



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2380871 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
C07C 227/32 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2013.06.03
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2013.01.09
(86)	Europeisk søknadsnr	10160022.9
(86)	Europeisk innleveringsdag	2010.04.15
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2011.10.26
(84)	Utpekte stater	AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR
	Utpekte samarbeidende stater	AL BA ME RS
(73)	Innehaver	Indena S.p.A., Viale Ortles, 12, 20139 Milano, Italia
(72)	Oppfinner	Fontana, Gabriele, c/o Indena S.p.A. Viale Ortles, 12, 20139, MILANO, Italia Gelmi, Maria Luisa, c/o Università Degli Studi Di Milano Dipartimento di Scienze Molecolari Applicate ai Biosistemi Via Venezian, 21, 20133, MILANO, Italia Gassa, Federico, Via Monte Cimone, 42, 21043, Castiglione Olona (VA), Italia
(74)	Fullmektig	Acapo AS, Postboks 1880 Nordnes, 5817 BERGEN, Norge

(54)	Benevnelse	Fremgangsmåte for fremstilling av isoserinderivater
(56)	Anførte publikasjoner	D.J. DIXON, S.V. LEY, A. POLARA, T. SHEPPARD: "Highly Diastereoselective Lithium Enolate Aldol Reactions of Butane-2,3-diacetal Desymmetrized Glycolic Acid and Deprotection to Enantiopure anti-2,3-Dihydroxy Esters" ORGANIC LETTERS, vol. 3, 2001, pages 3749-3752, XP002596681 DOI: 10.1021/ol016707n KISE N ET AL: "Diastereoselective Synthesis of 3-Amino-2-Hydroxyalkanoic Acid Derivatives" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL LNKD- DOI:10.1016/0040-4039(94)02369-M, vol. 36, no. 6, 6 February 1995 (1995-02-06), pages 909-912, XP004028703 ISSN: 0040-4039 WANG Y ET AL: "Highly diastereoselective enolate addition of O-protected [alpha]-hydroxyacetate to (SR)-tert-butanefulmylimines: Synthesis of taxol side chain" JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 71, no. 4, 17 February 2006 (2006-02-17), pages 1588-1591, XP002596680 ISSN: 0022-3263 DOI: 10.1021/jo052298N XIAOXIANG LIU ET AL: "PALLADIUM-CATALYZED ARYLATION OF TRIMETHYLSILYL ENOLATES OF ESTERS AND IMIDES. HIGH FUNCTIONAL GROUP TOLERANCE AND STEREORELECTIVE SYNTHESIS OF ALPHA-ARYL CARBOXYLIC ACID DERIVATIVES" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, NEW YORK, US LNKD- DOI:10.1021/ja031544E, vol. 126, 4 March 2004 (2004-03-04), pages 5182-5191, XP002381176 ISSN: 0002-7863

Beskrivelse

5 Den foreliggende oppfinnelse vedrører en «ett-kars» fremgangsmåte for fremstilling av isoserinderivater på en høy diastereoselektiv måte.

Bakgrunn for oppfinnelsen

10 α -hydroksy- β -aminosyre (isoseriner) er viktige mål på grunn av at disse aminosyrer foreligger i molekyler av stor biologisk interesse så som den nye lipopeptidiske siderofor benevnt ornikorugatin, ¹KRI-1314,² et potent humant renininhibitorpoly-peptid, amastatin,³ et tetrapeptid med immunregulatorisk aktivitet, antitumor og anti-bakteriell aktivitet, mikroginin,⁴ treo- β -benzyloksyaspertat (TBOA),⁵ den 1. ikke-transportable blokker for alle subgrupper av EAATer og, viktigst av alle, i taksan-derivater⁶.

Ut fra et sterisk utgangspunkt, er alle biologiske krav til aminosyrene nevnt over godt definert og treo-(2R, 3S)-isomerene er generelt aktive og således foretrukne.

20 Syntetiske tilnærminger for fremstilling av forbindelser av isoseriner gjennom C-2/C-3-bindingsdannelse er kjent med omdanning av et sulfinylimin med litiumenolat av en beskyttet α -hydroksyester ^{7a,b} eller av et enkelt imin med litiumenolat av et ester etterfulgt av en oksidativ prosess.^{7c} Hoved ulempen med ovenfor nevnte reaksjoner er i det første tilfellet ^{7a,b} anvendelse av kostnadsdyre sulfinyliminer hvis syntese ikke
25 er enkel. I det andre tilfellet kan kun moderat utbytte oppnås og et oksidativt trinn med en kostnadsdyr reagens (oksaziridin) er påkrevd for å introdusere α -hydroksy-gruppen. I samsvar med en annen syntesetilnærming ^{7d}, omdannes enkle imin-derivater med α -metoksyketensilylacetal under sure betingelser. Isoserinforbindelser, funksjonalisert med en α -OMe-gruppe dannes i moderat utbytte og diastereoselek-
30 sjon. Videre, α -OMe-gruppen må avbeskyttes i et separat trinn. Til slutt, kondensering av *N*-aryliminer med farlige aryldiazoacetater i høyt støkiometrisk overskudd og som påskyndes av kostnadsdyr rodiumkatalysator er kjent.^{7e} Isoserinderivater oppnås med varierbar diastereoseleksjon avhengig av substitueringsmønsteret og i moderat utbytte. En hoved vanskelighet som påvirker alle de kjente syntesemetoder
35 er å oppnå en ren enantiomer på grunn av at alle metoder, med unntak av rif. 7d,

anvender et kiralt hjelpemiddel i utgangsreagensene, og således genererer fire diastereoisomerer i den kondenserende prosess.

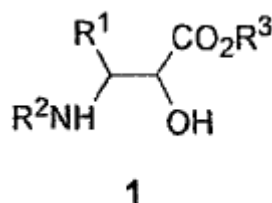
- 5 En diastereoselektiv syntese av estere av beskyttet 3-amino-2-hydroksyalkanoiske syrer med omdanning av et hemiaminal med litiumenolat av O-beskyttet-N,N-dimetylglykolamider er beskrevet i Tetrahedron Letters, vol 36, nr. 6, s. 909-912, 1995.

Beskrivelse av oppfinnelsen

- 10 Foreliggende oppfinnelse vedrører en fremgangsmåte for å oppnå forbindelser av generell formel 1 hvor R^1 er lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe, en usubstituert eller substituert aryl- eller heteroarylgruppe, R^2 er en lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe, en arylalkylgruppe); R^3 er H, en (C1-C4)-alkylgruppe. Alle stereoisomerer er inkludert i Formel 1.

- 15 Foretrukne forbindelser av Formel 1 er de hvor R^1 er *i*Bu, aryl, tienyl, R^2 er PhCH₂, *n*-Bu og R^3 er H, alkyl (C1-C4).

- 20 Treo-diastereoisomerer av formel 1 ($2R^*$, $3S^*$) er foretrukket.

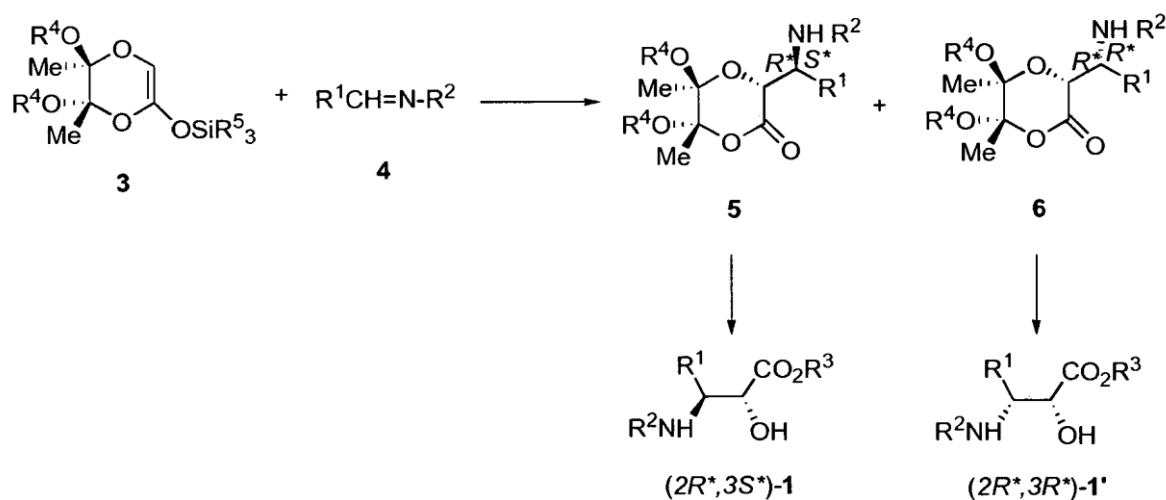


- 25 Fremgangsmåten ifølge foreliggende oppfinnelse er avbildet i Skjema 1, hvor R^1 , R^2 og R^3 -grupper er som angitt over.

- Den består i reaksjonen av en i hovedsak ekvimolekylær mengde av en silylenol-ester av generell formel 3, hvor R^4 er Me, Et og R^5 er Me, Et og en imin med generell formel 4 hvor R^1 er lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe, en arylalkylgruppe, en usubstituert eller substituert arylgruppe, en heteroarylgruppe, R^2 er en lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe eller en arylalkylgruppe, hvor ovenfor nevnte mellom-
- 30 produkter av generell formel ($3R^*$, $5S^*$, $6S^*$, $1'S^*$)-5 og ($3R^*$, $5S^*$, $6S^*$, $1'R^*$)-6 hvor R^1 er en lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe, en arylalkylgruppe, en usubstituert eller substituert arylgruppe, en heteroarylgruppe; R^2 er en lineær eller forgrenet (C1-

C6)-alkylgruppe, en arylalkylgruppe; R^4 er en Me eller Et-gruppe. Mellomprodukter **5** og **6** omdannes direkte til isoserinderivater av generell formel $(2R^*, 3S^*)$ -1 og $(2R^*, 3R^*)$ -1' hvor R^3 er H med hydrolyse eller til isoserinderivater av generell formel $(2R^*, 3S^*)$ -1 og $(2R^*, 3R^*)$ -1' hvor R^3 er en (C1-C4)-alkylgruppe med alkoholyse.

5



Kondenseringen mellom **3** og **4** katalyseres av både protiske syrer og Lewis-syrer (0,1-1 eq).

10

Representative Lewis-katalysatorer er ZnCl_2 , CoCl_2 , InCl_3 , NbCl_5 , $\text{Eu}(\text{OTf})_3$, PdCl_2 , SnCl_2 og MgBr_2 . Fordelingen av produktene **5** og **6**, og således produktene $(2R^*, 3S^*)$ -1 og $(2R^*, 3R^*)$ -1', har vist seg å være avhengig av typen Lewis-syre.

15

Lewis-syrer så som InCl_3 og SnCl_2 og MgBr_2 gir både bedre treo-diastereo-seleksjon (dvs. økning i dannelselse av den foretrukne diastereomer $(2R^*, 3S^*)$ -1) og et høyere reaksjonsutbytte. Således, InCl_3 , SnCl_2 og MgBr_2 er foretrukket.

Reaksjonen kan utføres i et bredt spekter av temperaturer, dvs. fra -70°C til 25°C . Beste resultater ble oppnådd mellom -40 og -30°C . Dette område er således foretrukket.

20

Reaksjonen foregår fordelaktig i aprotiske polare oppløsningsmidler, som for eksempel dimetylformamid, acetonitril, diklormetan, kloroform, tetrahydrofuran. Acetonitril og diklormetan er foretrukket.

25

Dersom nødvendig kan alle produkter renses med anvendelse av standard prosedyrer.

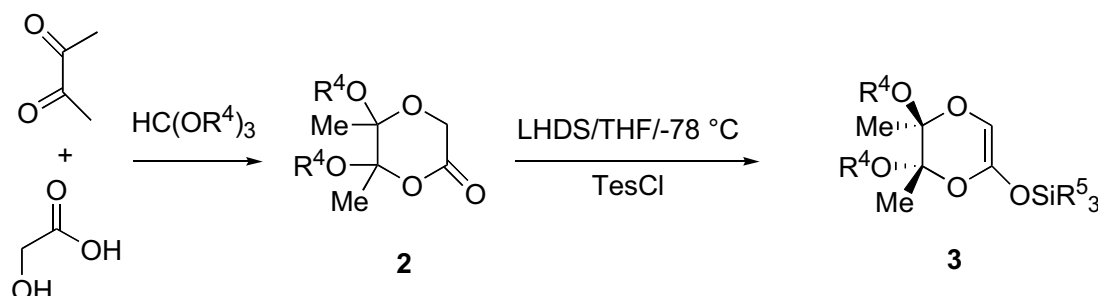
Alkoholyse utføres ved anvendelse av en egnet alkohol R^3OH i nærvær av trimetylsilylklorid.

I samsvar med en foretrukket form av oppfinnelsen, som gir de beste resultater med hensyn til utbytte og diastereoseleksjon, utføres reaksjonen som en «ett-kars reaksjon» som unngår isolering av alle mellomprodukter og gir de finale rene treo-diastereoisomerer etter et enkelt krystalliseringstrinn.

I samsvar med denne fremgangsmåte, imin **4** genereres først *in situ* fra aldehydet (R^1CHO) og et amin (R^2NH_2 , hvor $PhCH_2NH_2$ er foretrukket) i acetonitril ved romtemperatur og i nærvær av molekylsikter eller destillasjon av den azeotropiske blanding acetonitril/vann. Reaksjonstemperaturen senkes ved $-30^\circ C$ og silylderivatet **3** tilsettes. Deretter tilsettes katalysatoren og blandingen omrøres i 1 t. Den ubearbeidete reaksjonsblanding behandles direkte med en løsning av trimetylsilylklorid i alkohol og den rene diastereoisomer ($2R^*,3S^*$)-**1** (hvor R^3 er en (C1-C4)-alkylgruppe) isoleres etter krystallisering.

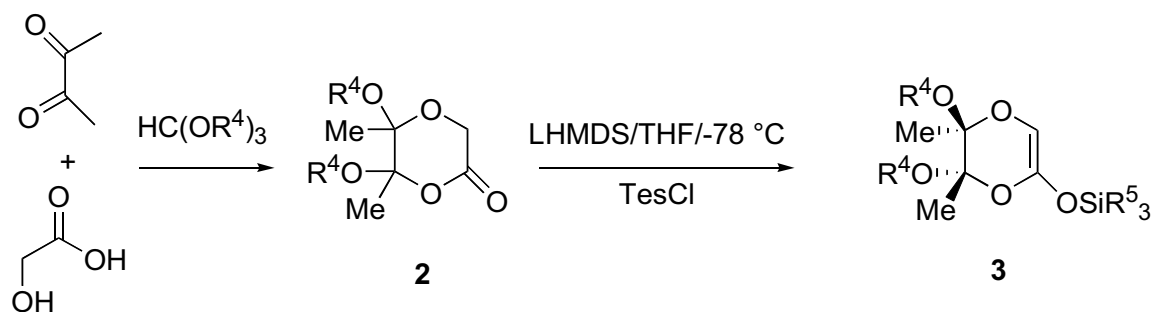
Dersom ønskelig kan fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen gi direkte enantiorene forbindelser (og således unngår man resolusjonstrinnet) ved å starte fra enantio-ren forbindelse **3** ($R^4 = Me$, $R^5 = Et$).

Forbindelser **3** oppnås fra de korresponderende laktoner **2** i samsvar med Skjema 2.



Forbindelse **2** ($R^4 = Me$) er en kjent forbindelse som kan oppnås med en konvensjonell metode^{8c}. Forbindelser **2** ($R^4 = Et$), **3** ($R^4 = Me$, $R^5 = Et$), **3** ($R^4 =$

$R^5 = Et$) er nye forbindelser som også er en del av foreliggende oppfinnelse, sammen med deres fremgangsmåter for fremstilling. Den nye lakton **2** ($R^4 = Et$) fremstilles gjennom en svært effektiv "ett-kars"-protokoll med direkte utgangspunkt i en blanding av 2,3-butandion, glykolsyre og etylortoformat i nærvær av en katalytisk mengde av H_2SO_4 . Forbindelser **3** fremstilles i utmerket utbytte fra **2** ved å anvende litiumheksametylendisilylamid (LHMDS) i THF ved $-78^\circ C$ og Et_3SiCl som silylerende middel (Skjema 2). Korte reaksjonstider er fordelaktive.



I samsvar med en foretrukket egenskap med foreliggende oppfinnelse fremstilles iminene **4** *in situ* fra det korresponderende aldehyd og amin, og reaksjonsblandingen gjøres umiddelbart i stand til å omdannes med forbindelse **3** slik at man unngår deres isolering som er problematisk og gir lavt utbytte på grunn av at iminene er kjent å være ganske ustabile forbindelser.

Fordeler med oppfinnelsen

Fremgangsmåten ifølge foreliggende oppfinnelse er overlegen på grunn av enkelheten i prosedyren, som ikke krever noen isolasjon av mellomproduktene og heller ikke problematiske kromatografiske rensinger.

Milde betingelser er nødvendig for å avbeskytte både hydrokso- og karboksygruppene. Dette er viktig fordi risikoen for racemisering fullstendig unngås.

Gode utbytter og diastereoseleksjon er ytterligere essensielle fordeler.

Foreliggende fremgangsmåte gir en racemisk blanding av isoserivanderivater som kan separeres med konvensjonelle prosedyrer. Imidlertid, dersom ønskelig, kan resolusjonstrinnet enkelt unngås og enantio-rene forbindelser kan oppnås direkte dersom enantio-rene beskyttede glysidiske syrer¹⁰ anvendes.

Eksempler

InCl_3 ble dehydrert ved 200°C under vakuum i 2 t.

- 5 **5,6-Dietoksy-5,6-dimetyl-[1,4]-dioksan-2-on.** 2,3-Butandion (4,6 ml, 46,22 mmol) og glykolsyre (3,07 g, 40,40 mmol) ble oppløst i etylortoformat (40 ml) og en katalytisk mengde av H_2SO_4 ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble satt til henstand ved 25°C i 1 t. En mettet løsning av NaHCO_3 (10 ml) ble tilsatt og blandingen ble ekstrahert med AcOEt (3 x 30 ml). De organiske sjikt ble
- 10 dehydrifisert over Na_2SO_4 og den ubearbeidete reaksjonsblanding ble kromatografert på silikagel (sykloheksan/AcOEt, 10:1) og ga ren forbindelse **2** ($\text{R}^4 = \text{Et}$, 52%) etter krystallisering. Hvitt faststoff, sm.p. 37°C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{pentan}$, 0°C). IR (NaCl) ν_{max} 1752 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 4,32, 4,23 (AB system, J 16,6, 2H), 3,79-3,69 (m, 2H), 3,58 (q, J 7,2, 2H), 1,53 (s, 3H), 1,41 (s, 3H), 1,21 (t, J 6,9, 3H), 1,99 (t, J 7,0, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 168,1, 105,2, 97,8, 60,5, 58,8, 57,3,
- 15 18,8, 17,9, 15,9, 15,7, 15,3. MS (ESI) m/z 341,4 $[\text{M} + 23]^+$; Analytisk beregnet for $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_5$: C, 55,03; H, 8,31; funnet C, 55,12; H, 8,38.

- 5,6-Dimetoksy-5,6-dimetyl-[1,4]-dioksen-2-yloksy)trietylsilan.** Lakton **2** ($\text{R}^4 = \text{Me}$) (3,23 g, 17 mmol) ble oppløst i vannfri THF (35 ml) og blandingen ble avkjølt til -78°C under N_2 . LHMDs (4,52 g, 27 mmol) ble oppløst i THF (10 ml) og deretter tilsatt dråpevis. Etter tilsetningen ble blandingen omrørt i ytterligere 10 min før tilsetning av TESCI (4 ml, 26 mmol). Den resulterende løsning ble deretter tillatt å varmes til 25°C og omrøringen fikk fortsette natten over. THF ble
- 25 deretter fjernet under redusert trykk, og pentan (50 ml) ble tilsatt til resten. Den resulterende suspensjon ble filtrert gjennom Celite, og oppløsningsmiddelet ble fjernet in vacuo og ga den ubearbeidete forbindelse som ble destillert under vakuum (120°C , 0,8 mmHg). Ren forbindelse **3** ($\text{R}^4 = \text{Me}$, $\text{R}^5 = \text{Et}$) ble oppnådd (4,26 g, 82%) som en fargeløs olje. IR (NaCl) ν_{max} 1719 , 1149 , 740 cm^{-1} ; ^1H
- 30 NMR (CDCl_3) δ 5,52 (s, 1H), 3,37 (s, 1H), 3,22 (s, 1H), 1,45 (s, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,06-0,94 (m, 9H), 0,75-0,67 (m, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 143,9, 104,3, 96,6, 90,4, 49,5, 48,6, 17,6, 17,1, 6,6, 4,8. MS (ESI) m/z 218,9; Analytisk beregnet for $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_5\text{Si}$: C, 55,23; H, 9,27; funnet C, 55,11; H, 9,15.

- 35 **5,6-Dietoksy-5,6-dimetyl-[1,4]-dioksin-2-yloksy)trietylsilan.** Silyl derivat **3** ($\text{R}^4 = \text{R}^5 = \text{Et}$) (4,8 g, 85%) ble fremstilt i samsvar med ovenfor nevnte syntese-protokoll, men basen ble tilsatt til blandingen av **2** ($\text{R}^4 = \text{Et}$) (3,7 g, 17 mmol) og

TESCI. Fargeløs olje (130°C, 0,8 mmHg). IR (NaCl) $\nu_{\max}$ 1721, 1149, 744 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 5,50 (s, 1H), 3,68-3,63 (m, 2H), 3,51 (q, J 7,0, 2H), 1,46 (s, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,22-1,03 (m, 6H), 1,02-0,88 (m, 9H), 0,75-0,63 (m, 4H), 0,55 (q, J 10,8, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 143,8, 104,3, 100,2, 96,4, 57,4, 56,6, 18,4, 17,9, 15,9, 15,7, 6,6, 4,9. MS (ESI) m/z 355,2 $[\text{M} + 23]^+$; Analytisk beregnet for $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{Si}$: C, 57,79; H, 9,70; funnet C, 57,60; H, 9,58.

Fremstilling av forbindelser 5 og 6. Metode A. Imin **4** (0,66 mmol) ble oppløst i tørr MeCN (1,2 ml) under nitrogen og omrøring. Reaksjonsblandingen ble deretter avkjølt ved -30°C og vannfri InCl_3 (73 mg, 0,33 mmol) ble tilsatt i én porsjon. Etter omrøring ved denne temperatur i 10 min, ble en løsning av silylderivatet **3** (0,66 mmol) i tørr MeCN (1 ml) tilsatt dråpevis. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 t og deretter stoppet med en mettet løsning av NaHCO_3 (1 ml). Det ubearbeidede materialet ble ekstrahert med AcOEt (3 x 5 ml) og de samlede organiske faser ble vasket med saltløsning, tørket over Na_2SO_4 , filtrert og oppløsningsmiddelet ble fjernet under vakuum. Det ubearbeidede materialet ble rensert med silikagel flash kromatografi. Forbindelser **5/6** ($\text{R}^4 = \text{Et}$) ble kromatografert på en flash Cartridge kromatografi (SiO_2 ; n -heksan/ Et_2O , 7:2; strømming: 30 ml/min). I disse siste tilfeller ble kun isomerer **5** isolert. **Metode B.** I en tohalset rundbunnet flaske utstyrt med en magnetisk omrøringsstav og en nitrogeninngang ble egnet aldehyd (benzaldehyd: 60 μL , 0,59 mmol; isovaleraldehyd: 63 μL , 0,59 mmol) og amin (benzylamin: 79 μL , 0,59 mmol) oppløst i MeCN (1,5 ml) i nærvær av molekylsikt (60 mg, aktivert ved 200°C under vakuum i 2t). Etter 1 t ble reaksjonsblandingen avkjølt ved -30°C og vannfri InCl_3 (65,3 mg, 0,29 mmol) ble tilsatt i én porsjon. Etter omrøring ved denne temperatur i 10 min ble en løsning av silylenoleter **3** ($\text{R}^4 = \text{Me}$, $\text{R}^5 = \text{Et}$) (180,2 mg, 0,59 mmol) i tørr MeCN (1 ml) tilsatt dråpevis. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 t. Reaksjonsblandingen ble opparbeidet som rapportert i ovenfor nevnte prosedyre og forbindelser **5/6** ($\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = \text{Bn}$, $\text{R}^4 = \text{Me}$) eller **5/6** ($\text{R}^1 = \text{Me}_2\text{CHCH}_2$, $\text{R}^2 = \text{Bn}$, $\text{R}^4 = \text{Me}$) ble isolert, respektivt.

(3R*,5S*,6S*)-3-(1'-N-Benzylamino-1'-fenyl-metyl)-5,6-dimetoksy-5,6-dimetyl-[1,4]-dioksan-2-on (5,6: $\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = \text{Bn}$, $\text{R}^4 = \text{Me}$).

Kolonnekromatografi: AcOEt /sykloheksan, 1:5; **Metode A:** 65% (4:1), **5:** 52%, **6:** 13%. **Metode B:** **5:** 71%, **6:** 16%.

1'S*-5 ($\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = \text{Bn}$, $\text{R}^4 = \text{Me}$): 108°C (n -pentan/ CH_2Cl_2). IR (KBr) $\nu_{\max}$

3372, 1744 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,40-7,22 (m, 10H), 4,31, 4,28 (AB system, J 2,9, 2H), 3,60, 3,51 (AM system, J 13,2, 2H), 3,21 (s, 3H), 3,14 (s, 3H), 3,0-2,00 (br, 1H, exch.), 1,47 (s, 3H), 1,37 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 169,2, 140,8, 139,7, 128,7, 128,6, 128,5, 127,2, 105,1, 98,6, 75,7, 63,6, 51,1, 50,1, 49,5, 18,4, 17,2. MS (ESI) m/z 386,0 $[\text{M} + 1]^+$; Analytisk beregnet for $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_5$: C, 68,55; H, 7,06; N, 3,63; funnet C, 68,43; H, 7,14; N, 3,56.

1'R*-6 ($\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = \text{Bn}$, $\text{R}^4 = \text{Me}$): blek gul olje. IR (NaCl) ν_{max} 3318, 1748 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,1-7,26 (m, 10H), 4,54, 4,30 (AB system, J 2,7, 2H), 3,75, 3,56 (AM system, J 13,2, 2H), 3,33 (s, 3H), 2,77 (s, 3H), 2,76 (brs, 1H, exch.), 1,37 (s, 3H), 1,36 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 168,1, 140,5, 138,4, 129,7, 128,7, 128,2, 127,8, 127,4, 105,1, 98,6, 74,7, 63,4, 51,5, 49,6, 49,5, 18,3, 17,2. MS (ESI) m/z 386,2 $[\text{M} + 1]^+$; Analytisk beregnet for $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_5$: C, 68,55; H, 7,06; N, 3,63; funnet C, 68,40; H, 7,15; N, 3,51.

(3R*,5S*,6S*)-3-(1'-N-Benzylamino-3'-metyl-butyl)-5,6-dimetoksy-5,6-dimetyl-[1,4]-dioksan-2-on (5,6: $\text{R}^1 = \text{Me}_2\text{CHCH}_2$, $\text{R}^2 = \text{Bn}$, $\text{R}^4 = \text{Me}$).

Kolonnekromatografi: forbindelser **5** og **6** er ustabile idet de kromatograferes på silikagel (AcOEt/sykloheksan, 1:5) med en lav gjennomstrømning for å forsøke å separere de to isomerer, og en dramatisk reduksjon av utbytte ble observert. Av denne grunn ble kun hoved-isomeren **5** ($\text{R}^1 = \text{Me}_2\text{CHCH}_2$, $\text{R}^2 = \text{Bn}$, $\text{R}^4 = \text{Me}$) isolert i ren form. Alternativt, idet den ubearbejdede reaksjonsblanding ble kromatografert på nøytral alumin (sykloheksan/ Et_2O , 7:1) ble blandingen av forbindelser oppnådd i godt utbytte. *Metode A*: 74%.

1'S*-5 ($\text{R}^1 = \text{Me}_2\text{CHCH}_2$, $\text{R}^2 = \text{Bn}$, $\text{R}^4 = \text{Me}$): blek gul olje. IR (NaCl) ν_{max} 3339, 1747 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,7-7,19 (m, 5H), 4,17 (d, J 2,6, 1H), 3,78 (s, 2H), 3,28-3,24 (m, 1H), 3,28 (s, 3H), 3,24 (s, 3H), 1,90 (brs, 1H, exch.), 1,80-1,60 (m, 1H), 1,50-1,38 (m, 2H), 1,46 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 0,91 (d, J 6,6, 3H), 0,86 (d, J 6,3, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 170,1, 141,2, 128,5, 128,3, 126,9, 105,0, 98,3, 72,5, 57,5, 51,8, 50,1, 49,3, 40,8, 25,4, 23,0, 22,98, 18,2, 17,1. Analytisk beregnet for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}_5$: C, 65,73; H, 8,55; N, 3,83; funnet C, 65,60; H, 8,70; N, 3,71.

(3R*,5S*,6S*)-3-(1'-N-n-Butyl-1'-fenyl-metyl)-5,6-dimetoksy-5,6-dimetyl-[1,4]-dioksan-2-on (5,6: $\text{R}^1 = \text{Ph}$, $\text{R}^2 = \text{Me}(\text{CH}_2)_3$, $\text{R}^4 = \text{Me}$). Kolonnekromatografi: AcOEt/sykloheksan, 1:5; *Metode A*: 68% (3,2:1), **5**: 52%, **6**: 16%.

1'S*-5 ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Me}(\text{CH}_2)_3$, $R^4 = \text{Me}$): blek gul olje. IR (NaCl) ν_{max} 3343, 1755 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,33-7,21 (m, 5H), 4,26, 4,22 (AB system, J 2,7, 2H), 3,31 (s, 3H), 3,11 (s, 3H), 2,55-2,20 (m, 3H, 1 H exch.), 1,55-1,20 (m, 4H), 1,44 (s, 3H), 1,35 (s, 3H), 0,83 (t, J 7,0, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 169,2, 139,9, 128,3, 128,2, 127,3, 104,9, 98,4, 75,5, 63,9, 49,9, 49,3, 46,7, 32,6, 20,5, 18,1, 17,0, 14,2. MS (ESI) m/z 352,1 $[\text{M} + 1]^+$; Analytisk beregnet for $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{NO}_5$: C, 64,93; H, 8,32; N, 3,99; funnet C, 64,80; H, 8,47; N, 3,87.

1'R*-6 ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Me}(\text{CH}_2)_3$, $R^4 = \text{Me}$): blek gul olje. IR (NaCl) ν_{max} 3323, 1747 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,37-7,24 (m, 5H), 4,53, 4,24 (AB system, J 3,5, 2H), 3,32 (s, 3H), 2,75 (s, 3H), 2,75-2,40 (m, 3H, 1 H exch.), 1,60-1,20 (m, 4H), 1,35 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 0,86 (t, J 7,1, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 168,1, 138,4, 129,4, 127,5, 127,4, 104,9, 98,5, 74,0, 63,7, 49,4, 49,3, 47,2, 32,3, 20,6, 18,1, 17,0, 14,2. MS (ESI) m/z 352,1 $[\text{M} + 1]^+$; Analytisk beregnet for $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{NO}_5$: C, 64,93; H, 8,32; N, 3,99; funnet C, 64,78; H, 8,43; N, 3,88.

(3R*,5S*,6S*,1'S*)-3-(1'-N-Benzylamino-1'-fenyl-metyl)-5,6-dietoksy-5,6-dimetyl-[1,4]-dioksan-2-on (5: $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^4 = \text{Et}$). Metode A: 74%;

Sm.p 154°C, dec. ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}$). IR 3344, 1749 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,38-7,17 (m, 10H), 4,30, 4,23 (AB system, J 2,5, 2H), 3,66, 3,43 (AM system, J 13,2, 2H), 3,73-3,19 (m, 4H), 3,00-2,00 (br, 1H, exch.), 1,49 (s, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,06 (t, J 6,9, 3H), 0,87 (t, J 6,9, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 169,2, 140,5, 139,7, 128,6, 128,5, 128,4, 128,3, 127,5, 127,0, 105,0, 98,2, 75,5, 63,2, 58,3, 57,3, 50,8, 18,9, 17,7, 15,2, 15,1. MS (ESI) m/z 414,0 $[\text{M} + 1]^+$; Analytisk beregnet for $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{NO}_5$: C, 69,71; H, 7,56; N, 3,39; funnet C, 69,58; H, 7,68; N, 3,27.

(3R*,5S*,6S*,1'S*)-3-(1'-N-Benzylamino-1'-(3,4-metylenedioksy)fenyl-metyl)-5,6-dietoksy-5,6-dimetyl-[1,4]-dioksan-2-on (5: $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = 3,4\text{-OCH}_2\text{O-Ph}$, $R^4 = \text{Et}$). 87%. Sm.p 112°C(*n*-pentan/ CH_2Cl_2); IR (NaCl) ν_{max} 3459, 1736 cm^{-1} ;

^1H NMR (CDCl_3) δ 7,26-7,22 (m, 5H), 6,94 (s, 1H), 6,77 (s, 2H), 5,98 (s, 2H), 4,18 (brs, 2H), 3,65, 3,42 (AM system, J 13,2, 2H), 3,78-3,20 (m, 4H), 2,55-1,80 (br, 1H, exch.), 1,49 (s, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,09 (t, J 7,0, 3H), 0,88 (t, J 7,0, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 169,0, 147,9, 147,0, 140,5, 133,9, 128,6, 128,3, 127,0, 122,0, 108,6, 108,1, 104,9, 101,1, 98,2, 75,6, 62,9, 58,3, 57,4, 50,6, 18,9, 17,8, 15,2, 15,0. MS (ESI) m/z 458,1 $[\text{M} + 1]^+$; Analytisk beregnet for $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{NO}_7$: C, 65,63; H, 6,83; N, 3,06; funnet C, 65,45; H, 7,00; N, 2,96.

Generell prosedyre for metanolyse av forbindelser 5 og 6: Forbindelse **5** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^4 = \text{Me}$; $R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^4 = \text{Et}$) eller **6** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^4 = \text{Me}$) (0,225 mmol) ble oppløst i en 0,5 M løsning av TMSCl i MeOH (1,0 ml, 0,5 mmol) under omrøring ved 25°C i 10 min. Oppløsningsmiddel ble eliminert og resten ble krystallisert, noe som ga ren forbindelse **1** eller **1'** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$) [**1**: 97% fra **5** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^4 = \text{Me}$); **1**: 95% fra **5** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^4 = \text{Et}$); **1'**: 80% fra **6** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^4 = \text{Me}$)].

"Ett-kars"-fremstilling av metyl 3-(Amino)-2-hydroksy-propionat. Derivater **1/1'** *Metode C*): omdanningen mellom **4** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$) og **3** ($R^4 = R^5 = \text{Et}$) ble utført i samsvar med generell prosedyre. ^1H NMR analyse av den ubearbeidete reaksjonsblanding viste nærvær av diastereoisomeren **5** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^4 = \text{Et}$) og kun spormengder av **6** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^4 = \text{Et}$) (HPLC: ASCENTIS SI 150x4,6 mm, 3 μm , 0,8 ml/min, $\lambda = 210$ nm, *n*-heksan/*i*PrOH, 98:2; 92:8). Den ubearbeidete reaksjonsblanding ble behandlet med MeOH/TMSCl i samsvar med ovenfor rapporterte prosedyrer og metylesterderivat **1** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^3 = \text{Me}$) (60%) ble oppnådd etter rekrySTALLISERING. En ytterligere mengde av forbindelse **1** ($R^1 = \text{Ph}$, $R^2 = \text{Bn}$, $R^3 = \text{Me}$; 10%) ble isolert etter kolonne-kromatografi på silikagel (sykloheksan/AcOEt, 4:1). *Metode D*): Opererende under nitrogen, ble det egnete aldehyd (0,59 mmol) og benzylamin (79 μl , 0,59 mmol) oppløst i MeCN (1,5 ml) i nærvær av molekylsikt (60 mg, aktivert ved 200°C under vakuum i 2t) og blandingen ble omrørt i 1t. Alternativt, nevnte imin **4** ble generert i MeCN hvoretter den azeotropiske blanding MeCN/H₂O ble evaporert. MeCN ble tilsatt (2 ml) og blandingen ble omrørt i 10 min og oppløsningsmiddel evaporert. Den samme protokoll ble repetert og til slutt ble MeCN (1,5 ml) tilsatt. Reaksjonsblandingen ble avkjølt ved -30°C, og deretter ble forbindelsen **3** ($R^4 = R^5 = \text{Et}$) (0,59 mmol) og katalysatoren (InCl₃ eller MgBr₂, 0,29 mmol) tilsatt og omrøringen fortsatte i 1 t. Den ubearbeidete reaksjonsblanding ble behandlet med MeOH/TMSCl i samsvar med ovenfor angitte prosedyre for metanolyse og metylesterderivater **1** ble isolert etter krystallisering eller etter flash silikagel kolonnekromatografi.

Metyl 3-(Benzylamino)-2-hydroksy-3-fenyl-propionat: *d.e.* 83%

(kolonnekromatografi (AcOEt/sykloheksan, 1:4). (**2R***,**3S***): 74%. Sm.p 107°C (*n*-pentan/Et₂O), (107-108°C)⁹. ^1H NMR (CDCl₃) δ 7,41-7,22 (m, 10H), 4,26, 3,95 (AX system, *J* 4,1, 2H), 3,77, 3,49 (AM system, *J* 13,2, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,00-

2,00 (br, 2H, exch.). (**2R***,**3R***): 10%. Mp 99°C (*n*-pentan/CH₂Cl₂), (98-99°C)⁹. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,38-7,22 (m, 10H), 4,54, 4,06 (AX system, *J* 4,0, 2H), 3,78, 3,61 (AM system, *J* 12,8, 2H), 3,60 (s, 3H), 3,00-2,00 (br, 2H, exch.).

- 5 **Metyl 3-(Benzylamino)-2-hidroksy-3-(4-nitrofenyl)-propionat**: *d.e.* 83%
(kolonnekromatografi: AcOEt/sykloheksan, 1:3). (**2R***,**3S***): 74%. Sm.p 147-149°C (*n*-hexan/CH₂Cl₂). IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3491, 1729 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8,23, 7,53 (AA'XX' system, *J* 8,8, 4 H), 7,38-7,10 (m, 5H), 4,25, 4,06 (AM system, *J* 3,3, 2H), 3,76, 3,43 (AM system, *J* 13,5, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,20-2,00 (brs, 2H, exch.). ¹³C NMR (CDCl₃) δ 173,4, 147,9, 147,6, 139,6, 128,9, 128,5, 128,3, 127,4, 123,9, 74,6, 62,9, 52,8, 50,8. MS (ESI+) *m/z* 353,1.
- 10

- Metyl 3-(Benzylamino)-2-hidroksy-3-(4-metoksyfenyl)-propionat**: *d.e.* 83%.
Kolonnekromatografi (AcOEt/sykloheksan, 1:3). (**2R***,**3S***): 72%. IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3491, 1733 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,40-7,18 (m, 7H), 6,90 (d, *J* 8,8, 2 H), 4,22, 3,89 (AM system, *J* 4,1, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,75, 3,47 (AM system, *J* 13,2, 2H), 3,70 (s, 3H), 2,80-1,90 (brs, 2H, exch.).
- 15

- Metyl 3-(Benzylamino)-2-hidroksy-3-(4-klorfenyl)-propionat**: *d.e.* 82%.
Kolonnekromatografi (AcOEt/sykloheksan, 1:4). (**2R***,**3S***): 73%. Sm.p 106-108°C (*n*-hexan/CH₂Cl₂). IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3491, 1729 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,40-7,10 (m, 9H), 4,21, 3,91 (AM system, *J* 3,6, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,75, 3,45 (AM system, *J* 14,5, 2H), 3,70 (s, 3H), 2,80-1,90 (brs, 2H, exch.).
- 20

- 25 **Metyl 3-(Benzylamino)-2-hidroksy-5-metyl-heksanoat**: *d.e.* 87%
(kolonnekromatografi: Et₂O/*n*-heksan, 1:4). (**2R***,**3S***): 68%. Sm.p 89-90°C IR (NaCl) $\nu_{\max}$ 3467, 1739 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,40-7,20 (m, 5H), 4,05 (d, *J* 2,2, 2H), 3,80-3,60 (2H, overl.), 3,73 (s, 3H), 3,03 (dt, *J* 7,0, 1,8, 1H), 2,50-2,05 (br, 2H, exch.), 1,80-1,60 (m, 1H), 1,50-1,20 (m, 2H), 0,92 (d, *J* 1,8, 3H), 0,86 (d, *J* 1,8, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 175,3, 140,5, 128,5, 128,4, 127,3, 72,0, 57,4, 52,3, 52,0, 41,6, 25,3, 23,0, 22,7. MS (ESI+) *m/z* 266,1.
- 30

- Metyl 3-(Benzylamino)-2-hidroksy-3-tiofenyl-propionat**: *d.e.* 79%
(kolonnekromatografi AcOEt/sykloheksan, 1:4). (**2R***,**3S***): 73%. Olje. IR (NaCl) $\nu_{\max}$ 3467, 1739 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,38-7,20 (m, 6H), 7,03-6,95 (m, 2H), 4,33, 4,22 (AB system, *J* 3,7, 2H), 3,83, 3,55 (AM system, *J* 13,5, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,00-2,00 (br, 2H, exch.); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 173,6, 143,6, 140,0, 128,5,
- 35

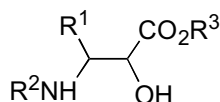
128,4, 127,3, 126,6, 126,0, 125,3, 75,2, 59,2, 52,7, 50,8. MS (ESI+) *m/z* 314,1.

Referanser

- 5 1. Matthijs, S.; Budzikiewicz, H.; Schafer, M.; Wathelet, B.; Cornelis, P. *Zeitschrift fuer Naturforschung, C: J. Biosc.* **2008**, 63, 8-12. Chem. Abstr. **2008**, 149, 489268.
2. Iizuka, K.; Kamijo, T.; Harada, H.; Akahane, K.; Kubota, T.; Umeyama, H.; Ishida, T.; Kiso Y. *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 2707-2714.
- 10 3. Blomgren, H.; Wasserman, J. *Cancer Lett.* **1981**, 11, 303-308.
4. Okino, T.; Matsuda, H.; Murakami, M.; Yamaguchi, K. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 501-504.
5. Shimamoto, K. *Chem. Rec.* **2008**, 8, 182-199.
6. (a) Bodkin, J. A.; Bacskey, G. B.; McLeod, M. D. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 2544-2553. (b) Cariou, C. C. A.; Clarkson, G. J.; Shipman, M. J. *Org. Chem.* **2008**, 73, 9762-9764. (c) Chen, J.; Kuznetsova, L. V.; Ungreanu, I. M.; Ojima, I. In *Enantioselective Synthesis of β -Amino Acids* (2nd Ed.) Juaristi, E.; Soloshonok, V. A., Eds. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ **2005**, 447-476.
- 15 (d) Spletstoser, J. T.; Flaherty, P. T.; Himes, R. H.; Georg, G. I. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 6459-6465. (e) Martin-Zamora, E.; Ferrete, A.; Llera, J. M.; Munoz, J. M.; Pappalardo, R. R.; Fernandez, R.; Lassaletta, J. M. *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 6111-6129. (f) Liu, C.; Tamm, M.; Notzel, M. W.; de Meijere, A.; Schilling, J. K.; Kingston, D. G. I. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2049-2052. (g) Bunnage, E. M.; Davies, S. G.; Goodwin, C. J. *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1994**, 2385-2391.
- 20 7. (a) Ke, B.; Qin, Y.; Zhao, F.; Qu, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 4783-4785. (b) Wang, Y.; He, Q.-F.; Wang, H.-W.; Zhou, X.; Huang, Z.-Y.; Qin, Y. J. *Org. Chem.* **2006**, 71, 1588-1591. (c) Hata, S.; Tomioka, K. *Tetrahedron* **2007**, 63 8514-8520. (d) Ha, H.-J.; Ahn, Y.-G.; Woo, J.-S.; Lee, G. S.; Lee, W. K. *Bull. Chem. Soc. Jap.* **2001**, 74, 1667-1672 (e) Guo, Z.; Shi, T.; Jiang, J.; Yang, L.; Hu, W. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 5028-5033.
- 30 8. Ley, S. V.; Diez, E.; Dixon, D. J.; Guy, R. T.; Michel, P.; Natrass, G.L.; Sheppard, T. D. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 3608-3617.
9. Feske, B. D.; Kaluzna, I. A.; Stewart, J. D. J. *Org. Chem.* **2005**, 70, 9654-9657.
- 35 10. Diez, E.; Dixon, D. J.; Ley, S. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2906-2909.

Patentkrav

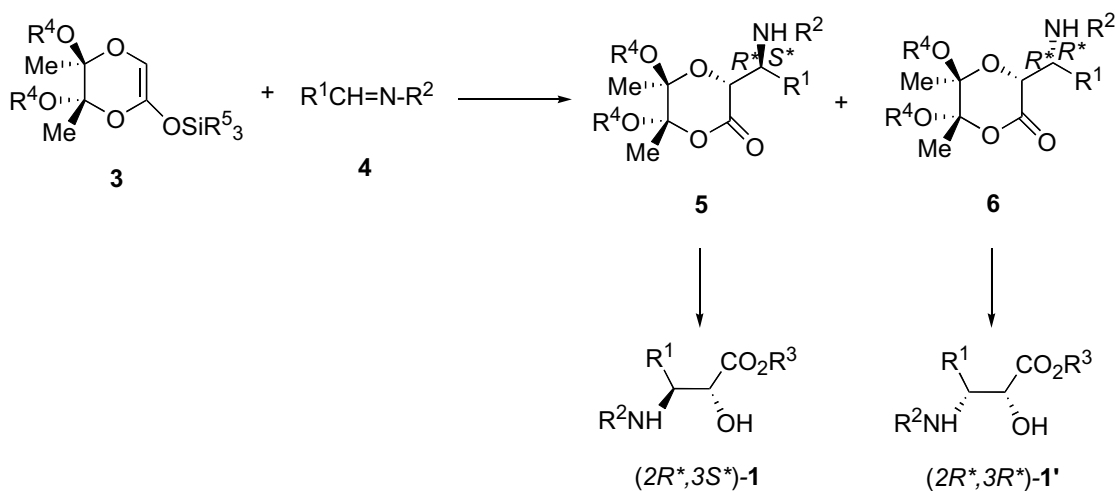
1. Fremgangsmåte for fremstilling av forbindelser av generell formel 1



1

hvor R^1 er en lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe, en usubstituert eller substituert aryl- eller heteroarylgruppe, R^2 er en lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe, en arylalkylgruppe; R^3 er H, en (C1-C4)-alkylgruppe, omfattende:

- omdanning av en silylenolester av generell formel 3, hvor R^4 er Me eller Et og R^5 er Me eller Et med en imin av generell formel 4 hvor R^1 er en lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe, en arylalkylgruppe, en usubstituert eller substituert arylgruppe eller en heteroarylgruppe, R^2 er en lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe eller en arylalkylgruppe;
- alkoholyse eller hydrolyse av de oppnådde mellomprodukter av generell formel (3*R*^{*},5*S*^{*},6*S*^{*},1'*S*^{*})-5 og (3*R*^{*},5*S*^{*},6*S*^{*},1'*R*^{*})-6 hvor R^1 er en lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe, en arylalkylgruppe, en usubstituert eller substituert arylgruppe eller en heteroarylgruppe; R^2 er en lineær eller forgrenet (C1-C6)-alkylgruppe, eller en arylalkylgruppe; R^4 er en Me- eller Et-gruppe.



2. Fremgangsmåte i samsvar med krav 1 hvor kondenseringen mellom forbindelser **3** og **4** katalyseres av protiske syrer eller Lewis-syrer.
3. Fremgangsmåte i samsvar med krav 2, hvor kondenseringen katalyseres av Lewis-syrer valgt blant InCl_3 og SnCl_2 og MgBr_2 .
4. Fremgangsmåte i samsvar med krav 2 eller 3, hvor kondenserings-temperaturen er i området fra -40 til -30°C .
5. Fremgangsmåte i samsvar med et av kravene 2-4, hvor kondenseringen utføres i aprotiske polare oppløsningsmidler valgt blant dimetylformamid, acetonitril, diklormetan, kloroform, tetrahydrofuran, fortrinnsvis acetonitril og diklormetan.
6. Fremgangsmåte i samsvar med et av kravene 1-5, hvor alkoholysen utføres ved anvendelse av en alkohol R^3OH i nærvær av trimetylsilyl klorid.
7. Fremgangsmåte i samsvar med et av kravene 1-6, som utføres som «ett-kars reaksjon» uten isolering av mellomproduktene for å gi de finale rene treo-diastereo-isomerer med krystallisering.
8. Fremgangsmåte i samsvar med krav 7, omfattende:
- *in situ* generering av nevnte imin **4** fra aldehydet (R^1CHO) og et amin (R^2NH_2 , fortrinnsvis PhCH_2NH_2), i acetonitril ved romtemperatur og i nærvær av molekylsikter eller ved destillasjon av den azeotropiske blanding acetonitril/vann;
 - tilsetning av silylderivatet **3** ved -30°C etterfulgt av tilsetning av katalysatoren;
 - behandling av den ubearbeidete reaksjonsblanding med trimetylsilyl-klorid i alkohol og isolering av den rene diastereoisomer ($2\text{R}^*, 3\text{S}^*$)-**1** (hvor R^3 er en (C1-C4)-alkylgruppe) etter krystallisering.