; o de 50 a 100 cm; o de 100 a 150 cm; o de 150 a 200 cm.

40 La una o más instalaciones cromatográficas utilizadas en la presente invención pueden tener un volumen muerto total inferior o igual al 30 %, preferiblemente inferior o igual al 20 %, más preferiblemente inferior o igual al 10 % e incluso más preferiblemente inferior o igual al 5 % del volumen total de la fase estacionaria (principal y/o preliminar) de la instalación (es decir, el volumen del lecho de la fase estacionaria).

45 La expresión “*volumen muerto*” puede definirse como la suma de:

- los volúmenes de las tuberías de la instalación cromatográfica entre una válvula de la entrada para la inyección de la alimentación (mezcla inicial o mezcla preliminar) y la entrada del lecho de la fase estacionaria;

50 - los volúmenes de las tuberías de la instalación cromatográfica entre una salida del lecho de la fase estacionaria y una válvula de la salida para la recogida del producto de interés;

- los volúmenes de las tuberías de la instalación cromatográfica que conectan cualquier columna en serie entre una válvula de la salida para la recogida del producto de interés y una válvula de la entrada para la inyección de la alimentación (mezcla inicial o mezcla preliminar), si la instalación es de múltiples columnas.

55 La velocidad de los fluidos a la entrada del lecho de la fase estacionaria (principal y/o preliminar) puede ser de 30 cm/hora a 5000 cm/hora, preferiblemente de 100 a 4000 cm/hora, y más preferiblemente de 200 a 3000 cm/hora. Por ejemplo, esta velocidad puede ser de 30 a 40 cm/hora; o de 40 a 50 cm/hora; o de 50 a 60 cm/hora; o de 60 a 70 cm/hora; o de 70 a 80 cm/hora; o de 80 a 90 cm/hora; o de 90 a 100 cm/hora; o de 100 a 250 cm/hora; o de 250 a 500 cm/hora; o de 500 a 750 cm/hora; o de 750 a 1000 cm/hora; o de 1000 a 1500 cm/hora; o de 1500 a 2000 cm/hora; o de 2000 a 3000 cm/hora; o de 3000 a 4000 cm/hora; o de 4000 a 5000 cm/hora.

65 Estos intervalos pueden aplicarse a la mezcla inicial, y/o a la mezcla preliminar, y/o a la solución de elución, y/o a la solución de lavado, y/o a la solución de equilibrado.

La velocidad del líquido puede ser constante durante las diversas etapas de una etapa cromatográfica (ya sea la etapa de purificación principal o la etapa de purificación preliminar llevada a cabo mediante purificación cromatográfica).

5 Alternativamente, la velocidad del líquido puede variar durante una etapa cromatográfica. Por ejemplo, la velocidad de la mezcla inicial o la mezcla preliminar puede ser inferior a la velocidad de la solución de elución, y/o la velocidad de la mezcla inicial o la mezcla preliminar puede ser inferior a la velocidad de la solución de lavado, y/o la velocidad de la mezcla inicial o la mezcla preliminar puede ser inferior a la velocidad de la solución de equilibrado. De lo contrario, la velocidad de la mezcla inicial o la mezcla preliminar puede ser superior a la velocidad de la solución de elución, y/o la velocidad de la mezcla inicial o la mezcla preliminar puede ser superior a la velocidad de la solución de lavado, y/o la velocidad de la mezcla inicial o la mezcla preliminar puede ser superior a la velocidad de la solución de equilibrado.

De manera similar, la velocidad de la solución de elución, la solución de lavado y la solución de equilibrado pueden ser diferentes, inferiores o superiores entre sí.

## 15 Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin limitarla.

20 El material de partida que se va a purificar comprende  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol, cannabidiol, cannabinol, daminozida, imidacloprid, tiametoxam y trifloxiestrobina.

Ejemplo 1 - Separación cromatográfica de imidacloprid y tiametoxam

25 En este ejemplo, la invención se aplica a un HPLC Agilent 1100.

La fase estacionaria usada es Amino 10  $\mu\text{m}$ , M.S. Como fase móvil se usa gel y una mezcla de etanol y heptano en una relación de volumen de heptano/etanol 60/40.

30 Como se muestra en la **Figura 1**, los compuestos cannabinoides  $\Delta^9$ -THC, CBD y CBN (A) coeluyen con la trifloxiestrobina (B), mientras que el imidacloprid (C) y el tiametoxam (D) se separan satisfactoriamente. Además, la daminozida (no mostrada en la **Figura 1**) permanece retenida en la fase estacionaria.

Ejemplo 2 - Separación cromatográfica de daminozida, imidacloprid y tiametoxam

35 Este ejemplo es similar al ejemplo 1, excepto por que la fase estacionaria utilizada es 10  $\mu\text{m}$  de Daisogel Diol. Como fase móvil se sigue usando una mezcla de etanol y heptano en una relación de volumen de heptano/etanol 60/40.

40 Como se muestra en la **Figura 2**, los compuestos cannabinoides  $\Delta^9$ -THC, CBD y CBN (A) coeluyen con la trifloxiestrobina (B), mientras que la daminozida (C), el imidacloprid (D) y el tiametoxam (E) se separan satisfactoriamente.

Ejemplo 3 - Separación cromatográfica de trifloxiestrobina y  $\Delta^9$ -THC

45 Este ejemplo es similar al ejemplo 1, excepto por que se usa una mezcla menos polar de etanol y heptano en una relación de volumen de heptano/etanol 98/2 como fase móvil.

50 Como se muestra en la **Figura 3**, la trifloxiestrobina (A) y el  $\Delta^9$ -THC (B) ya no se coeluyen, mientras que el CBD y el CBN (C) siguen eluyendo juntos. Además, la daminozida, el imidacloprid y el tiametoxam (no mostrados en la **Figura 3**) permanecen retenidos en la fase estacionaria.

Ejemplo 4 - Separación cromatográfica de trifloxiestrobina,  $\Delta^9$ -THC, CBN y CBD

55 Este ejemplo es similar al ejemplo 2, excepto por que se usa una mezcla de etanol y heptano en una relación de volumen de heptano/etanol 98/2 como fase móvil.

Como se muestra en la **Figura 4**, la trifloxiestrobina (A), el  $\Delta^9$ -THC (B), el CBN (C) y el CBD (D) se separan satisfactoriamente. La daminozida, el imidacloprid y el tiametoxam (no mostrados en la **Figura 3**) permanecen retenidos en la fase estacionaria.

60 Ejemplo 5 - Separación cromatográfica de trifloxiestrobina,  $\Delta^9$ -THC, CBN, CBD, daminozida, imidacloprid y tiametoxam

En este ejemplo, la invención se implementa en una instalación de cromatografía de líquidos de alta presión.

La fase estacionaria usada es Daisogel Diol 10  $\mu\text{m}$ .

65

En primer lugar, la fase estacionaria se eluye con una mezcla de etanol y heptano en una relación de volumen de heptano/etanol 98/2 como se muestra en la **Figura 5**. En los primeros 13 minutos, se purifican trifloxiestrobina (A),  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol (B), cannabinol (C) y cannabidiol (D).

5 A continuación, el lavado se realiza con una mezcla más polar de etanol y heptano (relación de volumen de heptano/etanol 20/80) para recoger la daminozida (E), el imidacloprid (F) y el tiametoxam (G) más polares.

Por último, se usa una mezcla de etanol y heptano en una relación de volumen de heptano/etanol 98/2 para el equilibrio de la fase estacionaria.

10 Ejemplo 6 - Separación cromatográfica en dos etapas de trifloxiestrobina, THC, CBN, CBD, daminozida, imidacloprid y tiametoxam

En este ejemplo, la invención se aplica a un HPLC Agilent 1100.

15 La fase estacionaria utilizada es Daisogel Diol 10  $\mu\text{m}$ .

En una primera etapa, la fase estacionaria se eluye con una mezcla de etanol y heptano en una relación de volumen de heptano/etanol 60/40 y, por un lado, se recoge la denominada mezcla inicial, que comprende  $\Delta^9$ -THC, CBN y CBD, mientras que la daminozida, el imidacloprid y el tiametoxam, más polares, se separan satisfactoriamente, por otro lado.

20 En una segunda etapa, la mezcla inicial se carga en una HPLC Agilent 1100 y la fase estacionaria se eluye con una mezcla de etanol y heptano en una relación de volumen de heptano/etanol 98/2. Al final de esta etapa, la trifloxiestrobina, el  $\Delta^9$ -THC, el CBN y el CBD se purifican satisfactoriamente.

25 Estos ejemplos demuestran que es posible la separación de al menos un compuesto cannabinoide de un material de partida y que los valores del tiempo de retención pueden variar de un ejemplo a otro o de una fase estacionaria a otra. De hecho, la diferencia en los tiempos de retención que se observa es suficiente para purificar el material de partida a escala industrial. A partir de esos ejemplos, y usando un programa informático de simulación de cromatografía, basado, por ejemplo, en los métodos descritos en *Preparative Chromatography of Fine Chemicals and Pharmaceutical Agents*, Henner Schmidt-Traub, Wiley-VCH, ISBN-13 978-3-527-30643-5, es posible producir un modelo a partir de cualquier cromatograma que presente una diferencia en los tiempos de retención. Este modelo permite predecir que puede lograrse una pureza superior al 99 % y un rendimiento superior al 90 % para los diversos compuestos cannabinoides analizados para cualquier proporción inicial en peso de cannabinoides y compuestos adicionales en el material de partida.

35

## REIVINDICACIONES

1. Un método para la purificación cromatográfica de al menos un compuesto cannabinoide, en donde el método comprende una etapa de purificación principal que comprende las etapas de:
- 5
- inyectar una mezcla inicial que comprende el al menos un compuesto cannabinoide y uno o más compuestos adicionales en una fase estacionaria principal que comprende partículas de sílice, comprendiendo las partículas de sílice grupos amino y/o diol;
  - realizar una elución con una solución de elución y recoger una o más fracciones de elución, en donde la solución de elución es una mezcla de un alcano y un alcohol; y
  - opcionalmente, lavar la fase estacionaria principal con una solución de lavado y recoger una o más fracciones de lavado;
- 10
- conteniendo al menos una de las fracciones de elución o fracciones de lavado el al menos un compuesto cannabinoide purificado del uno o más compuestos adicionales.
- 15
2. El método según la reivindicación 1, en donde el al menos un compuesto cannabinoide se selecciona entre  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol, cannabidiol, cannabinol, cannabigerol, cannabicromeno, cannabidivanol, tetrahidrocannabidiol, tetrahidrocannabidivanol,  $\Delta^8$ -tetrahidrocannabinol, ácidos carboxílicos precursores de los compuestos anteriores, compuestos de origen natural relacionados y sus derivados, y combinaciones de los mismos, y/o en donde el uno o más compuestos adicionales se seleccionan entre compuestos cannabinoideos, plaguicidas, reguladores del crecimiento de las plantas y combinaciones de los mismos.
- 20
3. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que comprende además una etapa de purificación preliminar antes de la etapa de purificación principal, comprendiendo dicha etapa de purificación preliminar las etapas de:
- 25
- poner una mezcla preliminar que comprende el al menos un compuesto cannabinoide, el uno o más compuestos adicionales y uno o más de otros compuestos, en contacto con una fase estacionaria preliminar; y
  - recoger al menos una fracción líquida enriquecida en el al menos un compuesto cannabinoide y el uno o más compuestos adicionales y agotada en los otros compuestos, proporcionando dicha al menos una fracción líquida la mezcla inicial.
- 30
4. El método según la reivindicación 3, en donde la fase estacionaria preliminar comprende partículas de sílice que comprenden grupos amino y/o diol.
- 35
5. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 3 o 4, en donde la etapa de purificación preliminar comprende poner la mezcla preliminar en contacto con la fase estacionaria preliminar en una solución en suspensión, para formar una suspensión; filtrar para recoger una primera fracción; opcionalmente, resuspender la fase estacionaria preliminar en una o más soluciones adicionales, y filtrar para recoger una o más fracciones adicionales; siendo la fracción líquida enriquecida en el al menos un compuesto cannabinoide y el uno o más compuestos adicionales y agotada en los otros compuestos, al menos una de las fracciones primera y posteriores.
- 40
6. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4, en donde la etapa de purificación preliminar comprende poner en contacto la mezcla preliminar con la fase estacionaria preliminar inyectando la mezcla preliminar en la fase estacionaria preliminar; realizar una elución con una solución de elución y recoger una o más fracciones de elución preliminares; y opcionalmente lavar la fase estacionaria preliminar con una solución de lavado y recoger una o más fracciones de lavado preliminares; siendo al menos una de dichas fracciones de elución preliminares y/o fracciones de lavado preliminares, la fracción líquida enriquecida en el al menos un compuesto cannabinoide y el uno o más compuestos adicionales y agotada en los otros compuestos.
- 45
7. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, en donde los uno o más de otros compuestos se seleccionan entre compuestos cannabinoideos, plaguicidas, reguladores del crecimiento de las plantas y combinaciones de los mismos.
- 50
8. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la etapa de purificación principal se lleva a cabo en una instalación elegida entre una instalación de una sola columna o una instalación de múltiples columnas; o en donde la etapa de purificación preliminar, si está presente, se lleva a cabo en una instalación elegida entre una instalación de una sola columna o una instalación de múltiples columnas y la etapa de purificación principal se lleva a cabo en una instalación de múltiples columnas.
- 55
9. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el alcohol de la solución de elución se selecciona independientemente entre etanol y metanol, y el alcano de la solución de elución se selecciona
- 60
- 65

independientemente entre pentano, hexano, heptano y octano; y/o en donde la solución de elución de la etapa de purificación principal tiene una relación de volumen de alcano a alcohol de 99/1 a 50/50.

- 5 10. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde cada una de entre la solución de elución de la etapa de purificación preliminar, la solución de lavado de la etapa de purificación principal y, opcionalmente, de la etapa de purificación preliminar, es una mezcla de un disolvente polar y un disolvente no polar; el disolvente polar se selecciona preferiblemente independientemente entre etanol, metanol y agua, y el disolvente no polar se selecciona preferiblemente independientemente entre pentano, hexano, heptano y octano; y en donde la solución de elución de la etapa de purificación preliminar tiene preferiblemente una relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de 99/1 a 50/50; y la solución de lavado de la etapa de purificación principal y, opcionalmente, de la etapa de purificación preliminar, tiene preferiblemente una relación de volumen de disolvente no polar a disolvente polar de 1/99 a 50/50.
- 10
- 15 11. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende además equilibrar la fase estacionaria principal con una solución de equilibrado para equilibrar la fase estacionaria principal para una inyección adicional, siendo la solución de elución de la etapa de purificación principal y la solución de equilibrado preferiblemente las mismas.
- 20 12. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la etapa de purificación principal se lleva a cabo en una instalación que tiene una longitud total del lecho inferior a 100 cm; y en donde la etapa de purificación preliminar, si está presente, se lleva a cabo en una instalación que tiene una longitud total del lecho inferior a 100 cm.
- 25 13. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que se lleva a cabo en una instalación que comprende una o más columnas cromatográficas que tienen un diámetro igual o superior a 5 cm, y/o en donde la instalación tiene un volumen muerto total inferior o igual al 30 %, preferiblemente inferior o igual al 20 %, más preferiblemente inferior o igual al 10 % e incluso más preferiblemente inferior o igual al 5 % del volumen total de la fase estacionaria principal de la instalación.
- 30 14. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde la inyección de la mezcla inicial se realiza de forma continua o discontinua.
- 35 15. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la proporción en peso del al menos un compuesto cannabinoide purificado con respecto a la cantidad del al menos un compuesto cannabinoide presente en la mezcla inicial es de al menos el 95 %, preferiblemente al menos el 98 %, más preferiblemente al menos el 99 % y con la máxima preferencia al menos el 99,5 % o el 99,9 %, y/o en donde la al menos una fracción de elución o fracción de lavado que contiene el al menos un compuesto cannabinoide purificado del uno o más compuestos adicionales comprende además una proporción en peso del uno o más compuestos adicionales que es inferior al 5 %, preferiblemente al menos el 2 %, más preferiblemente inferior al 1 % y con la máxima preferencia inferior al 0,5 % o inferior al 0,1 %, con respecto a la cantidad del uno o más compuestos adicionales presentes en la mezcla inicial.
- 40

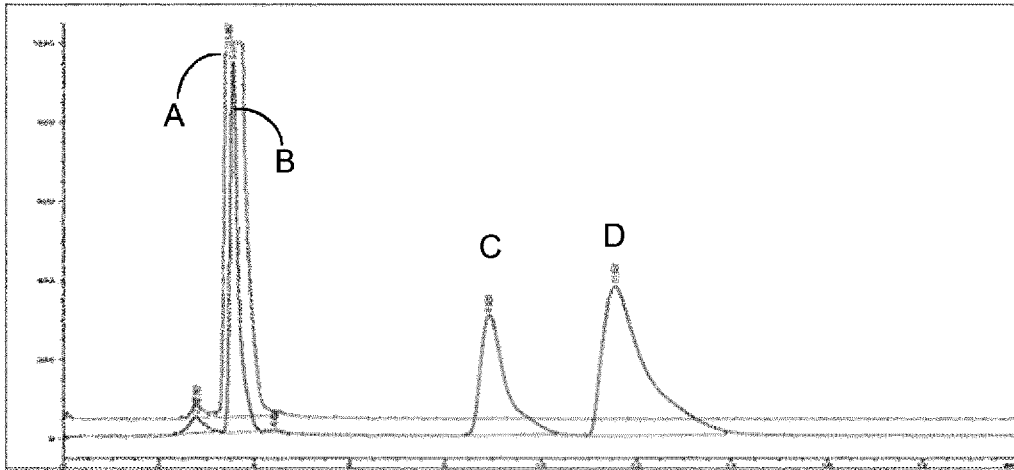


Figura 1

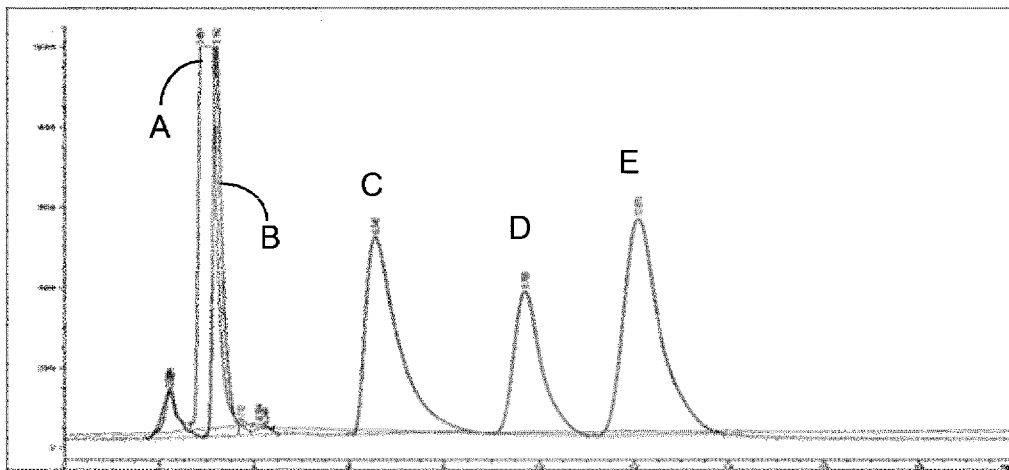
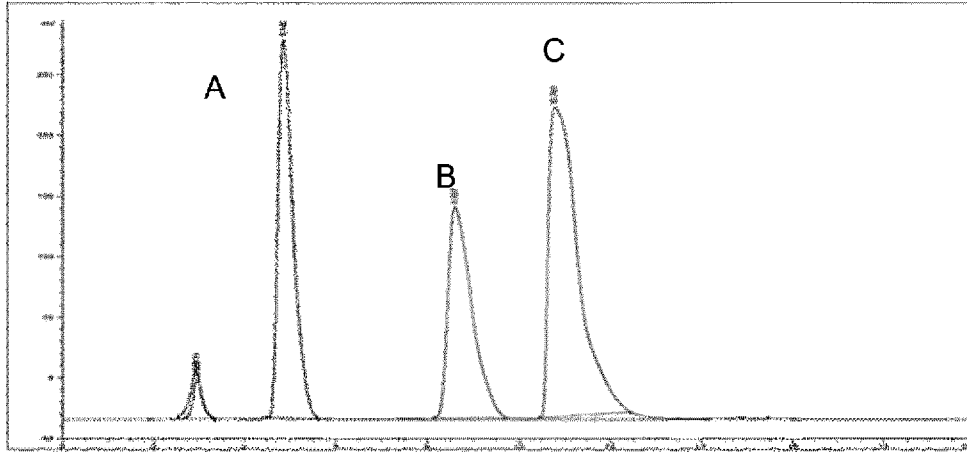
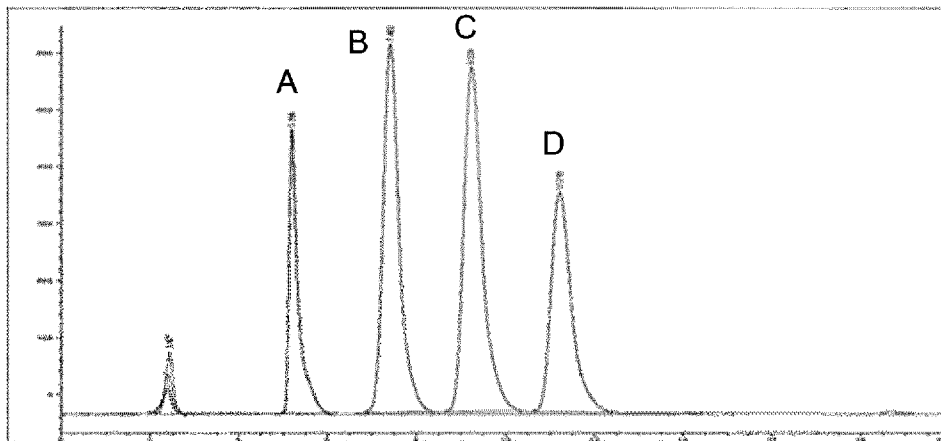


Figura 2



**Figura 3**



**Figura 4**

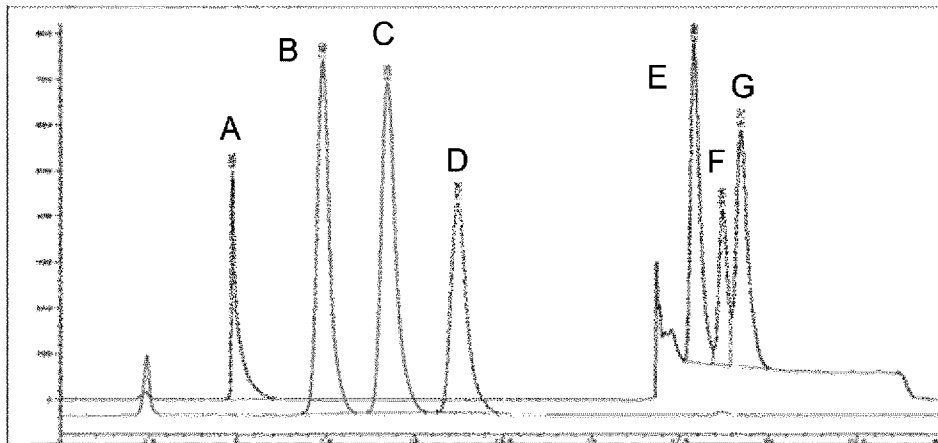


Figura 5