

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 374 389**

51 Int. Cl.:

C07K 1/06 (2006.01)

C07K 1/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02077875 .9**

96 Fecha de presentación: **15.07.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1277761**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.01.2003**

54 Título: **PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE PÉPTIDOS.**

30 Prioridad:
19.07.2001 EP 01202751

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.02.2012

73 Titular/es:
**MSD Oss B.V.
Kloosterstraat 6
5349 AB Oss, NL**

72 Inventor/es:
**Eggen, Ivo Franci y
Ten Kortenaar, Paulus Bernardus Wilhelmus**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 374 389 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 de preparación de péptidos

La invención se refiere a un procedimiento nuevo y versátil para la preparación de compuestos que contienen uno o más enlaces amida, en particular péptidos, especialmente para procedimientos realizados en solución.

5 Los péptidos se sintetizan en solución o sobre un soporte sólido. En ambos enfoques, etapas de acoplamiento y desprotección se alternan de forma repetitiva y pueden estar separadas por purificaciones intermitentes. Un exceso de un componente carboxílico activado se usa preferiblemente en cada etapa de acoplamiento para asegurar el acoplamiento cuantitativo a un componente amino; de este modo, puede evitarse la aparición de secuencias de supresión en el producto final. En la síntesis peptídica en fase sólida, el componente carboxílico activado residual se
10 retira habitualmente por filtración al final de cada etapa de acoplamiento. En la síntesis en fase en solución se supone habitualmente que el componente carboxílico activado residual se destruye y se retira durante el procesamiento en fase acuosa intermitente. Sin embargo, a menudo se encuentran secuencias peptídicas de inserción, en la síntesis en fase en solución como impurezas del péptido final debido a la incompleta retirada del componente carboxílico (activado) residual después de una etapa de acoplamiento, que posteriormente se acoplaba
15 después de la desprotección. Para evitar la aparición de dichas reacciones secundarias una etapa de depuración (*scavenging*) puede introducirse directamente después de la etapa de acoplamiento para depurar (inactivar) las funciones carboxílicas activadas residuales. Las aminas se aplican habitualmente como agentes depuradores (*scavengers*). El uso de poliaminas como agentes depuradores conduce a compuestos depurados que pueden extraerse de forma activa en una fase acuosa - preferiblemente ácida -, dependiendo de su polaridad [por ejemplo, Kisfaludy, L. et al. (1974) Tetrahedron Lett. 19, 1785-1786]. Esta extracción se realiza habitualmente antes de la
20 etapa de desprotección para evitar la pérdida del péptido en desarrollo en la fase acuosa. Sin embargo, se ha descubierto que este procedimiento en muchos casos da como resultado una purificación intermitente incompleta debido a la hidrofobia del compuesto depurado: la hidrofobia intrínseca de la parte aminoácido del componente carboxílico es potenciada por el aún presente grupo protector de amino. La extracción acuosa no es, por lo tanto,
25 completamente eficaz.

El documento US 6.121.488 divulga diversos agentes inactivadores tales como sales de metales alcalinos o sales de metales alcalinotérreos. El documento US 5.516.639 divulga la formación de un enlace amida haciendo reaccionar a un éster activado con una amina, inactivando a continuación con lisina.

30 Recientemente, Carpino, L.A. et al. [(1999) J. Org. Chem. 64, 4324-4338] describieron una mejora del método de depuración. Además del uso de una poliamina como agente depurador, el grupo protector de amino 1,1-dioxobenzotriofen-2-ilmtoxycarbonilo (Bsmoc) se aplicó en el procedimiento. La función Bsmoc tiene una muy alta labilidad hacia la base. Como resultado de esto, las funciones carboxílicas activadas residuales son depuradas y las funciones Bsmoc se retiran en una única y misma etapa usando una poliamina.

35 Ahora se ha descubierto un nuevo procedimiento para la preparación de péptidos, en el que un exceso de un componente carboxílico activado se usa para acilar un componente amino, y en el que, después de la acilación una amina que comprende un anión latente, es decir un anión que se forma después de la desprotección, se usa como un agente depurador de funciones carboxílicas activadas residuales, portando el anión latente un grupo protector temporal que puede retirarse selectivamente, seguido de una etapa de desprotección que da como resultado compuestos hidrófilos depurados que pueden ser extraídos de forma activa en una fase acuosa básica.

40 Este nuevo procedimiento permite una selección esencialmente arbitraria del grupo protector en el extremo N del componente carboxílico activado, dado que - al contrario que el procedimiento de Carpino - su desprotección no tiene lugar necesariamente en las mismas condiciones de reacción que la depuración del exceso de funciones carboxílicas activadas. Además, el procedimiento de esta invención permite la retirada altamente eficaz del componente carboxílico activado residual sin que surjan los problemas de hidrofobia de otros procedimientos de la
45 técnica anterior en los que se usan poliaminas como agentes depuradores. Preferiblemente, el procedimiento de la invención tiene lugar en solución. Sin embargo, el procedimiento también puede aplicarse en la síntesis peptídica en fase sólida. El procedimiento de la invención también es adecuado para la preparación de otros compuestos que contienen uno o más enlaces amida.

50 La amina que comprende un anión latente se usa como agente depurador. Preferiblemente, el anión latente en la amina depuradora porta un grupo protector temporal que puede retirarse de forma selectiva en presencia de cualquier grupo protector permanente unido al péptido en desarrollo. En una realización particularmente preferida, el grupo protector del anión latente en la amina depuradora muestra una labilidad similar a la del grupo protector temporal presente en el extremo N del péptido en desarrollo. Esto permite que la desprotección del agente depurador que produce el anión y la desprotección N-terminal del péptido en desarrollo tengan lugar en una única
55 etapa del procedimiento. Se prefiere especialmente el procedimiento de la invención, en el que los grupos protectores temporales, presente en el extremo N del péptido en desarrollo y opcionalmente presentes en el agente depurador, sean grupos que puedan retirarse mediante hidrogenólisis, mientras que los grupos protectores permanentes son grupos que pueden retirarse mediante acidólisis. Preferiblemente, dichos grupos protectores temporales son de tipo bencilo, por ejemplo grupos bencilo y benciloxycarbonilo (sustituidos). Un agente depurador

preferido es una amina primaria que comprende un anión latente, y en particular un derivado de aminoácido protegido en el extremo C. Además de carboxilato, la amina depuradora puede comprender otras funciones aniónicas tales como - aunque sin limitarse a - sulfonato, sulfato, fosfonato, fosfato o fenolato. Un aminoácido altamente preferido para su uso como agente depurador es β -alanina o un derivado de la misma (por ejemplo, un derivado de éster o éster silílico). El agente depurador más preferido es β -alaninato de bencilo o una sal del mismo.

Un tiol que comprende un latente también puede usarse como agente depurador en lugar de una amina que comprende un anión latente de acuerdo con el procedimiento de esta invención.

El agente depurador se usa preferiblemente en un exceso molar de dos a seis veces con respecto al componente activo residual que es necesario depurar.

El uso de un agente depurador de acuerdo con la presente invención conduce a compuestos hidrófilos depurados que pueden extraerse de forma activa en una fase acuosa básica después de la etapa de desprotección: después de la desprotección (si fuera aplicable), la hidrofilia se potencia mediante la presencia tanto de una función amino libre como de una función carboxílica libre en las especies depuradas. Por lo tanto, el procedimiento de esta invención da como resultado una purificación intermitente muy eficaz debido a la posibilidad de extraer de forma activa un compuesto hidrófilo. Además, un exceso de componente carboxílico posiblemente presente que no estaba activado y cuyo grupo protector temporal también se retiraba durante la desprotección, se extrae de la mezcla de reacción al mismo tiempo.

El nuevo procedimiento de esta invención puede usarse convenientemente en la preparación de oligo- y polipéptidos y, de forma más general, en la preparación de compuestos que contienen uno o más enlaces amida.

Un procedimiento adecuado de acuerdo con la presente invención es el acoplamiento de un exceso de un componente carboxílico a un componente amino, en el que la función carboxílica se preactiva o se activa *in situ* usando un reactivo de acoplamiento y, si se desea, un aditivo. Después de la etapa de acoplamiento, las funciones carboxílicas activadas residuales se depuran añadiendo el agente depurador a la mezcla de reacción. Posteriormente, los grupos protectores temporales se retiran usando métodos adecuados conocidos en la técnica, seguidos de la retirada del compuesto depurado mediante extracción acuosa básica. Al mismo tiempo, un exceso de componente carboxílico posiblemente presente que no estaba activado y cuyo grupo protector temporal también se retiró durante la desprotección, se extrae de la mezcla de reacción.

La expresión componente amino se refiere a una molécula que comprende una función amino libre. En particular, el componente amino puede ser cualquier amina, aminoácido u oligopéptido que porta una función amino libre y cuyos otros grupos funcionales están protegidos de tal manera que no interfieran en la reacción de acoplamiento deseada. La función C-terminal del aminoácido u oligopéptido aplicado puede estar protegida como una amida sustituida o sin sustituir o como un éster; los ejemplos de estos últimos incluyen - aunque no se limitan a - ésteres de metilo, etilo, *t*-butilo, bencilo, fenacilo, 3-(3-metil)pentilo (Mpe), 2-(2-fenil)propilo (Pp), 2-clorotritilo (Clt), difenil(4-piridil)metilo (PyBzh), dicitropropilmetilo (Dcpm), 9-fluorenilmetilo (Fm), alilo (All), 2-(trimetilsilil)etilo (Tmse), 4-{N-[1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilideno)-3-metilbutil]amino}bencilo (Dmab) y ésteres enzimáticamente escindibles [Roeske, R.W. (1981) en: "The Peptides", vol. 3 (Gross, E. and Meienhofer, J., eds.) Academic Press, Nueva York, págs. 101-136; para Mpe: Karlström, A. y Undén, A. (1996) Tetrahedron Lett. 37, 4343-4246; para Pp: Yue, C. et al. (1993) Tetrahedron Lett. 34, 323-326; para Clt: Athanassopoulos, P. et al. (1995) Tetrahedron Lett. 36, 5645-5648; para PyBzh: Mergler, M. et al. (2001) P154, 2nd International Peptide Symposium & 17th American Peptide Symposium; para Dcpm: Carpino, L.A. et al. (1995) J. Org. Chem. 60, 7718-7719; para Fm: Al-Obeidi, F. et al. (1990) Int. J. Peptide Protein Res. 35, 215-218; para All: Kunz, H. et al. (1985) Int. J. Peptide Protein Res. 26, 493-497; para Tmse: Sieber, P. (1977) Helv. Chim. Acta 60, 2711-2716; para Dmab: Chan, W.C. et al. (1995) J. Chem. Soc., Chem. Commun., 2209-2210]. Se prefieren funciones de tipo *t*-butilo o funciones de labilidad similar para la protección permanente de otros grupos funcionales en el componente amino; éstas incluyen - aunque no se limitan a - *t*-butilo (*t*Bu) para la protección de las cadenas laterales de Asp, Glu, Ser, Thr y Tyr, *t*-butoxicarbonilo (Boc) para la protección de las cadenas laterales de Lys y Trp, tritilo (Trt) para la protección de las cadenas laterales de Asn, Gln y His y 2,2,5,7,8-pentametilfluoreno-6-sulfonilo (Pmc) o 2,2,4,6,7-pentametilhidrobenzofurano-5-sulfonilo (Pbf) para la protección de la cadena lateral de Arg [Barany, G. y Merrifield, R.B. (1980) en: "The Peptides", vol. 2 (Gross, E. and Meienhofer, J., eds.) Academic Press, Nueva York, págs. 1-284; para Trp(Boc): Franzén, H. et al. (1984) J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1699-1700; para Asn(Trt) y Gln(Trt): Sieber, P. y Riniker, B. (1991) Tetrahedron Lett. 32, 739-742; para His(Trt): Sieber, P. y Riniker, B. (1987) Tetrahedron Lett. 28, 6031-6034; para Pmc: Ramage, R. y Green, J. (1987) Tetrahedron Lett. 28, 2287-2290; para Pbf: Carpino, L.A. et al. (1993) Tetrahedron Lett. 34, 7829-7832]. La expresión componente carboxílico se refiere a una molécula que comprende una función carboxílica libre. En particular, el componente carboxílico puede ser cualquier ácido carboxílico, aminoácido u oligopéptido que porta una función carboxílica libre y cuyos otros grupos funcionales están protegidos de tal manera que no interfieren en la reacción de acoplamiento deseada. En una realización preferida, el grupo amino del aminoácido u oligopéptido aplicado está protegido temporalmente por una función benciloxicarbonilo (Z); otros ejemplos incluyen - aunque no se limitan a - las funciones Boc, Trt, fluoreno-9-ilmetoxicarbonilo (Fmoc), 2-(metilsulfonil)etoxicarbonilo (Msc), aliloxicarbonilo (Alloc), funciones de tipo arilsulfonilo, tales como orto-nitrobenzenosulfonilo (*o*-NBS) y funciones escindibles enzimáticamente [Geiger, R. y König, W. (1981) en: "The Peptides", vol. 3 (Gross, E. and Meienhofer, J., eds.) Academic Press, Nueva York, págs. 1-99; para Alloc: Kunz, H. y Unverzagt, C. (1984) Angew. Chem. 96, 426-

427; para arilsulfonilo: Fukuyama, T. et al. (1997) *Tetrahedron Lett.* 38, 5831-5834]. Las funciones de tipo *t*-butilo o funciones de labilidad similar se prefieren para la protección permanente de otros grupos funcionales en el componente carboxílico como se ha descrito anteriormente para el componente amino. El componente carboxílico puede estar preactivado como un éster activo, preferiblemente un éster de *N*-hidroxisuccinimida, benzotriazol-1-ilo, pentafluorofenilo o 4-nitrofenilo, un haluro, un *N*-carboxianhídrido o como un anhídrido simétrico. Como alternativa, el componente carboxílico puede activarse *in situ* como un anhídrido mixto o usando un reactivo de acoplamiento, tal como una carbodiimida, preferiblemente *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) o clorhidrato de 1-(3'-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC), una sal de uronio o una sal de fosfonio en la posible presencia de un aditivo de acoplamiento, preferiblemente *N*-hidroxisuccinimida (HONSu), 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), 3-hidroxi-4-oxo-3,4-dihidro-1,2,3-benzotriazina (HOObt), 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt) o 6-cloro-1-hidroxibenzotriazol (Cl-HOBt) y, si se requiere, en presencia de una amina terciaria [“The Peptides”, vol. 1 (1979) (Gross, E. and Meienhofer, J., eds.) Academic Press, Nueva York; Li, P. y Xu, J.-C. (2000) *Chin. J. Chem.* 18, 456-466]. El grupo protector temporal puede retirarse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica (véase anteriormente). La función Z puede retirarse mediante hidrogenólisis usando procedimientos (convencionales) que aplican, por ejemplo hidrógeno gaseoso o formiato como donador de hidrógeno. Durante este procedimiento todos los grupos protectores de tipo bencilo se retiran y los grupos protectores de tipo *t*-butilo o funciones de labilidad similar se conservan. Estas últimas pueden retirarse por acidólisis de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica.

Un especialista en la técnica entenderá lo que se entiende por la expresión extracción acuosa básica. Sin embargo, las extracciones acuosas básicas se realizan preferiblemente usando soluciones acuosas de hidrogenocarbonato sódico o carbonato sódico, si se desea en presencia de cloruro sódico o nitrato potásico. La expresión extracción acuosa activa se refiere a una extracción en la que un componente amino se extrae en condiciones ácidas en forma protonada (amonio) o un componente carboxílico se extrae en condiciones básicas en forma desprotonada (carboxilato).

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que no deben interpretarse como una limitación de esta invención.

Ejemplo 1

H-Asp(O^tBu)-Phe-O^tBu

A una suspensión agitada de 5,52 g de H-Phe-O^tBu.HCl en una mezcla de acetato de etilo y diclorometano a 20°C, se le añadieron 7,76 g de Z-Asp(O^tBu)-OH, 3,24 g de 1-hidroxibenzotriazol, 4,20 g de clorhidrato de 1-(3'-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida y 4,62 ml de 4-metilmorfolina. Después de agitar la solución resultante hasta completar la reacción, se añadieron 1,21 ml de 4-metilmorfolina y 3,51 g de sal de *p*-toluenosulfonato de β-alaninato de bencilo. La mezcla se agitó durante 30 minutos más y se extrajo con Na₂CO₃ al 5%/NaCl al 10%, KHSO₄ al 5%/NaCl al 10% y Na₂CO₃ al 5%/NaCl al 10%.

La capa orgánica que contenía el dipéptido protegido Z-Asp(O^tBu)-Phe-O^tBu se sometió a hidrogenólisis catalítica en presencia de paladio sobre carbón. Una vez completada la reacción, se añadió Na₂CO₃ al 5%/NaCl al 10% y la suspensión resultante se filtró. El residuo se lavó con una mezcla de acetato de etilo y diclorometano, y los filtrados orgánicos combinados se extrajeron con Na₂CO₃ al 5%/NaCl al 10%, NaCl al 30% y agua. La capa orgánica se evaporó a sequedad para dar el dipéptido deseado en rendimiento cuantitativo.

Pureza: 98,4 % mediante HPLC de fase inversa (acetonitrilo del 24 al 68% en ácido trifluoroacético al 0,1% en 29 minutos a 220 nm, 2,0 ml/min, columna C18 de 5 micrómetros). Identidad: *m/z* 393,4 [M+H]⁺ mediante EM de electropulverización; ¹H RMN (CDCl₃) δ 1,41 (s, 9H), 1,46 (s, 9H), 1,63 (s ancho, 2H), 2,39 (dd, 1H), 2,79 (dd, 1H), 3,39 (d, 2H), 3,65 (m, 1H), 4,72 (m, 1H), 7,17-7,32 (m, 5H), 7,81 (d, 1H).

Ejemplo 2

H-Leu-Phe-NH-(CH₂)₇-CH₃

A una solución agitada de 2,12 ml de *n*-octilamina en acetato de etilo a 20°C, se le añadieron 4,61 g de Z-Phe-OH, 2,08 g de 1-hidroxibenzotriazol, 2,71 g de clorhidrato de 1-(3'-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida y 1,55 ml de 4-metilmorfolina. Después de agitar la suspensión resultante hasta completar la reacción, se añadieron 0,78 ml de 4-metilmorfolina y 2,26 g de sal de *p*-toluenosulfonato de β-alaninato de bencilo. La mezcla se agitó durante 30 minutos más y se extrajo con Na₂CO₃ al 5%/NaCl al 10%, KHSO₄ al 5%/NaCl al 10% y Na₂CO₃ al 5%/NaCl al 10%.

La capa orgánica que contenía Z-Phe-NH-(CH₂)₇-CH₃ se diluyó con 1-metil-2-pirrolidinona y se sometió a hidrogenólisis catalítica en presencia de paladio sobre carbón. Una vez completada la reacción, se añadió NaCl al 30% y la suspensión resultante se filtró. El residuo se lavó con acetato de etilo, y los filtrados orgánicos combinados se extrajeron con Na₂CO₃ al 5 %/NaCl al 10% y NaCl al 30%.

A la capa orgánica que contenía H-Phe-NH-(CH₂)₇-CH₃ a 20°C, se le añadieron 4,09 g de Z-Leu-OH, 2,08 g de 1-hidroxibenzotriazol, 2,71 g de clorhidrato de 1-(3'-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, 1,55 ml de 4-metilmorfolina y 1-metil-2-pirrolidinona. Después de agitar la suspensión resultante hasta completar la reacción, se añadieron 0,78 ml

de 4-metilmorfolina y 2,26 g de sal de de *p*-toluenosulfonato de β -alaninato de bencilo. La mezcla se agitó durante 30 minutos más y se extrajo con NaCl al 30%, Na₂CO₃ al 5%/NaCl al 10%, KHSO₄ al 5%/NaCl al 10% y Na₂CO₃ al 5%/NaCl al 10%.

5 La capa orgánica que contenía Z-Leu-Phe-NH-(CH₂)₇-CH₃ se diluyó con 1-metil-2-pirrolidinona y se sometió a hidrogenólisis catalítica en presencia de paladio sobre carbón. Una vez completada la reacción, se añadió Na₂CO₃ al 5%/NaCl al 10% y la suspensión resultante se filtró a 45°C. El residuo se lavó con acetato de etilo, y los filtrados orgánicos combinados se extrajeron con Na₂CO₃ al 5%/NaCl al 10%, NaCl al 30% y agua. La capa orgánica se evaporó a sequedad para dar el producto deseado con un 85% de rendimiento.

10 Pureza: 99,3% mediante HPLC de fase inversa (acetonitrilo del 24 al 68% en ácido trifluoroacético al 0,1% en 29 minutos a 220 nm, 2,0 ml/min, columna C18 de 5 micrómetros). Identidad: *m/z* 390,4 [M+H]⁺, 412,4 [M+Na]⁺, 388,2 [M-H]⁻, 434,2 [M+HCOO]⁻ mediante EM de electropulverización; ¹H RMN (CDCl₃) δ 0,89 (m, 9H), 1,12-1,39 (m, 14H), 1,50-1,60 (m, 3H), 3,01-3,22 (m, 4H), 3,35 (dd, 1H), 4,53 (dd, 1H), 5,90 (t, 1H), 7,19-7,32 (m, 5H), 7,83 (d, 1H).

15 Conclusión: La pureza y la identificación de los productos obtenidos demuestran que los excesos de componente carboxílico (activado) se han retirado completamente y no se han formado secuencias peptídicas de inserción usando el procedimiento de esta invención.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de compuestos que contienen uno o más enlaces amida usando un exceso de un compuesto carboxílico activado para acilar un componente amino, en el que, después de la acilación, una amina que comprende un anión latente, es decir, un anión que se forma después de la desprotección, se usa como agente depurador (*scavenger*) de funciones carboxílicas activadas residuales, portando el anión latente un grupo protector temporal que puede retirarse de forma selectiva en presencia de cualesquiera grupos protectores permanentes unidos al compuesto que contiene uno o más enlaces amida, seguido de una etapa de desprotección que da como resultado compuesto hidrófilo depurado que pueden extraerse de forma activa en una fase acuosa básica.
- 5 2. El procedimiento de la reivindicación 1, siendo el compuesto que contiene uno o más enlaces amida un péptido.
3. El procedimiento de la reivindicación 2, en el que el anión latente en la amina depuradora porta un grupo protector temporal que muestra una labilidad similar a la del grupo protector temporal presente en el extremo N del péptido en desarrollo.
4. El procedimiento de las reivindicaciones 1 a 3, en el que los grupos protectores temporales son grupos que pueden retirarse mediante hidrogenólisis, mientras que los grupos protectores permanentes son grupos que pueden retirarse mediante acidólisis.
- 15 5. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que los grupos protectores temporales son de tipo bencilo.
6. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el agente depurador es una amina primaria.
- 20 7. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que la amina primaria es un derivado de aminoácido protegido en el extremo C.
8. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que el aminoácido es β -alanina o un derivado de la misma.
9. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el agente depurador es β -alaninato de bencilo o una sal del mismo.
- 25 10. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que un tiol que comprende un anión latente se usa como agente depurador (*scavenger*) en lugar de una amina que comprende un anión latente.
11. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el procedimiento se realiza en solución.