

# Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



Organización y  
Digitalización CSA Ltda

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

## PATENTE DE INVENCION



08-138166

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO NOVEDOSOS ANTIBIOTICOS AMINOGLICOSIDOS

1/2

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE MEIJI SEIKA KAISHA, LTD. y MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH  
FOUNDATION

DOMICILIO TOKYO, JAPON

74. APODERADO EMILIO FERRERO  
C.C. 438.019 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-138166- -00000-0000

Fecha: 2008-12-30 17:10:47

Dep. 2020 NUECREACION

Tra: 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios. 482

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

|                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SOLICITUD DE:                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                              |
| 1                                 | <input checked="" type="checkbox"/> Patente de Invención.<br><input checked="" type="checkbox"/> Capítulo I.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <input type="checkbox"/> Patente de Modelo de Utilidad.<br><input type="checkbox"/> Capítulo II.                                                                                                                                             |
| 2<br>SOLICITANTE<br>(71)          | <div>Nombre: MEIJI SEIKA KAISHA, LTD. y MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION</div> <div>sociedades constituidas y existentes bajo las leyes de Japón.</div> <div>Dirección: 4-16, Kyobashi 2-chome, Chuo-ku, 104-8002 Tokyo, Japón</div> <div>Y</div> <div>3-14-23, Kamiosaki, Shinagawa-ku, 141-0021 Tokyo, Japón</div> <div>Domicilio: Tokyo, Japón</div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <div>IDENTIFICACIÓN</div> <div>C.C. <input type="checkbox"/> NIT <input type="checkbox"/></div> <div>C.E. <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/></div> <div>Cual _____</div> <div>Número _____</div>                         |
| 3<br>REPRESENTANTE<br>O APODERADO | <div>Nombre: EMILIO FERRERO</div> <div>Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35</div> <div>Teléfono: 347 36 11</div> <div>Fax: 211 86 50</div> <div>E-mail: <a href="mailto:clientes@cavelier.com">clientes@cavelier.com</a></div> <div>Domicilio: Bogotá, Colombia.</div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | <div>IDENTIFICACIÓN</div> <div>C.C. <input checked="" type="checkbox"/> NIT <input type="checkbox"/></div> <div>C.E. <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/></div> <div>Cual _____</div> <div>Número 438.019 T.P 31.929</div> |
| 4<br>INVENTOR (ES)<br>(72)        | <div>1. Yoshihiko KOBAYASHI</div> <div>2-34-4-401 Nagata-Kita, Minami-Ku, Yokohama-Shi, Kanagawa-Ken, Japón</div> <div>3. Takeshi MURAKAMI</div> <div>c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 788, Kayama, Odawara-Shi, Kanagawa-Ken, Japón</div> <div>5. Masaki TSUSHIMA</div> <div>c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760 Morooka-Cho, Kouhoku-ku, Yokohama-Shi, Kanagawa-Ken, Japón</div> <div>2. Yoshihisa AKIYAMA</div> <div>c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760 Morooka-Cho, Kouhoku-ku, Yokohama-Shi, Kanagawa-Ken, Japón</div> <div>4. Nobuto MINOWA</div> <div>c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760 Morooka-Cho, Kouhoku-ku, Yokohama-Shi, Kanagawa-Ken, Japón</div> <div>6. Yukiko HIRAIWA</div> <div>c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760 Morooka-Cho, Kouhoku-ku, Yokohama-Shi, Kanagawa-Ken, Japón</div> |                                                                                                                                                                                                                                              |

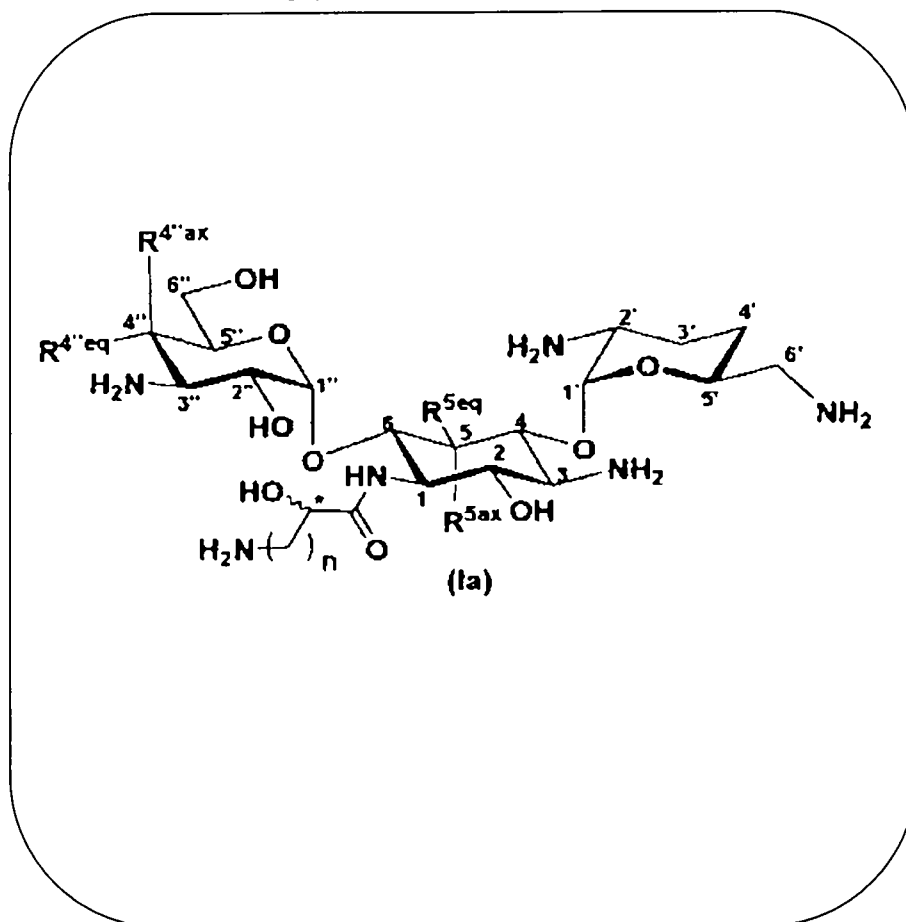
|   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                     |                                                            |                                                                   |
|---|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
|   | <div><div><div>7. Shoichi MURAKAMI</div><div>c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd.,<br/>760 Morooka-Cho,<br/>Kouhoku-ku,<br/>Yokohama-Shi,<br/>Kanagawa-Ken,<br/>Japón</div></div><div><div>9. Kazushige SASAKI</div><div>6-14-32-203, Shimokodanaka,<br/>Nakahara-ku,<br/>Kawasaki-Shi,<br/>Kanagawa-Ken,<br/>Japón</div></div><div><div>11. Toshiaki MIYAKE</div><div>2-24-6-401, Minamiyamata,<br/>Tsuzuki-Ku,<br/>Yokohama-Shi,<br/>Kanagawa-Ken<br/>Japón</div></div><div><div>13. Daishiro IKEDA</div><div>5-20-8, Yoyogi,<br/>Shibuya-ku,<br/>TokyoTo,<br/>Japón</div></div></div> <div><div><div>8. Mitsuhiro ABE</div><div>c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd.,<br/>760 Morooka-Cho,<br/>Kouhoku-ku,<br/>Yokohama-Shi,<br/>Kanagawa-Ken,<br/>Japón</div></div><div><div>10. Shigeru HOSHIKO</div><div>c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd.,<br/>760 Morooka-Cho,<br/>Kouhoku-ku,<br/>Yokohama-Shi,<br/>Kanagawa-Ken,<br/>Japón</div></div><div><div>12. Yoshiaki TAKAHASHI</div><div>28-12, Denenchofu-Minami,<br/>Ota-ku,<br/>Tokyo-To,<br/>Japón</div></div></div> |                                                     |                                                            |                                                                   |
| 5 | <div>PCT (86)</div> <div>Solicitud Internacional No. <u>PCT/JP2007/061209</u>      Fecha: <u>1 de junio de 2007</u></div> <div>Publicación Internacional No. <u>WO 2007/142150 A1</u>      Fecha: <u>13 de diciembre de 2007</u></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                     |                                                            |                                                                   |
| 6 | <div>Título (54)</div> <div><u>NOVEDOSOS ANTIBIÓTICOS AMINOGLICÓSIDOS</u></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                     |                                                            |                                                                   |
| 7 | <div>Clasificación Internacional (51) <u>C07H 015/234</u></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                     |                                                            |                                                                   |
| 8 | <div>Prioridad</div> <div>SI<input checked="" type="checkbox"/> NO<input type="checkbox"/></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | <div>(33) País de Origen</div> <div><u>JP</u></div> | <div>(32) Fecha</div> <div><u>2 de junio de 2006</u></div> | <div>(31) Número de Solicitud</div> <div><u>2006-155062</u></div> |
| 9 | <div>Comprobante de pago No.: <u>08-97,012</u>      Fecha: <u>15 de diciembre de 2008</u></div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                     |                                                            |                                                                   |

10

**Anexos:**

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 501.000.00.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☒ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

**FIGURA CARACTERÍSTICA**

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE:

EMILIO FERRERO

FIRMA:

C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

SCT



**DOCUMENTOS ANEXOS**

1. ☒ Publicación Internacional WO 2007/142150 A1

Descripción:

Páginas 179 en el idioma original

Páginas 230 en español

Reivindicaciones: Número (s) 36

Figuras: Número (s)

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA  
FASE INTERNACIONAL**



EMBAJADA DE COLOMBIA,  
SECCION CONSULAR  
TOKIO, JAPON

13326  
1045

El Suscrito, Encargado de las Funciones Consulares en Tokio, vistos los siguientes documentos:

- 1) Certificado de Registro Mercantil de la Compañía;
- 2) Certificado auténtico sobre autorización para otorgar el poder;

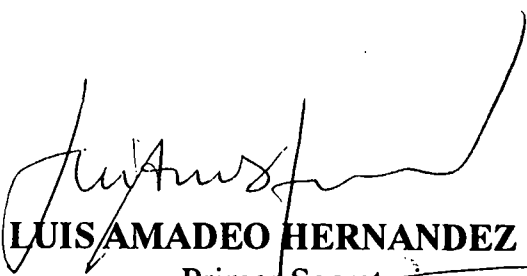
CERTIFICA

Que la compañía **MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.**, está conformada de acuerdo con las leyes del Japón y cumple con su objeto social conforme a las mismas. Que el señor **ICHIRO KITASATO** en su carácter de **PRESIDENTE** de la citada compañía, está autorizado para conferir el poder adjunto.

Que el señor **TAKESHI MOCHIZUKI** quien autentica el mencionado documento, es funcionario autorizado de la División Consular del Ministerio de Relaciones Exteriores del Japón, y su firma coincide con la registrada en este Consulado.

El Encargado de las Funciones Consulares no asume responsabilidad alguna por el contenido del documento adjunto.

Tokio, 17 de Abril del 2002

  
**LUIS AMADEO HERNANDEZ SITU**  
Primer Secretario  
Encargado de las Funciones Consulares

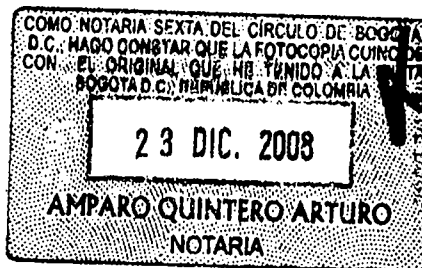
LA FIRMA APARECE EN EL  
DOCUMENTO DESESPESADO  
LAS FUNCIONES CONSULARES

463216  
Amadeo Hernandez

MINISTERIO DE RELACIONES  
EXTERIORES

Número: 39  
Derechos: US\$108  
(Ciento ocho dólares)

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE



2002 JUN -11 P 12:31

NO SE ASUME  
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO



COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTÁ  
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE  
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA  
BOGOTÁ D.C. REPÚBLICA DE COLOMBIA

23 DIC. 2008

AMPARO QUINTERO ARTURO  
NOTARIA

175319

BOGOTÁ D.C. REPÚBLICA DE COLOMBIA

BOGOTÁ D.C. REPÚBLICA DE COLOMBIA

## REPRESENTACION Y PODER

## REPRESENTATION AND POWER-OF-ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.

domiciliado (s) en/of No. 4-16, Kyobashi 2-Chome,

Chuo-Ku, Tokio, Japón

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1º del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los actos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para ejercer la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan su competencia jurisdiccional, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact of its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify the acts of agents without a power of attorney.

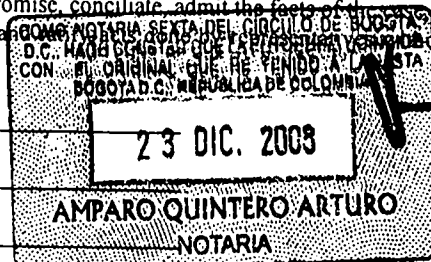
Dado y firmado hoy/Given and signed this \_\_\_\_\_

en/in \_\_\_\_\_

por/by Ichiro KITASATO, President

Firma

Signature

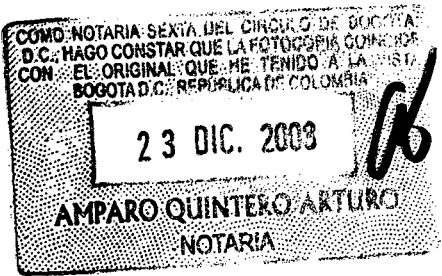


AUTENTICACION

El Señor Cónsul de Colombia debe expedir un *certificado consular* sobre (1) la existencia legal de la compañía que otorga el poder, (2) que ésta ejerce su objeto social, y (3) que las personas que otorgan el poder están autorizadas para darlo. A este efecto les solicitamos que muestren al Señor Cónsul las pruebas que acreditan esos hechos (1), (2) y (3).

AUTHENTICATION

The Colombia Consul must issue a *consular certificate*, on (1) the legal existence of the company which grants the Power-of-Attorney, (2) that it is in actual exercise of its company purposes, and (3) that the persons who execute the Power of Attorney is authorized to do so. To this effect, please show the Consul the evidence to prove the above facts (1), (2) and (3).



NOTA PARA EL SEÑOR CONSUL DE COLOMBIA: Según los artículos 65 del C. de P.C. y 480 del C. de Co., si el poderdante es una sociedad, el Señor Cónsul debe certificar que tuvo a la vista las pruebas de su existencia, que ejerce su objeto social y que quien confiere el poder es su representante.

Registration No. 327 of 2002

NOTARIAL CERTIFICATE

This is to certify that Taku NAKAGAWA an  
attorney-in-fact of Ichiro KITASATO who is  
President of MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.

and who is authorized to sign to the attached document on  
behalf of the said company organized and existing according  
to the laws of Japan, located at No.4-16, Kyobashi 2-Chome,

Chuo-Ku, Tokyo, Japan

Japan, has stated in my very presence that said

Ichiro KITASATO acknowledges himself to have sign to the  
said document.

Dated this 10th day of April, 2002.

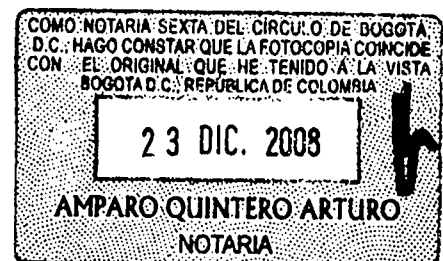


*Masakazu Watanabe*

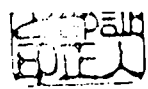


Masakazu Watanabe

Notary, attached to  
The Tokyo Legal Affairs Bureau.  
No.1-10, Nihombashi, Kabuto-cho,  
Chuo-ku, Tokyo, Japan.



8



平成 14 年 登 簿 第

327 号

認

証

嘱託人 日本国法律に従い設立され日本国東京都中央区京橋 2 丁目  
4 番 16 号に所在する明治製菓株式会社のため署名する権限を付与され  
ている同社、代表取締役である北里一郎は、代理人 中川 拓を通じ、  
該証書の署名が自己のものに相違ない旨、自認した。

For legalized by the foreign consul in Japan,  
this is to certify that the Seal affixed hereto  
is genuine.  
Tokyo, APR 12 2002

T. Mochizuki

よつて、これを認証する。

平成 14 年 4 月 10 日、本公証人役場において  
(Consular and Legation Policy Division)

東京都中央区日本橋兜町 1 番 10 号

東京法務局所属

公証人

渡部 正和  
Masakazu Watanabe



Masakazu Watanabe

総公証 No 015716 号

証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないもの  
り、かつ、その押印は、真実のものであることを証明する

平成 14 年 4 月 10 日

東京法務局長

寶金 敏明

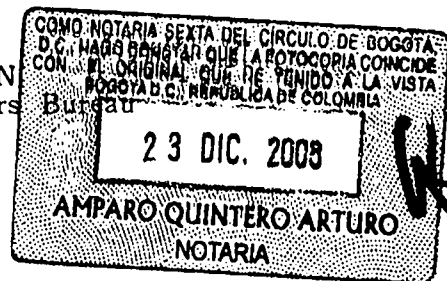


### CERTIFICATE

This is to certify that the signature affixed above has been provided  
by Notary, duly authorized by the Tokyo Legal Affairs Bureau and that  
the Official Seal appearing on the same is genuine.

Date APR. 10. 2002

Toshiaki HOUKIN  
Director of the Tokyo Legal Affairs Bureau



9

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 07.06/02 realizada por Diego Vargas,  
Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de  
Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores  
de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un  
documento escrito en inglés y español por medio del cual **MEIJI  
SEIKA KAISHA, LTD.** domiciliada en el No. 4-16, Kyobashi 2-Chome,  
Chuo-Ku, Tokio, Japón, otorga Poder a los Doctores EMILIO FERRERO,  
tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831, LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ, tpa.  
23555 y GERMÁN CAVELIER, tpa. 832.

Dado y firmado hoy \_\_\_\_\_

en \_\_\_\_\_

por Ichiro KITASATO, Presidente

Firma Ilegible

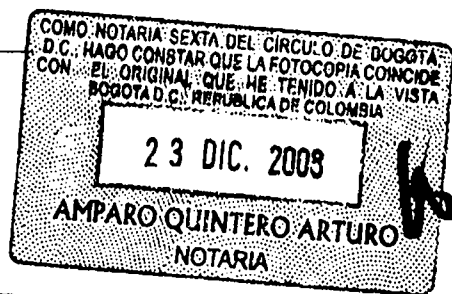
Firma

Firma

Sello Consular parcial en la esquina superior izquierda

Registro No. **327** de 2002

CERTIFICADO NOTARIAL



El presente es para certificar que Taku NAKAGAWA, un apoderado  
de Ichiro KITASATO, quién es Presidente de MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.  
y quien está autorizado para firmar el documento adjunto a nombre  
de dicha sociedad, organizada y existente de acuerdo a las leyes de  
Japón, ubicada en el No. 4-16, Kyobashi 2-Chome, Chuo-Ku, Tokio,  
Japón,



ha declarado en presencia mía que dicho Ichiro KITASATO reconoce que él mismo firmó dicho documento.

Fechado hoy 10 de Abril de 2002.

Firma Ilegible

Masakazu Watanabe

Notario, adjunto a la Oficina de Asuntos Legales de Tokio. No. 1-10, Nihombashi, Kabuto-cho, Chuo-ku, Tokio, Japón.

SELLO:

OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO

OFICINA NOTARIAL

NO 1-10 NIHOMBASHI, KABUTO-CHO

CHUO-KU TOKIO JAPÓN

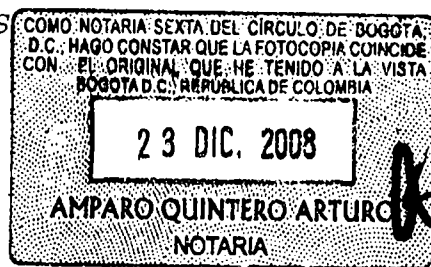
Aparecen Sellos Cuadrados

(Anexo)

TEXTO EN JAPONÉS

No. 015716

CERTIFICADO



El presente es para certificar que la firma anterior ha sido suscrita por un Notario, debidamente autorizado por la Oficina de Asuntos Legales de Tokyo y que el Sello Oficial que aparece en el mismo es auténtico.

Fecha ABRIL 10 DE 2002

Toshiaki HOUKIN

Director de la Oficina de Asuntos Legales de Tokio

Sello en tinta azul:

Para la legalización por cónsul extranjero en Japón, el presente es para certificar que el Sello colocado a este es auténtico.

Tokyo, ABRIL 12 DE 2002 Firma Ilegible

Funcionario

Ministerio de Relaciones Exteriores

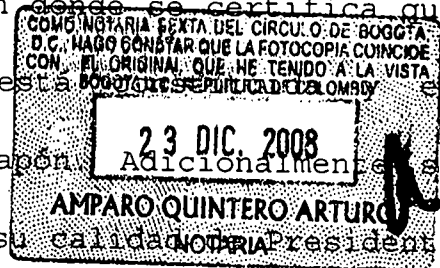
(División de Política Migratoria y Consular)

Sello circular:

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES - JAPÓN -

Aparecen sellos rojos sobre el anexo

Se anexa el certificado No. 39 del 17 de Abril de 2002 expedido por la EMBAJADA DE COLOMBIA en Tokio, Japón, en donde se certifica que la sociedad MEIJI SEIKA KAISHA, LTD. es existente de acuerdo con las leyes de Japón. Adicionalmente se certifica que el Señor ICHIRO KITASATO en su calidad de Presidente de la citada compañía está autorizado para conferir el Poder adjunto y así mismo se certifica la firma anterior del Señor TAKESHI MOCHIZUKI como funcionario de la División Consular del Ministerio de Relaciones Exteriores del Japón.



Firmado por LUIS AMADEO HERNÁNDEZ SITU, Primer Secretario Encargado de las Funciones Consulares.

Pagados los derechos e impuestos de timbre.

Legalización de la firma anterior con el **No. 463216** expedida por el Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores en Santafe de Bogotá el 04 de Junio de 2002.

*Sello Consular parcial al respaldo del documento*

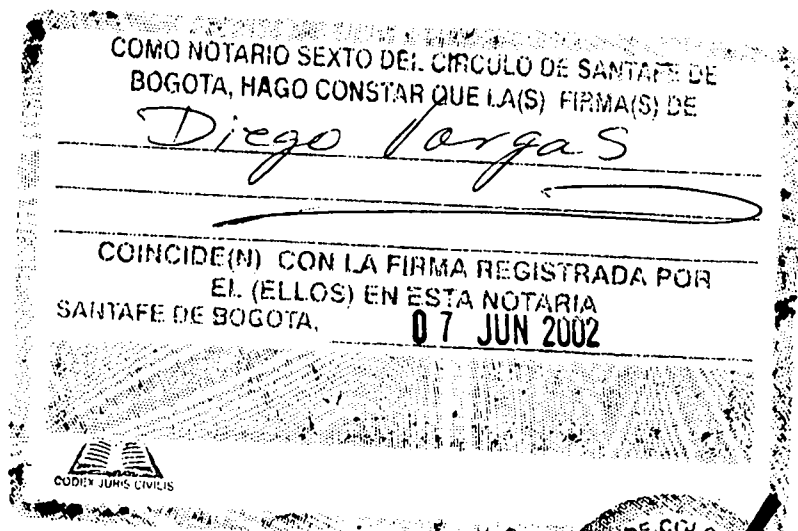
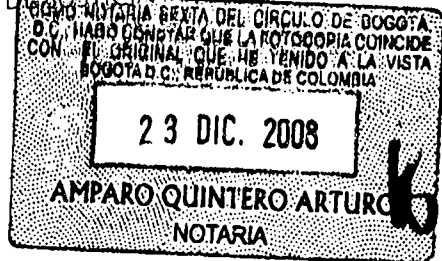
Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ//ID-3418/COLO 13326-701-001-4

*Diego F. Vargas*  
**DIEGO F. VARGAS Z.**

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL  
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL  
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999

MINISTERIO DE JUSTICIA



*Diego Vargas*  
465157  
CURIA FIRMADA EN EL  
DOCUMENTO DESEMPLEA  
LAS FUNCIONES DE NOTARIO

MINISTERIO DE RELACIONES  
EXTERIORES

NO SE ASUME  
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO  
2002 JUN -7 P 1:14  
JEF. DE LEGALIZACIONES  
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

Representación y Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, lemas comerciales, licencias.

Representation and Power-of-Attorney with notarial authentication and Apostille for patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, domain names, slogans, licenses.

## REPRESENTACION Y PODER

## REPRESENTATION AND POWER-OF-ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

**MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION**

domiciliado (s) en/of 3-14-23, Kamiosaki,

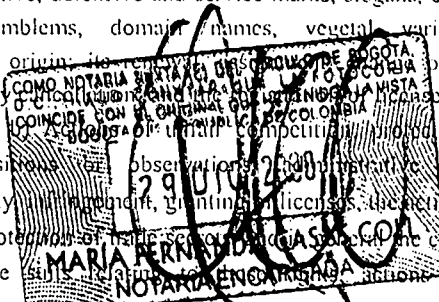
Shinagawa-ku, Tokyo 141-0021 JAPAN

Por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72 35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando haya la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles,

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4ª N° 72 35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact of its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above named attorneys at law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal and transfer; change of name or domicile, voluntary or involuntary cancellation, and the registration of the above rights; b) Actions of unfair competition, opposition to the consumer, opposition to administrative or Court cancellation, nullity, precautionary measures, granting of licenses, action for writ mandamus, the protection of industrial secrets, the civil, penal, and administrative suits, and in general all actions and suits



penales, administrativos o contencioso administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

13

instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this November 20, 2008

en/in Tokyo, Japan

por/by

Yoshiaki Nonomura

Firma

Yoshiaki NONOMURA,  
Chairman of the Board of  
Directors

Signature



Registration No. 1817 of 2008

NOTARIAL CERTIFICATE

This is to certify that Kazuhiko YAZAKI an attorney-in-fact of Yoshiaki NONOMURA who is Chairman of the Board of Directors of MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION and who is authorized to sign to the attached document on behalf of the said company organized and existing according to the laws of Japan, located at 3-14-23, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141-0021, Japan, has stated in my very presence that said Yoshiaki NONOMURA acknowledges himself to have sign to the said document.

Dated this 8th day of December, 2008.

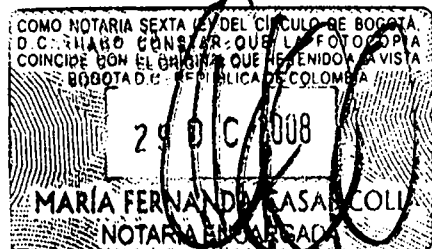


*Masakazu Watanabe*



Masakazu Watanabe

Notary, attached to  
The Tokyo Legal Affairs Bureau.  
No.1-10, Nihombashi, Kabuto-cho,  
Chuo-ku, Tokyo, Japan.





4373 =  
15

日本国法律に従い設立され日本国東京都品川区上大崎3丁目 14 番 23 号に所在する財団法人  
微生物化学研究会の代表者理事長であり、添付の書類に署名する権限を付与されている  
野々村禎昭は、別添文書における署名が自己のものに相違ない旨、代理人矢崎和彦を通じ、  
本公証人に対し自認した。

よって、これを認証する。

平成 20 年 12 月 8 日、本公証人役場において  
東京都中央区日本橋兜町 1 番 10 号

東京法務局 所属

公 証 人  
Notary

渡部 正幸  
Masakazu Watanabe  
Masakazu Watanabe



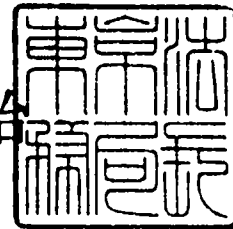
証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないものであり、かつ、その押印は、  
真実のものであることを証明する。

平成 20 年 12 月 8 日

東京法務局長

五十嵐義治



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: JAPAN  
This public document
2. has been signed by **Masakazu Watanabe**
3. acting in the capacity of Notary of the Tokyo Legal Affairs Bureau
4. bears the seal/stamp of **Masakazu Watanabe, Notary**

Certified

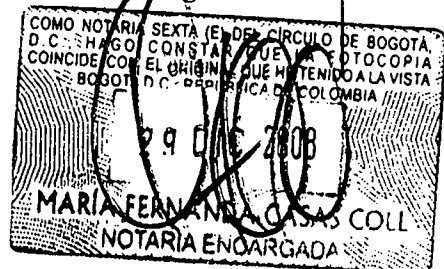
5. at Tokyo
6. DEC. 8, 2008
7. by the Ministry of Foreign Affairs
8. 08-NO 026305
9. Seal/stamp:
10. Signature



K. Oyabe

Kazutoyo OYABE

For the Minister for Foreign Affairs



4373  
16

DECLARATION

I, Kazuhiko YAZAKI, of Kyowa Patent and Law Office,  
2-3, Marunouchi 3-Chome, Chiyoda-Ku, Tokyo-To, Japan, declare  
and say:

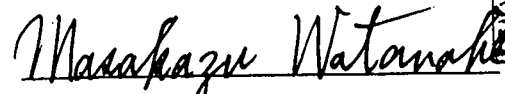
That I am thoroughly conversant with both the Japanese  
and English languages; and,

That the attached document represents a true English  
translation of the Certificate of Partial Closed Records.

Dated this 8th day of December, 2008

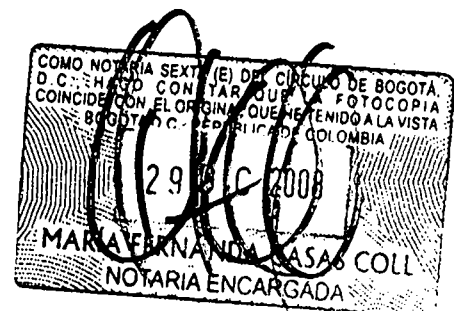
  
Kazuhiko YAZAKI

Before me

  
Masakazu Watanabe



Notary, attached to  
The Tokyo Legal Affairs Bureau.  
No. 1-10, Nihombashi, Kabuto-cho,  
Chuo-ku, Tokyo, Japan.





131

COMO NOTARIA SEÑALA (B) DEL CIRCULO DE BOGOTA.  
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA  
COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A VISTA  
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

29 DIC 2008

MARIA FERNANDA CASAS COLL  
NOTARIA ENCARGADA

## CERTIFICATE OF PARTIAL CURRENT COMMERCIAL REGISTER

14-23, Kamiosaki 3-Chome, Shinagawa-Ku, Tokyo-To, Japan  
MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION  
Company number 0107-05-000078

|                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Trade name              | <u>MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION</u>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Location of head office | 14-23, Kamiosaki 3-Chome, Shinagawa-Ku, Tokyo-To, Japan                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Date of Incorporation   | December 1, 1958                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Subject of Business     | <p>We conduct microbial and microbiological research to discover new substances widely beneficial, especially for sake of the prevention and treatment of disease. And by promoting the development and the utilization of these substances, we contribute to public health and welfare and support advanced academic research. We engage in the following businesses to achieve our goal.</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1 To investigate microbe and microbial products</li><li>2 To promote investigations of microbe and microbial products</li><li>3 To establish research institutes for research of microbe and microbial products</li><li>4 To promote the diffusion of knowledge about microbiological products beneficial for the prevention and treatment of disease</li><li>5 To make a connection and cooperation between both domestic and foreign organizations related to a microbial chemical field of study</li><li>6 To undertake projects necessary to accomplish of our goal other than the above mentioned categories</li></ol> |

This is to certify that the above are partial matters recorded on the current commercial register.

September 12, 2008  
Tokyo Legal Affairs Bureau,  
Registrar: Teruyoshi SAJI (Official Seal)

File number ケ 153881



180

COMO NOTARIA SEXTA (E) DEL CIRCULO DE BOGOTA.  
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA  
COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A VISTA  
BOGOTA D.C. - REPUBLICA DE COLOMBIA

29 JUN 2008

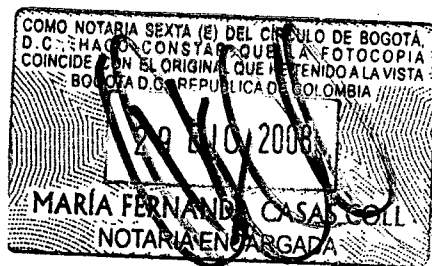
MARIA FERNANDA CASAS COLL  
NOTARIA ENCARGADA

現在事項全部証明書

東京都品川区上大崎三丁目14番23号  
財団法人微生物化学研究会  
会社法人等番号 0107-05-000078

|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |               |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 名 称      | 財団法人微生物化学研究会                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |               |
| 主たる事務所   | 東京都品川区上大崎三丁目14番23号                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |               |
| 法人成立の年月日 | 昭和33年12月1日                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |               |
| 目的等      | <p>目的<br/>微生物及び微生物生産物に関する研究を行い、広く有益な物質を発見するとともに、その開発利用を図ることによって、特に疾病の予防及び治療の促進に資し、もって国民の健康と福祉の増進に寄与するとともに、学術の振興を図ることを目的とする。目的を達成するため、次の事業を行う。</p> <p>1 微生物及び微生物生産物に関する調査研究<br/>2 微生物及び微生物生産物の調査研究に対する助成<br/>3 微生物及び微生物生産物に関する調査研究を行う研究所の設置<br/>4 疾病の予防及び治療に関する微生物生産物の知識の普及<br/>5 微生物化学に関する内外諸団体との連絡及び協力<br/>6 前各号に掲げるもののほか、本会の目的を達成するために必要な事業</p> |               |
| 役員に関する事項 | 東京都渋谷区広尾三丁目1番2-505号<br>理事 梅 沢 一 夫                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 平成19年 6月13日就任 |
|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 平成19年 6月22日登記 |
|          | 東京都世田谷区松原六丁目17番4号<br>理事 北 里 一 郎                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 平成19年 6月13日就任 |
|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 平成19年 6月22日登記 |
|          | 埼玉県さいたま市大宮区三橋三丁目116番地6<br>理事 中 村 輝 夫                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 平成19年 6月13日就任 |
|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 平成19年 6月22日登記 |
|          | 東京都世田谷区下馬六丁目45番16号<br>理事 山 川 民 夫                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 平成19年 6月13日就任 |
|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 平成19年 6月22日登記 |
|          | 名古屋市緑区鳴丘二丁目827番地<br>理事 永 津 俊 治                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 平成19年 6月13日就任 |
|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 平成19年 6月22日登記 |
|          | 東京都世田谷区赤堤一丁目29番10号<br>理事 永 井 克 孝                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 平成19年 6月13日就任 |
|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 平成19年 6月22日登記 |
|          | 東京都杉並区松ノ木二丁目26番7号<br>理事 竜 田 邦 明                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 平成19年 6月13日就任 |
|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 平成19年 6月22日登記 |





東京都品川区上大崎三丁目14番23号  
財団法人微生物化学研究会  
会社法人等番号 0107-05-000078

19

|       |                                                |               |
|-------|------------------------------------------------|---------------|
|       | 東京都杉並区清水一丁目26番21号<br>理事 赤松 穰                   | 平成19年 6月13日就任 |
|       |                                                | 平成19年 6月22日登記 |
|       | 東京都目黒区目黒一丁目9番6-206号<br>理事 新井 賢一                | 平成19年 6月13日就任 |
|       |                                                | 平成19年 6月22日登記 |
|       | 東京都新宿区大京町17番地<br>理事 杉村 征夫                      | 平成19年 6月13日就任 |
|       |                                                | 平成19年 6月22日登記 |
|       | 千葉県君津市君津台三丁目9番10号<br>理事 西本 至                   | 平成19年 6月13日就任 |
|       |                                                | 平成19年 6月22日登記 |
|       | 東京都杉並区成田東三丁目36番7号<br>理事 野々村 禎昭                 | 平成19年 6月13日就任 |
|       |                                                | 平成19年 6月22日登記 |
|       | 東京都杉並区堀ノ内一丁目5番21号<br>理事 別府 輝彦                  | 平成19年 6月13日就任 |
|       |                                                | 平成19年 6月22日登記 |
|       | 埼玉県蕨市中央七丁目3番1号<br>理事 新井 輝隆                     | 平成19年 6月13日就任 |
|       |                                                | 平成19年 6月22日登記 |
|       | 東京都三鷹市井の頭四丁目3番1号<br>理事 佐伯 哲二                   | 平成19年 6月13日就任 |
|       |                                                | 平成19年 6月22日登記 |
|       | 川崎市多摩区栗谷二丁目15番5号<br>理事 山口 英世                   | 平成19年 6月13日就任 |
|       |                                                | 平成19年 6月22日登記 |
| 資産の総額 | 金385億6567万4070円<br>平成20年 3月31日変更 平成20年 5月22日登記 |               |
| 出資の方法 | 1、寄附金<br>2、その他の収入                              |               |

これは登記簿に記録されている現に効力を有する事項の全部であることを証明した書面である。

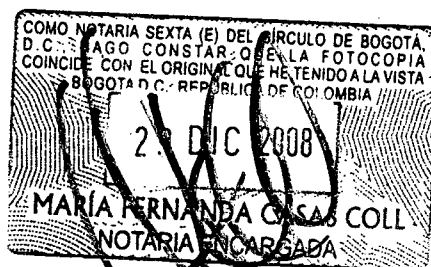
平成20年 9月12日  
東京法務局品川出張所  
登記官

東京法務局  
品川出張所  
登記官

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA  
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FIRMA  
COINCIDE CON EL ORIGEN QUE HAY EN LA  
BOGOTA D.C. DEPARTAMENTO DE BOGOTA

29 DEC 2008

MARIA FERNANDA CASTIGLIONE  
NOTARIA ENCARGADA



嘱託人 協和特許法律事務所 弁理士 矢崎和彦は、本公証人の面前において  
別添文書に署名した。

よって、これを認証する。

平成20年 12月 8日、本公証人役場において

東京都中央区日本橋兜町1番10号

東京法務局所属

公証人  
Notary

渡部 正和  
Masakazu Watanabe  
Masakazu Watanabe



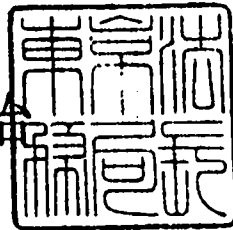
証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないものであり、かつ、その押印は、  
真実のものであることを証明する。

平成20年 12月 8日

東京法務局長

五十嵐義治



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: JAPAN  
This public document
2. has been signed by **Masakazu Watanabe**
3. acting in the capacity of Notary of the Tokyo Legal Affairs Bureau
4. bears the seal/stamp of **Masakazu Watanabe, Notary**

Certified

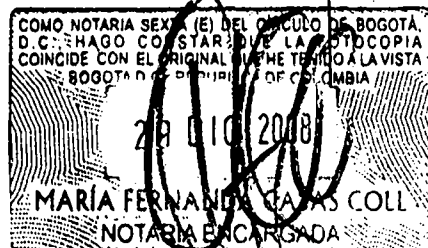
5. at Tokyo
6. DEC. 8, 2008
7. by the Ministry of Foreign Affairs
8. 08-N<sup>o</sup> 026304
9. Seal/stamp:
10. Signature



K. Oyabe

Kazutoyo OYABE

For the Minister for Foreign Affairs





TRADUCCION OFICIAL NO. 1115/2008.-

EL TEXTO QUE SIGUE ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES. LLEVA LA FIRMA Y EL SELLO DE HELENA URIBE DE LEMOINE, TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL, SEGUN RESOLUCION NO. 3618 DEL MINISTERIO DE JUSTICIA DE COLOMBIA, DE FECHA 6 DE SEPTIEMBRE DE 1972.

TRADUCCION DE LOS SELLOS QUE SE ENCUENTRAN EN EL DOCUMENTO DE REPRESENTACION Y PODER OTORGADO POR **MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION.**, DOMICILIADA 3-14-23, KAMIOSAKI, SHINAGAWA-KU TOKIO 141-0021 JAPON, A LOS DOCTORES **EMILIO FERRERO, GONZALO PERDOMO, LUZ CLEMENCIA DE PAEZ Y GERMAN CAVELIER.**

DADO Y FIRMADO EL 20 DE NOVIEMBRE DE 2008 EN TOKIO, JAPON

POR: YOSHIAKI NONOMURA

PRESIDENTE DE LA JUNTA DIRECTIVA

**CERTIFICACIÓN NOTARIAL (INDIVIDUAL)**

Por medio del presente certifico que KANUHIKO YAZAKI, APODERADO DE YOSHIAKI NONOMURA quien es el Presidente de la Junta Directiva de MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION y quien está autorizado para firmar el documento adjunto a nombre de dicha compañía, organizada y que existe de conformidad con las leyes de Japón, localizada en 3-14-23 Kamiosaki, Shinagawa-Ku, Tokio 141-0021, Japón, declaró en mi presencia que el mencionado Yoshiaki NONOMURA reconoció personalmente haber firmado el documento en cuestión.

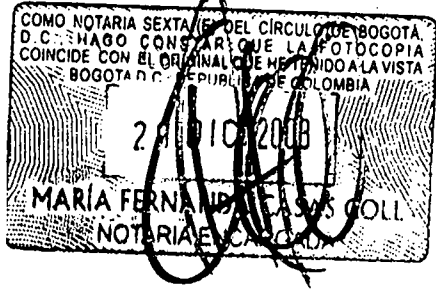
Fechado este día 8 de Diciembre de 2008

FIRMADO MASAKAZU WATANABE, NOTARIO ADJUNTO A LA OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO

NO.1-10 NIHOMBASHI, KABUTO-CHO,CHUO-KU TOKIO, JAPON.

HAY SELLO DEL NOTARIO.

*[Handwritten signature]*



22

TRADUCCION OFICIAL NO. 1115/2008.-

**APOSTILLA**

CONVENIO DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961

1. PAÍS: JAPON

EL PRESENTE DOCUMENTO PUBLICO

2. HA SIDO FIRMADO POR: **MASAKAZU WATANABE**

3. ACTUANDO EN SU CAPACIDAD DE: NOTARIO DE LA OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO

4. LLEVA EL SELLO DE: MASAKAZU WATANABE - NOTARIO

**CERTIFICADO**

5. EN: TOKIO

6. EL: 6 DICIEMBRE DE 2008

7. POR: EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES

8. BAJO EL NO.: **026305**

9. SELLO: MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE JAPON

10. POR EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES

FIRMADO: KAZUTOYO OYABE

LA TRADUCTORA OFICIAL

*Helena Uribe de Lemoine*

HELENA URIBE DE LEMOINE



LOTA FIRMADO POR EL  
DOCUMENTO DESEMPLEA  
LOS FIRMADOS EN BOGOTÁ

MINISTERIO DE  
RELACIONES  
EXTERIORES

32643

2008 DEC 26 A 12 12  
JEFE DE LEGALIZACIONES  
BOGOTÁ D.C.

NO ASUME  
RESPONSABILIDAD  
DEL TEXTO

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES  
RECIBO LEGALIZACION  
22426



23

TRADUCCION OFICIAL NO. 1119/2008-.

DECLARACION

YO, KAZUHIKO YAZAKI DE LA OFICINA LEGAL DE PATENTES DE KYOWA , 2-3 MARUNOUCHI 3-CHOME, CHIYODA-KU, TOKIO-TO, JAPÓN DECLARO Y DIGO:

QUE SOY TOTALMENTE IDÓNEO EN LOS IDIOMAS JAPONÉS E INGLÉS Y QUE EL DOCUMENTO ADJUNTO REPRESENTA UNA TRADUCCIÓN AL INGLÉS DEL CERTIFICADO DE REGISTROS PARCIALMENTE CERRADOS.

FECHADO EL 8 DE DICIEMBRE DE 2008

FIRMADO: KAZUHIKO YAZAKI

LEGALIZADO ANTE MI, MASAKAZU WATANABE, NOTARIO ADJUNTO A LA OFICIAN DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO NO. 1-10 NIHOMBASHI KBUTO-CHO, CHUO-KU, TOKIO, JAPÓN.

HAY SELLO DEL NOTARIO.

*Handwritten signature*



TRADUCCION OFICIAL NO. 1119/2008-.

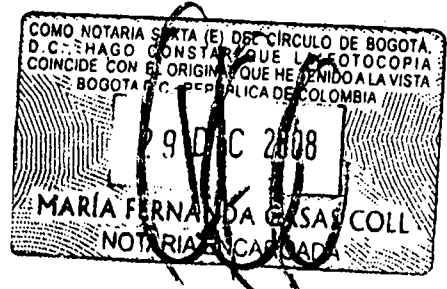
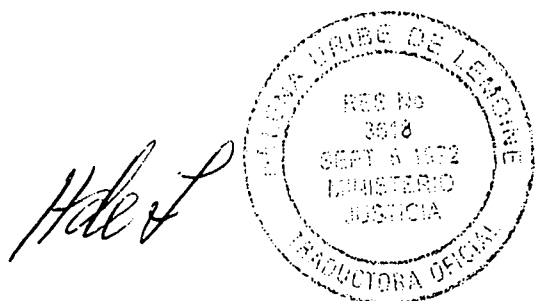
|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p>para la prevención y el tratamiento de enfermedades.</p> <p>5. Establecer la conexión y la cooperación entre las organizaciones tanto domésticas como extranjeras relacionadas con el campo de estudio químico microbiano.</p> <p>6. Empezar los proyectos necesarios para lograr nuestro objetivo, distintos a las categorías mencionadas anteriormente.</p> |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Por medio del presente certifico que los mencionados arriba son asuntos parciales registrados en el registro comercial actual.

12 de Septiembre de 2008  
Oficina de Asuntos Legales de Tokio, Japón,  
Registrador: Teruyoshi SAJI (Sello Oficial)

Archivo Número 153881.

-----



TRADUCCION OFICIAL NO. 1119/2008-.

EL TEXTO QUE SIGUE ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN FRANCES. LLEVA LA FIRMA Y EL SELLO DE HELENA URIBE DE LEMOINE, TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL POR RESOLUCION NO. 3618 DEL MINISTERIO DE JUSTICIA DE COLOMBIA, DE FECHA 6 DE SEPTIEMBRE, 1972.

CERTIFICADO PARCIAL DEL REGISTRO COMERCIAL ACTUAL

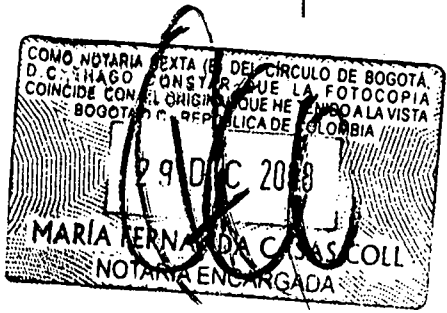
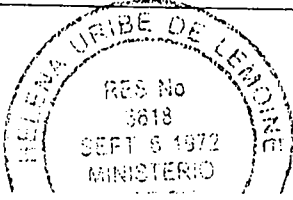
14-23 kamiosaki 3-Chome, Shinagawa-Ku, Tokio-To, Japón

MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION

Compañía No. 0107/05-000078

|                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nombre Comercial                     | MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Localización de la Oficina Principal | 14-23 Kamiosaki 3-Chome, Shinagawa-Ku, Tokio-To, Japón                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Nombre de Constitución               | 1° de Diciembre de 1958                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Objeto Social                        | <p>Llevamos a cabo investigación microbiana y microbiológica para descubrir nuevas sustancias ampliamente benéficas, especialmente con miras a la prevención y el tratamiento de enfermedades. Y al promover el desarrollo y la utilización de estas sustancias, contribuimos a la salud y al bienestar públicos y respaldamos la investigación académica avanzada. Estamos comprometidos en las siguientes actividades comerciales para lograr nuestro objetivo:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Investigar microbios y productos microbianos</li><li>2. Promover la investigación de microbios y productos microbianos</li><li>3. Establecer institutos de investigación para promover la investigación de microbios y productos microbianos</li><li>4. Promover la difusión del conocimiento acerca de los productos microbiológicos que son benéficos</li></ol> |

*Handwritten signature*



26

TRADUCCION OFICIAL NO. 1119/2008-

MINISTERIO DE  
RELACIONES  
EXTERIORES

NO ASUME  
RESPONSABILIDAD  
DEL TEXTO

**APOSTILLA** 132642

COYA FIRMA APARECE EN EL  
DOCUMENTO DESEMPENA

2008 DEC 26 A 11:1

JEFE DE LEGALIZACIONES  
BOGOTA D.C.

CONVENIO DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961

1. PAÍS: JAPON

EL PRESENTE DOCUMENTO PUBLICO

2. HA SIDO FIRMADO POR: **MASAKAZU WATANABE**
3. ACTUANDO EN SU CAPACIDAD DE: NOTARIO DE LA OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO
4. LLEVA EL SELLO DE: **MASAKAZU WATANABE** - NOTARIO

**CERTIFICADO**

5. EN: TOKIO
6. EL 8 DICIEMBRE DE 2008
7. POR: EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES
8. BAJO EL NO.: **026304**
9. SELLO: MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE JAPON
10. POR EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES  
FIRMADO: KAZUTOYO OYABE

LA TRADUCTORA OFICIAL

*Helena Uribe de Lemoine*

HELENA URIBE DE LEMOINE



4373<sub>A</sub>  
24

Registration No. 1818 of 2008

NOTARIAL CERTIFICATE

This is to certify that Kazuhiko YAZAKI  
an attorney-in-fact of Yoshihiko KOBAYASHI, Yoshihisa AKIYAMA,  
Takeshi MURAKAMI, Nobuto MINOWA, Masaki TSUSHIMA, Yukiko HIRAIWA,  
Shoichi MURAKAMI, Mitsuhiro ABE, Kazushige SASAKI,  
Shigeru HOSHIKO, Toshiaki MIYAKE, Yoshiaki TAKAHASHI and  
Daishiro IKEDA

declared in my very presence that said Yoshihiko KOBAYASHI,  
Yoshihisa AKIYAMA, Takeshi MURAKAMI, Nobuto MINOWA,  
Masaki TSUSHIMA, Yukiko HIRAIWA, Shoichi MURAKAMI,  
Mitsuhiro ABE, Kazushige SASAKI, Shigeru HOSHIKO,  
Toshiaki MIYAKE, Yoshiaki TAKAHASHI and Daishiro IKEDA  
had signed to the attached document and so the signatures  
were true and genuine.

Dated this 8th day of December , 2008



*Masakazu Watanabe*

Masakazu Watanabe

Notary, attached to  
The Tokyo Legal Affairs Bureau.  
No. 1 - 10, Nihombashi, Kabuto - cho,  
Chuo - ku, Tokyo, Japan.



## 認 証

4373A

28

嘱託人 古林良彦、秋山佳央、村上 健、箕輪 宣、津島正樹、平岩由起子、  
村上省一、安部允泰、佐々木和重、星子 繁、三宅俊昭、高橋良昭及び池田  
大四郎は、別添文書における署名が自己のものに相違ない旨、代理人  
矢崎和彦を通じ、本公証人に対し自認した。

よって、これを認証する。

平成20年 12 月 8 日、本公証人役場において

東京都中央区日本橋兜町1番10号

東京法務局所属

公 証 人

Notary

渡部 和  
Masakazu Watanabe

Masakazu Watanabe



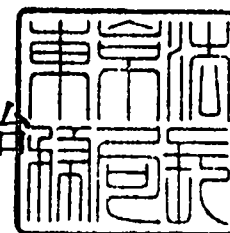
## 証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないものであり、かつ、その押印は、  
真実のものであることを証明する。

平成20年 12 月 8 日

東京法務局長

五十嵐義治



## APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: JAPAN  
This public document
2. has been signed by **Masakazu Watanabe**
3. acting in the capacity of Notary of the Tokyo Legal Affairs Bureau
4. bears the seal/stamp of **Masakazu Watanabe, Notary**

Certified

5. at Tokyo
6. DEC. 8, 2008
7. by the Ministry of Foreign Affairs
8. 08-№026306
9. Seal/stamp:
10. Signature



K. Oyabe

Kazutoyo OYABE  
For the Minister for Foreign Affairs



4393 29

CAVELIER  
ABOGADOS  
EDIFICIO SISKI  
CARRERA 4a N° 72-35  
BOGOTA, 8 - COLOMBIA

374

CESION

Yo, (nosotros) abajo firmado (s)

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

domi liado(s) er \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

g. aro(amos) bajo juramento ser único(s) y verdadero(s) inventor(es) de la invención:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

declaro(amos) así mismo que cedo(emos) y transfiero(rimos), sin limitación, a favor de la sociedad MEIJI SEIKA KAISHA, LTD. and MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION constituida y existente de conformidad con las leyes de J A N domiciliada en 4-16, Kyobashi 2-chome, Chuo-ku, Tokio 104-8002, JAPÓN and 3-14-23, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokio 141-0021 JAPÓN los derechos inherentes a dicha invención y que la citada compañía queda facultada para solicitar en su nombre la patente de invención correspondiente en la República de Colombia.

ASSIGNMENT

I (we), the undersigned

As per attached sheet

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

of As per attached sheet

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

state(s) under oath to be sole and true inventor(s) of the invention:

"NOVEL AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS"

\_\_\_\_\_

state as well, that assign, without reservations or limitations in favour of MEIJI SEIKA KAISHA, LTD. and MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION a corporation constituted and existing in conformity with the laws of JAPAN

domiciled in 4-16, Kyobashi 2-chome, Chuo-ku, Tokyo 104-8002, JAPAN and 3-14-23, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141-0021 JAPAN, all rights inherent to said invention and that the above mentioned company hereby is enabled to apply, in its name, for the corresponding patent of invention, in the Republic of Colombia

Dado y firmado hoy/ Given and signed this \_\_\_\_\_  
November 20, 2008  
en/in Tokyo, Japan

Yoshihiko Kobayashi  
Yoshihiko KOBAYASHI  
Yoshihisa Akiyama  
Yoshihisa AKIYAMA  
Takeshi Murakami  
Takeshi MURAKAMI  
Nobuto Minowa  
Nobuto MINOWA  
Masaki Tsushima  
Masaki TSUSHIMA  
Yukiko Hiraiwa  
Yukiko HIRAIWA

Shoichi Murakami  
Shoichi MURAKAMI  
Mitsuhiro ABE  
Mitsuhiro ABE  
Kazushige Sasaki  
Kazushige SASAKI  
Shigeru Hoshiko  
Shigeru HOSHIKO  
Toshiaki Miyake  
Toshiaki MIYAKE  
Yoshiaki Takahashi  
Yoshiaki TAKAHASHI  
Daishiro Ikeda  
Daishiro IKEDA

<Name and address of Inventors>

1. Yoshihiko KOBAYASHI

2-34-4-401, Nagata-Kita, Minami-Ku, Yokohama-Shi, Kanagawa-Ken, Japan

2. Yoshihisa AKIYAMA

c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan

3. Takeshi MURAKAMI

c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 788, Kayama, Odawara-Shi, Kanagawa-Ken, Japan

4. Nobuto MINOWA

c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan

5. Masaki TSUSHIMA

c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan

6. Yukiko HIRAIWA

c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan

7. Shoichi MURAKAMI

c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan

8. Mitsuhiro ABE

c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan

9. Kazushige SASAKI

6-14-32-203, Shimokodanaka, Nakahara-Ku, Kawasaki-Shi, Kanagawa-Ken, Japan

10. Shigeru HOSHIKO

c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan

11. Toshiaki MIYAKE

2-24-6-401, Minamiyamata, Tsuzuki-Ku, Yokohama-Shi, Kanagawa-Ken, Japan

12. Yoshiaki TAKAHASHI

28-12, Denenchofu-Minami, Ota-Ku, Tokyo-To, Japan

13. Daishiro IKEDA

5-20-8, Yoyogi, Shibuya-Ku, Tokyo-To, Japan

TRADUCCION OFICIAL NO. 1116/2008-.

EL TEXTO QUE SIGUE ES TRADUCCIÓN FIEL Y COMPLETA DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES, Y LLEVA EL SELLO Y LA FIRMA DE HELENA URIBE DE LEMOINE, TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL, SEGÚN RESOLUCIÓN No. 3618 EXPEDIDA POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA EL 6 DE SEPT. DE 1972.

---

### CESION

LOS SUSCRITOS: **VER HOJA ADJUNTA**

DE: **VER HOJA ADJUNTA**

Declaramos bajo juramento ser únicos y verdaderos inventores de la invención

#### **“NUEVOS ANTIBIÓTICOS CON AMINOGLICOSIDA”**

Declaramos así mismo que cedemos y transferimos sin limitación a favor de las sociedades MEIJI SEIKA KAISHA, LTD. Y MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION ,constituidas y existentes de conformidad con las leyes de Japón, domiciliadas en 4-16 Kyobashi, 2-chome, Chuo-ku, Tokio 104-8002 Japon y 3-14-23 Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokio 141-0021Japón, todo los derechos inherentes a dicha invención y que la citada compañía queda facultada para solicitar en su nombre la patente de invención correspondiente en la República de Colombia.

Dado y firmado el 20 de Noviembre de 2008 en Tokio, Japón.

FIRMADO: YOSHINIKO KOBAYASHI

FIRMADO: YOSHINISA AKIYAMA

FIRMADO: TAKESHI MURAKAMI

FIRMADO: NOBUTO MINOWA

FIRMADO: MASAKI TSUSHIMA

FIRMADO: YUKIKO HIRAIWA

FIRMADO: SHOICHI MURAKAMI

FIRMADO: MITSUHIRO ABE

FIRMADO: KAZUSHIGE SASAKI

FIRMADO: SHIGERU HOSHIKO

FIRMADO: TOSHIAKI MIYAKE

FIRMADO: YOSHIAKI TAKAHASHI

FIRMADO: DAISHIRO IKEDA



TRADUCCION OFICIAL NO. 1116/2008-.

Nombre y dirección de los inventores:

1. Yoshihiko KOBAYASHI  
2-31-4-401, Nagata-Kita, Minami-Ku, Yokohama-Shi, Kanagawa-Ken, Japan
2. Yoshihisa AKIYAMA  
c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan
3. Takeshi MURAKAMI  
c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 788, Kayama, Odawara-Shi, Kanagawa-Ken, Japan
4. Nobuo MINOWA  
c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan
5. Masaki TSUSHIMA  
c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan
6. Yukiko HIRAIWA  
c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan
7. Shoichi MURAKAMI  
c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan
8. Mutsuhiro ABE  
c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan
9. Kazushige SASAKI  
6-14-32-203, Shimokodanaka, Nakahara-Ku, Kawasaki-Shi, Kanagawa-Ken, Japan
10. Shigeru HOSHINO  
c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-Cho, Kouhoku-Ku, Yokohama-Shi,  
Kanagawa-Ken, Japan
11. Toshiki MIYAKE  
2-24-6-401, Minamiyamato, Tsuzuki-Ku, Yokohama-Shi, Kanagawa-Ken, Japan
12. Yoshiaki TAKAHASHI  
28-12, Denenchofu-Minami, Ota-Ku, Tokyo-To, Japan
13. Daisiro IKEDA  
5-20-8, Yoyogi, Shibuya-Ku, Tokyo-To, Japan

*[Handwritten signature]*



TRADUCCION OFICIAL NO. 1116/2008-.

**REGISTRO NO. 1818 DEL 2008**

**CERTIFICACIÓN NOTARIAL**

Por medio del presente documento certifico que KAZUHIKO YAZAKI, Apoderado de YOSHINIKO KOBAYASHI, YOSHINISA AKIYAMA, TAKESHI MURAKAMI, NOBUTO MINOWA, MASAKI TSUSHIMA, YUKIKO HIRAIWA, SHOICHI MURAKAMI, MITSUHIRO ABE, KAZUSHIGE SASAKI, SHIGERU HOSHIKO TOSHIKI MIYAKE, YOSHIKI TAKAHASHI y DAISHIRO IKEDA, declaró en mi presencia que los mencionados YOSHINIKO KOBAYASHI, YOSHINISA AKIYAMA, TAKESHI MURAKAMI, NOBUTO MINOWA, MASAKI TSUSHIMA, YUKIKO HIRAIWA, SHOICHI MURAKAMI, MITSUHIRO ABE, KAZUSHIGE SASAKI, SHIGERU HOSHIKO TOSHIKI MIYAKE, YOSHIKI TAKAHASHI y DAISHIRO IKEDA han firmado el documento adjunto y por lo tanto sus firmas son genuinas.

Fechado el 8 de Diciembre de 2008.

FIRMADO: MASAKAZU WATANABE, NOTARIO ADJUNTO A LA OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO

NO.1-10 NIHOMBASHI, KABUTO-CHO,CHUO-KU TOKIO, JAPON.

HAY SELLO DEL NOTARIO.

-----



TRADUCCION OFICIAL NO. 1116/2008-.

## APOSTILLA

CONVENIO DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961

1. PAÍS: JAPON

EL PRESENTE DOCUMENTO PUBLICO

2. HA SIDO FIRMADO POR: **MASAKAZU WATANABE**
3. ACTUANDO EN SU CAPACIDAD DE: NOTARIO DE LA OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO
4. LLEVA EL SELLO DE: **MASAKAZU WATANABE**

COPIA FIRMADA POR EL  
 DOCUMENTO ENSEMPENA  
 LAS FIRMAS INDICADAS

MINISTERIO DE  
 RELACIONES  
 EXTERIORES

1 2 6 4 4

## CERTIFICADO

5. EN: TOKIO
6. EL: 8 DE DICIEMBRE DE 2008
7. POR: EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES
8. BAJO EL NO.: **026306**
9. SELLO: MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES DE JAPON
10. FIRMADO: KAZUTOYO OYABE, POR EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES.

JEFE DE LEGALIZACIONES  
 BOGOTA D.C.

NO ASUME  
 RESPONSABILIDAD  
 DEL TEXTO

2008 DEC 26 A 11:13

LA TRADUCTORA OFICIAL

*Helena Uribe de Lemoine*

HELENA URIBE DE LEMOINE

RECIBO LEGALIZACION  
 014210



(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2007 年 12 月 13 日 (13.12.2007)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2007/142150 A1

- (51) 国際特許分類:  
C07H 15/234 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)  
A61K 31/7036 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2007/061209
- (22) 国際出願日: 2007 年 6 月 1 日 (01.06.2007)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2006-155062 2006 年 6 月 2 日 (02.06.2006) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 明治製菓株式会社 (MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.) [JP/JP]; 〒1048002 東京都中央区京橋二丁目 4 番 1 6 号 Tokyo (JP). 財団法人 微生物化学研究会 (MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION) [JP/JP]; 〒1410021 東京都品川区上大崎三丁目 1 4 番 2 3 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 古林 良彦 (KOBAYASHI, Yoshihiko) [JP/JP]; 〒2320071 神奈川県横浜市南区永田北 2-34-4-401 Kanagawa (JP). 秋山 佳央 (AKIYAMA, Yoshihisa) [JP/JP]; 〒2228567 神奈川県横浜市港北区師岡町 7 6 0 明治製菓株式会社内 Kanagawa (JP). 村上 健 (MURAKAMI, Takeshi) [JP/JP]; 〒2500852 神奈川県小田原市栢山 7 8 8 明治製菓株式会社内 Kanagawa (JP). 箕輪 直人 (MINOWA, Nobuto) [JP/JP]; 〒2228567 神奈川県横

浜市港北区師岡町 7 6 0 明治製菓株式会社内 Kanagawa (JP). 津島 正樹 (TSUSHIMA, Masaki) [JP/JP]; 〒2228567 神奈川県横浜市港北区師岡町 7 6 0 明治製菓株式会社内 Kanagawa (JP). 平岩 由起子 (HIRAIWA, Yukiko) [JP/JP]; 〒2228567 神奈川県横浜市港北区師岡町 7 6 0 明治製菓株式会社内 Kanagawa (JP). 村上 省一 (MURAKAMI, Shoichi) [JP/JP]; 〒2228567 神奈川県横浜市港北区師岡町 7 6 0 明治製菓株式会社内 Kanagawa (JP). 安部 允泰 (ABE, Mitsuhiro) [JP/JP]; 〒2228567 神奈川県横浜市港北区師岡町 7 6 0 明治製菓株式会社内 Kanagawa (JP). 佐々木 和重 (SASAKI, Kazushige) [JP/JP]; 〒2110041 神奈川県川崎市中原区下小田中 6-14-32-203 Kanagawa (JP). 星子 繁 (HOSHIKO, Shigeru) [JP/JP]; 〒2228567 神奈川県横浜市港北区師岡町 7 6 0 明治製菓株式会社内 Kanagawa (JP). 三宅 俊昭 (MIYAKE, Toshiaki) [JP/JP]; 〒2240029 神奈川県横浜市都筑区南山田 2-24-6-401 Kanagawa (JP). 高橋 良昭 (TAKAHASHI, Yoshiaki) [JP/JP]; 〒1450076 東京都大田区田園調布南 28-12 Tokyo (JP). 池田 大四郎 (IKEDA, Daishiro) [JP/JP]; 〒1510053 東京都渋谷区代々木 5-20-8 Tokyo (JP).

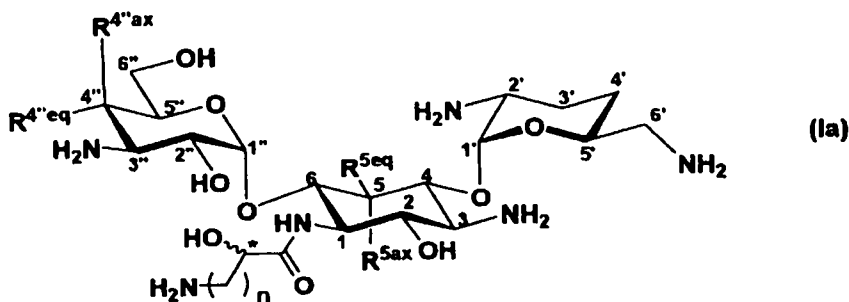
- (74) 代理人: 吉武 賢次, 外 (YOSHITAKE, Kenji et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内三丁目 2 番 3 号 富士ビル 3 2 3 号 協和特許法律事務所 Tokyo (JP).

- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH,

[続葉有]

(54) Title: NOVEL AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTIC

(54) 発明の名称: 新規アミノグリコシド系抗生物質



(57) Abstract: Disclosed are: a novel aminoglycoside antibiotic which has an excellent anti-bacterial activity against an infection-inducing bacterium, particularly MRSA, and also has low renal toxicity; and a process for production of the antibiotic. More specifically, disclosed are: a compound represented by the formula (Ia) or a pharmacologically acceptable salt or solvate thereof, or a diastereomeric mixture of the compound, the salt or the solvate; an antibacterial agent comprising the compound, the salt, the solvate or the diastereomeric mixture; and a process for production of the compound. [Chemical formula 1] (Ia)

(57) 要約: 本発明は、感染症の起因菌、特にMRSAに対する優れた抗菌活性を有し、かつ腎毒性が低い、新規アミノグリコシド系抗生物質およびその製造方法に関する。より詳しくは、本発明は、式 (Ia) で表される化合物もしくはその薬理学的に許容されうる塩、溶媒和物、またはそれらのジアステレオマー混合物、およびそれを含む抗菌剤、ならびにその製造方法に関する。

WO 2007/142150 A1



BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。



## NOVEL AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS

## RELATED APPLICATION

[0001] The present application claims priority to Japanese  
5 Patent Application No. 155062/2006 filed on June 2, 2006, the  
entire disclosure which is incorporated herein by reference.

## BACKGROUND OF THE INVENTION

[0002] Field of the Invention  
10 The present invention relates to novel  
aminoglycoside antibiotics characterized in that they are  
effective against bacteria which induce clinically severe  
infectious diseases, particularly against methicillin-resistant  
15 Staphylococcus aureus (MRSA), and have a low level of  
nephrotoxicity. The present invention also relates to novel  
intermediates useful for the production of the aminoglycoside  
antibiotics.

[0003] Background Art  
In recent years, drug resistant bacteria resistant  
20 to antimicrobial agents used for the treatment of infectious  
diseases have appeared, and the treatment of infectious  
diseases induced by the resistant bacteria has become a major  
problem in clinical practice. In particular, MRSA is known as  
one of major drug resistant bacteria, which rapidly propagate  
25 through hospital infection and induce clinically severe infectious  
diseases, and the development of therapeutic agents for the  
infectious diseases has been energetically made.

[0004] Aminoglycoside antibiotics have a broad  
antimicrobial spectrum from gram-positive bacteria to  
30 gram-negative bacteria and have potent sterilizing power.  
Accordingly, the aminoglycoside antibiotics are expected to  
function as promising medicaments which can overcome various  
resistant bacteria including MRSA, and studies on the  
derivatives have been continuously carried out.

35 [0005] For example, Journal of Antibiotics, Vol. 24, 1971,  
p. 485 discloses that various derivatives of kanamycin, which is

an aminoglycoside antibiotic, could be synthesized and 3',4'-deoxykanamycin B (dibekacin) could be discovered from the kanamycin derivatives. Dibekacin is widely used as a chemotherapeutic agent effective for resistant bacteria since  
5 1975.

[0006] Journal of Antibiotics, Vol. 26, 1973, p. 412 discloses (S)-1-N-(4-amino-2-hydroxybutyryl)dibekacin (arbekacin) obtained by acylating the amino group at 1-position of dibekacin with an aminohydroxybutyric acid. Further,  
10 Japanese Patent Publication No. 10719/1988 discloses a production process of arbekacin.

[0007] Arbekacin has been used as a therapeutic agent for MRSA infectious diseases from the end of 1990. Arbekacin is known to have a broad antimicrobial spectrum from  
15 gram-positive bacteria including MRSA to gram-negative bacteria including Pseudomonas aeruginosa. Ten years or more have passed since arbekacin has become used as a therapeutic agent for MRSA infectious diseases. Despite this fact, there is no report about a severely enhanced resistance. On the other  
20 hand, JAPANESE SOCIETY OF CHEMOTHERAPY, Vol. 50, 2002, p. 494 reports that some clinically isolated MRSA have lowered sensitivity to arbekacin.

[0008] Studies on various arbekacin analogues have been continuously carried out. For example, WO 2005/070945  
25 discloses that a group of compounds, characterized in that the steric configuration of the site corresponding to the 5-position of arbekacin has been inverted and various substituents have been introduced, have antimicrobial activity against MRSA.

[0009] On the other hand, nephrotoxicity is known, from  
30 long ago, as a side effect of aminoglycoside antibiotics. There is also a report about clinical influence of arbekacin (Japanese Patent Laid-Open No. 164696/1980) on the kidney (JAPANESE SOCIETY OF CHEMOTHERAPY, Vol. 51, 2003, p. 717).

[0010] In subject No. F-716 in the 44th Interscience  
35 Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (2004), the present inventors describe, regarding an arbekacin analogue

(compound No. TS2037: 5,4"-diepiarbekacin) described in WO 2005/070945, the results of the evaluation of nephrotoxicity using proximal uriniferous tubule epithelial cells of the kidney of pigs and using  $\beta$ -N-acetyl-D-glucosaminidase (hereinafter referred to as "NAG") as an index. The results show that the nephrotoxicity of the arbekacin analogue is higher than that of arbekacin.

[0011] Studies on various methods for reducing the nephrotoxicity of aminoglycoside antibiotics have hitherto been made. The combined use of an aminoglycoside antibiotic and a compound for reducing the nephrotoxicity is reported as one of such methods. For example, fosfomycin is known to reduce the nephrotoxicity of some aminoglycoside antibiotics. Further, in a test using rats, there is a report that the combined use of fosfomycin and arbekacin reduces the nephrotoxicity (The Japanese Journal of Antibiotics, Vol. 47, 1994, p. 664).

[0012] A method using the so-called TDM (therapeutic drug monitoring), in which a high level of therapeutic effect is realized while suppressing the side effect by making a medicine administration plan based on Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, has recently been studied. For example, there is a report that TDM is also utilized for anti-MRSA treatment with arbekacin (JAPANESE SOCIETY OF CHEMOTHERAPY, Vol. 51, 2003, p. 717).

[0013] When conventional aminoglycoside antibiotics, which are used clinically, are used solely, however, it is still required to reduce the nephrotoxicity while maintaining a broad antimicrobial spectrum and potent antimicrobial activity against bacteria, which induce severe infectious diseases, including MRSA. Accordingly, in aminoglycoside antibiotics, the development of a novel compound having a broad antimicrobial spectrum and potent sterilizing power and, at the same time, having a low level of nephrotoxicity has been desired. Further, for the conventional aminoglycoside antibiotics, the appearance of drug resistant bacteria has become a problem, and compounds, which have excellent antimicrobial activity also

against the drug resistant bacteria, have been still required. Furthermore, when the production of excellent antibiotics is taken into consideration, studies on stable production of the antibiotics are also a critical issue.

5

#### SUMMARY OF THE INVENTION

[0014] The present inventors have now succeeded in producing novel compounds represented by formula (Ia) which has a broad antimicrobial spectrum and excellent antimicrobial activity as well as a low level of nephrotoxicity. The present inventors have further found that the novel compound has a high level of antimicrobial activity against strains found in clinically isolated MRSA, which possess a low level of sensitivity against arbekacin.

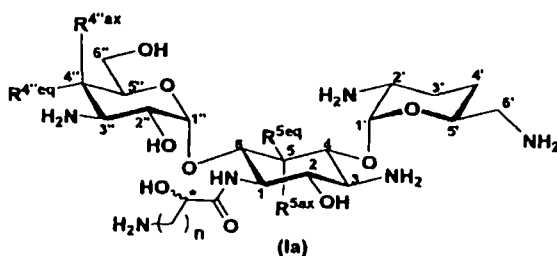
15 The present inventors have further found a production process useful for stable production of the novel compounds, and an intermediate important for the production of the novel compounds.

20 The present invention has been made based on such finding.

[0015] Accordingly, an object of the present invention is to provide novel compounds having a broad antimicrobial spectrum and excellent antimicrobial activity as well as a low level of nephrotoxicity, and synthetic intermediates for the compounds.

[0016] According to the present invention, there is provided a compound represented by formula (Ia) or its diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*, or their pharmacologically acceptable salts or solvates.

30 [Chemical formula 1]



wherein

$R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$ , which may be the same or different, represent a hydrogen atom or hydroxyl,

$R^{4ax}$  and  $R^{4eq}$ , which may be the same or different, represent a hydrogen atom or hydroxyl,

$n$  is an integer of 1 to 4, and

the configuration of carbon atom attached with \* represents R or S.

Further, according to the present invention, there is provided an intermediate useful for the synthesis of the compound represented by formula (Ia).

[0017] The compound represented by formula (Ia) according to the present invention exhibits a broad antimicrobial spectrum and excellent antimicrobial activity and can realize the avoidance of severe nephrotoxicity. Further, the compound represented by formula (Ia) can also exhibit excellent antimicrobial activity against MRSA's having a low level of sensitivity against arbekacin. The fact that the nephrotoxicity of the compound represented by formula (Ia) is lower than that of arbekacin, is advantageous in the application of the compound, for example, to patients suffering from infectious diseases. Accordingly, the compound represented by formula (Ia) according to the present invention can be advantageously utilized in the treatment of infectious diseases including MRSA's. Further, the compound represented by formula (Ia) can be stably supplied through compounds represented by formula (Xa), (Xb), or (XXV) which will be described later, and can be advantageously utilized as a therapeutic agent for infectious diseases.

30

#### DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[0018] The term "alkyl" as used herein as a group or a part of a group means straight chain, branched chain or cyclic alkyl unless otherwise specified. The term "aryl" means phenyl or naphthyl unless otherwise specified. The term "arylalkyl" means alkyl in which one or more hydrogen atoms are

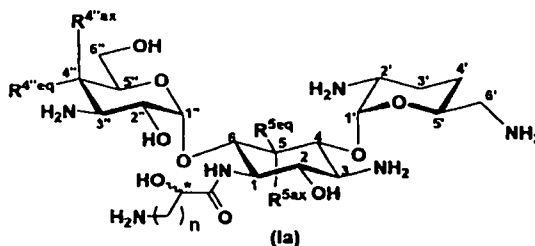
35

substituted by aryl.

Compounds represented by formula (Ia)

It is a feature of the compounds represented by formula (Ia) to have a hydroxyl group at its 2-position.

5 [Chemical formula 2]



The compound having the above structure possesses a low level of nephrotoxicity and, at the same time, possesses a broad antimicrobial spectrum of gram-positive bacteria including MRSA to gram-negative bacteria including *Pseudomonas aeruginosa* and excellent antimicrobial activity.

[0019] In the compounds represented by formula (Ia) in a preferred embodiment of the present invention,  $R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$  are different from each other and represent a hydrogen atom or hydroxyl, and  $R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$  are different from each other and represent a hydrogen atom or hydroxyl.

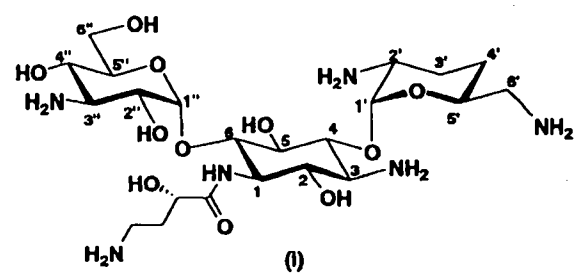
In the compounds represented by formula (Ia),  $n$  is preferably 1 to 3, more preferably 1 to 2.

[0020] Further, in the compounds represented by formula (Ia) in a preferred embodiment of the present invention, the steric configuration of the hydroxyl group at 5-position is equatorial. Accordingly, in the compounds represented by formula (Ia) in the above embodiment,  $R^{5ax}$  represents a hydrogen atom, and  $R^{5eq}$  represents hydroxyl. In the compounds represented by formula (Ia) in a more preferred embodiment of the present invention,  $R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$  are different from each other, and represent a hydrogen atom or hydroxyl.

[0021] In a more preferred embodiment of the present invention, there are provided compounds represented by formula (I) or their pharmacologically acceptable salts or

solvates.

[Chemical formula 3]



[0022] Further, in the compounds represented by formula (Ia) in another embodiment of the present invention, the steric configuration of the hydroxyl group at the 5-position is axial. Accordingly, in the compounds represented by formula (Ia) in the above embodiment,  $R^{5ax}$  represents hydroxyl, and  $R^{5eq}$  represents a hydrogen atom. In the compounds represented by formula (Ia) in a more preferred embodiment of the present invention,  $R^{4'ax}$  and  $R^{4'eq}$  are different from each other, and represent a hydrogen atom or hydroxyl.

[0023] The compounds represented by formula (Ia) may exist as a salt. Examples of such salts include pharmaceutically acceptable nontoxic salts. Specific examples thereof include hydrohalides such as hydrofluorides, hydrochlorides, hydrobromides, and hydroiodides, inorganic acid salts such as sulfates, nitrates, phosphates, perchlorates, and carbonates, salts of carboxylic acids such as acetic acid, trichloroacetic acid, trifluoroacetic acid, hydroxyacetic acid, lactic acid, citric acid, tartaric acid, oxalic acid, benzoic acid, mandelic acid, butyric acid, maleic acid, propionic acid, formic acid, and malic acid, salts of amino acids such as alginic acid, aspartic acid, and glutamic acid, and salts of sulfonic acid such as methanesulfonic acid and p-toluenesulfonic acid. Preferred are inorganic acid salts such as sulfates.

[0024] The compounds represented by formula (Ia) or their pharmacologically acceptable salts may exist as their solvates. Preferred solvates include hydrates or ethanolates.

[0025] As described above, the compounds represented by formula (Ia) may be the form of a diastereomer mixture with

respect to the carbon atom attached with \*, and the present invention includes this embodiment as well.

[0026] Synthetic intermediates

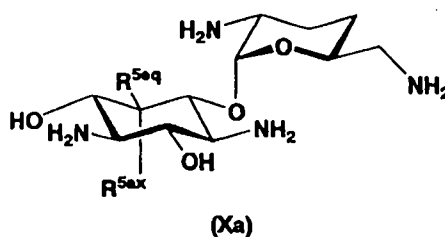
The compounds represented by formula (Ia) may be produced by the following two processes. According to these processes, the compounds represented by formula (Ia) can be advantageously produced through synthetic intermediates which will be described later.

[0027] Synthetic intermediates in first production process

In the first production process according to the present invention, compounds represented by formula (Xa) and formula (Xb) are used as synthetic intermediates.

Accordingly, in one embodiment of the present invention, compounds represented by formula (Xa) are provided.

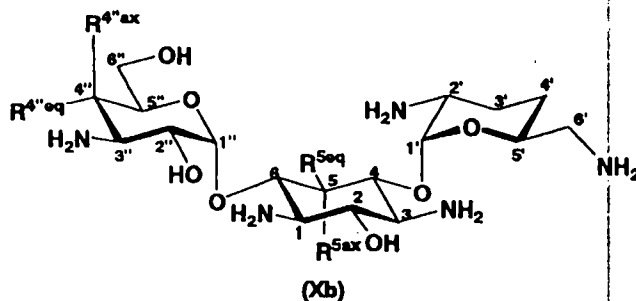
[Chemical formula 4]



wherein R<sup>5ax</sup> and R<sup>5eq</sup> are different from each other and represent a hydrogen atom or hydroxyl.

[0028] In another embodiment of the present invention, there are provided compounds represented by formula (Xb).

[Chemical formula 5]



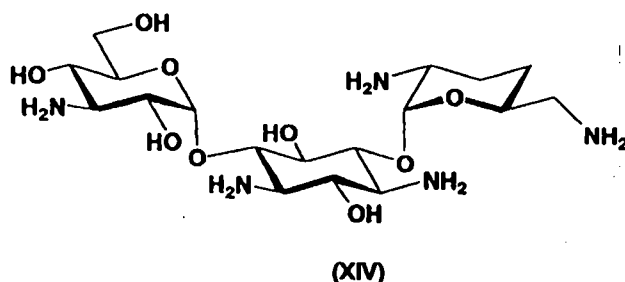
wherein R<sup>5ax</sup> and R<sup>5eq</sup> are different from each other and represent a hydrogen atom or hydroxyl, and



$R^{4'ax}$  and  $R^{4'eq}$  are different from each other and represent a hydrogen atom or hydroxyl.

[0029] In a preferred embodiment of the present invention, the compounds represented by formula (Xb) are  
5 compounds represented by formula (XIV).

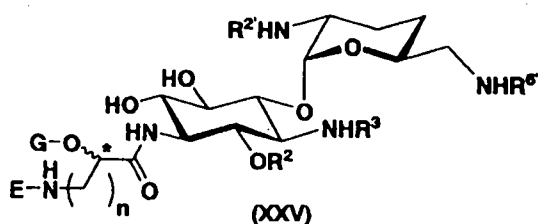
[Chemical formula 6]



[0030] Synthetic intermediates in second production process according to present invention

10 In the second production process according to the present invention, compounds represented by formula (XXV) or their diastereomer mixtures with respect to the carbon atom attached with \* are used as synthetic intermediates. In the compounds represented by formula (XXV) in this production  
15 process, the steric configuration of the hydroxyl group at 5-position is equatorial. Accordingly, the second production process is suitable for the production of compounds which are represented by formula (Ia) and of which the steric configuration of the hydroxyl group at 5-position is equatorial.

20 [Chemical formula 7]



wherein  $R^2$  and G represent a protective group for hydroxyl group;  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  and E represent a protective group for amino group; n is an integer of 1 to 4; and the steric  
25 configuration of carbon atom attached with \* represents R or S.

[0031] In the compounds represented by formula (XXV) in a more preferred embodiment of the present invention,

$R^2$  represents optionally substituted aryl C1-3 alkyl,

5  $R^3$ ,  $R^{2'}$  and  $R^{6'}$ , which may be the same or different, represent

optionally substituted C1-6 alkylsulfonyl,  
optionally substituted arylsulfonyl, or  
optionally substituted C1-6 alkyloxycarbonyl,

10 E represents optionally substituted C1-6 alkyloxycarbonyl, and

G represents a hydrogen atom,  
optionally substituted C1-6 alkylcarbonyl, or  
optionally substituted arylcarbonyl.

15 [0032] In the compounds represented by formula (XXV), aryl C1-3 alkyl group represented by  $R^2$  is preferably aryl C1-2 alkyl, more preferably benzyl.

[0033] One or more hydrogen atoms in the aryl C1-3 alkyl group represented by  $R^2$  are optionally substituted, for example,  
20 by methoxy or nitro. Specific examples of substituted aryl C1-3 alkyl include methoxybenzyl or nitrobenzyl.

[0034] In the compounds represented by formula (XXV), C1-6 alkylsulfonyl group represented by  $R^3$ ,  $R^{2'}$  or  $R^{6'}$  is preferably C1-3 alkylsulfonyl, more preferably methanesulfonyl.

25 [0035] One or more hydrogen atoms in the C1-6 alkylsulfonyl group represented by  $R^3$ ,  $R^{2'}$  or  $R^{6'}$  are optionally substituted, for example, by optionally substituted phenyl (phenyl or tolyl). Examples of substituted C1-6 alkylsulfonyl groups include benzylsulfonyl or toluenesulfonyl.

30 [0036] One or more hydrogen atoms in the arylsulfonyl group represented by  $R^3$ ,  $R^{2'}$  or  $R^{6'}$  are optionally substituted, for example, by methyl. Specific examples of optionally substituted arylsulfonyl groups include benzylsulfonyl or toluenesulfonyl.

35 [0037] In the compounds represented by formula (XXV), preferably, the C1-6 alkyloxycarbonyl group represented by  $R^3$ ,

$R^{2'}$  or  $R^{6'}$  is C1-4 alkyloxycarbonyl, more preferably methoxycarbonyl or tert-butoxycarbonyl.

[0038] One or more hydrogen atoms in the C1-6 alkyloxycarbonyl group represented by  $R^3$ ,  $R^{2'}$  or  $R^{6'}$  are optionally substituted, for example, by optionally substituted phenyl (for example, phenyl, methoxyphenyl, or nitrophenyl). Specific examples of the substituted C1-6 alkyloxycarbonyl groups include benzyloxycarbonyl, tert-butoxycarbonyl, p-methoxybenzyloxycarbonyl or p-nitrobenzyloxycarbonyl.

10 [0039] In the compounds represented by formula (XXV), the C1-6 alkyloxycarbonyl groups represented by E is preferably C1-3 alkyloxycarbonyl, more preferably methoxycarbonyl or ethoxycarbonyl, still more preferably methoxycarbonyl.

[0040] One or more hydrogen atoms in the C1-6 alkyloxycarbonyl group represented by E are optionally substituted, for example, by optionally substituted phenyl (for example, phenyl, methoxyphenyl, or nitrophenyl). Accordingly, specific examples of the C1-6 alkyloxycarbonyl group substituted by optionally substituted phenyl include  
15 benzyloxycarbonyl, p-methoxybenzyloxycarbonyl, and p-nitrobenzyloxycarbonyl.

[0041] In the compounds represented by formula (XXV), the C1-6 alkylcarbonyl group represented by G is preferably C1-3 alkylcarbonyl, more preferably acetyl.

25 [0042] One or more hydrogen atoms in the C1-3 alkylcarbonyl group represented by G are optionally substituted, for example, by a halogen atom such as chlorine, bromine or fluorine, and specific examples of the substituted C1-3 alkylcarbonyl group include trichloroacetyl and trifluoroacetyl.

30 [0043] In the compounds represented by formula (XXV), the arylcarbonyl group represented by G is preferably benzoyl.

[0044] One or more hydrogen atoms in the arylcarbonyl group represented by G are optionally substituted, for example, by phenyl, a halogen atom such as chlorine, bromine or fluorine, nitro or methoxy. Specific examples of the substituted  
35 arylcarbonyl group include p-phenylbenzoyl, p-bromobenzoyl,

p-nitrobenzoyl, and p-methoxybenzoyl.

[0045] In the compounds represented by formula (XXV), the aryl C1-3 alkyl group represented by G is preferably aryl C1-2 alkyl, more preferably benzyl or triphenylmethyl.

5 [0046] Further, one or more hydrogen atoms in the aryl C1-3 alkyl group represented by G are optionally substituted, for example, by methoxy. Specific examples of the substituted C1-3 alkylsulfonyl group include p-methoxybenzyl.

[0047] In the compounds represented by formula (XXV),  
10 n is 1 to 4, preferably 1 to 3, more preferably 1 or 2.

[0048] In the compounds represented by formula (XXV) in a more preferred embodiment of the present invention,

$R^2$  represents aryl C1-3 alkyl optionally substituted by methoxy or nitro,

15  $R^3$ ,  $R^{2'}$  and  $R^{6'}$ , which may be the same or different, represent

C1-6 alkylsulfonyl optionally substituted by optionally substituted phenyl,

20 or arylsulfonyl optionally substituted by methyl,

C1-6 alkyloxycarbonyl optionally substituted by optionally substituted phenyl,

E represents C1-6 alkyloxycarbonyl optionally substituted by optionally substituted phenyl, and

25 G represents a hydrogen atom,

C1-6 alkylcarbonyl,

arylcarbonyl, or

aryl C1-3 alkyl optionally substituted by methoxy.

30 [0049] In the compounds represented by formula (XXV) in a further preferred embodiment of the present invention,

$R^2$  represents aryl C1-2 alkyl optionally substituted by methoxy or nitro,

35  $R^3$ ,  $R^{2'}$  and  $R^{6'}$ , which may be the same or different, represent

C1-3 alkylsulfonyl optionally substituted by

optionally substituted phenyl,  
arylsulfonyl optionally substituted by methyl,  
or

C1-4 alkyloxycarbonyl optionally substituted  
5 by optionally substituted phenyl,

E represents C1-4 alkyloxycarbonyl optionally  
substituted by optionally substituted phenyl, and

G represents a hydrogen atom,  
C1-3 alkylcarbonyl,  
10 arylcarbonyl, or  
aryl C1-2 alkyl optionally substituted by  
methoxy.

[0050] In the compounds represented by formula (XXV) in  
a further preferred embodiment of the present invention,

15  $R^2$  represents optionally substituted aryl C1-3  
alkyl,

all of  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  and E represent optionally  
substituted C1-6 alkyloxycarbonyl, and

G represents optionally substituted aryl C1-3 alkyl.

20 [0051] In the compounds represented by formula (XXV) in  
a further preferred embodiment of the present invention,

$R^2$  represents optionally substituted aryl C1-2  
alkyl,

all of  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  and E represent optionally  
25 substituted C1-4 alkyloxycarbonyl, and

G represents optionally substituted aryl C1-2 alkyl.

[0052] In the compounds represented by formula (XXV) in  
a further preferred embodiment of the present invention,

30  $R^2$  represents aryl C1-2 alkyl optionally substituted  
by methoxy or nitro,

all of  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  and E represent C1-4  
alkyloxycarbonyl optionally substituted by phenyl optionally  
substituted by methoxy or nitro, and

G represents aryl C1-2 alkyl optionally substituted  
35 by methoxy.

[0053] In the compounds represented by formula (XXV) in

another embodiment of the present invention,

$R^2$  represents benzyl, methoxybenzyl or nitrobenzyl,

$R^3$ ,  $R^{2'}$  and  $R^{6'}$ , which may be the same or different,  
5 represent

methanesulfonyl, benzylsulfonyl,

p-toluenesulfonyl,

benzyloxycarbonyl, tert-butoxycarbonyl,

p-methoxybenzyloxycarbonyl, or p-nitrobenzyloxycarbonyl,

10 E represents benzyloxycarbonyl, and

G represents a hydrogen atom,

acetyl,

benzoyl,

benzyl, p-methoxybenzyl, or

15 triphenylmethyl.

[0054] In the compounds represented by formula (XXV) in a more preferred embodiment of the present invention,

$R^2$  represents benzyl, methoxybenzyl or nitrobenzyl,

20 all of  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  and E represent benzyloxycarbonyl, and

G represents benzyl.

[0055] Production process

In the present invention, for example, the  
25 following two production processes may be mentioned as production processes for compounds represented by formula (Ia).

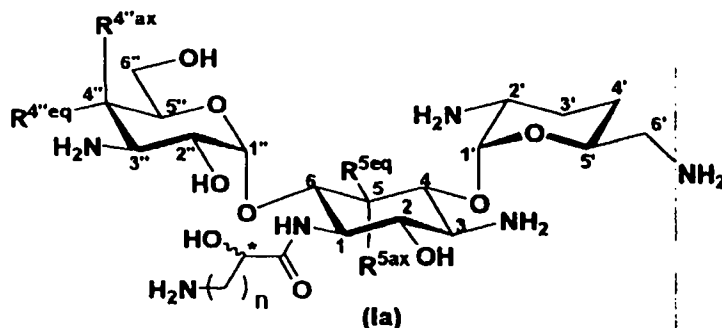
First production process

In the first production process according to the  
30 present invention, compounds represented by formula (Xa) and formula (Xb) are used as synthetic intermediates.

According to one aspect of the present invention, there is provided a process for producing a compound represented by formula (Ia):

35

[Chemical formula 8]



wherein  $R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$ , which may be the same or different, represent a hydrogen atom or hydroxyl,

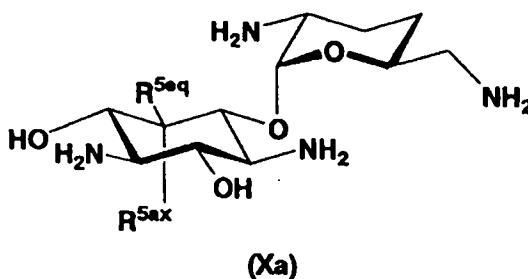
5  $R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$ , which may be the same or different, represent a hydrogen atom or hydroxyl, and

$n$  is an integer of 1 to 4,

the configuration of carbon attached with \* represents R or S,

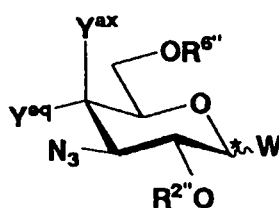
10 the process comprising the steps of introducing protective groups into amino groups in a compound represented by formula (Xa):

[Chemical formula 9]



15 wherein  $R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$  are as defined in formula (Ia), reacting the compound represented by formula (Xa) with a compound represented by formula (Xc):

[Chemical formula 10]

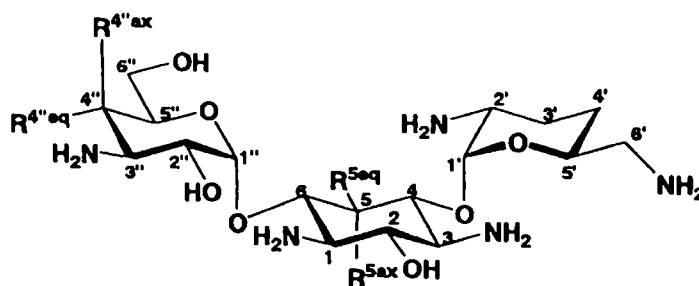


(Xc)

wherein W represents a leaving group;  $Y^{ax}$  and  $Y^{eq}$ , which may be the same or different, represent group  $-OR^{4''}$  or a hydrogen atom;  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  represent a protective group for hydroxyl group, and the configuration of carbon atom attached with \* represents R or S,

removing the protective groups from the resultant compound and converting an azide group in the compound to an amino group to give a compound represented by formula (Xb):

[Chemical formula 11]



(Xb)

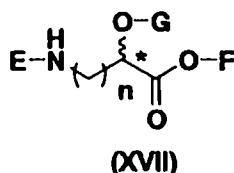
wherein  $R^{5ax}$ ,  $R^{5eq}$ ,  $R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$  are as defined in formula (Ia),

optionally introducing protective groups into functional groups other than the amino group at 1-position of the compound represented by formula (Xb),

reacting the resultant compound with a compound represented by formula (XVII):



[Chemical formula 12]



wherein E represents a protective group for amino group;  
 G represents a protective group for hydroxyl group; F  
 5 represents a hydrogen atom or a carboxylic acid activating  
 group; n is an integer of 1 to 4; and the steric configuration of  
 carbon atom attached with \* represents R or S, and

removing the protective groups of the resultant  
 compound to give the compound represented by formula (Ia).

10 [0056] In the first production process according to the  
 present invention, the compound represented by formula (XVII)  
 may be an enantiomer mixture with respect to the carbon atom  
 attached with \*. Accordingly, according to the first production  
 process of the present invention, a diastereomer mixture with  
 15 respect to the carbon atom attached with \* in the compound  
 represented by formula (Ia) can be produced. The present  
 invention includes this embodiment as well.

[0057] In the first production process of the present  
 invention, preferably, hydroxyl exists at 5- and 4"-positions in  
 20 the compound represented by formula (Ia). Accordingly, in the  
 first production process of the present invention in a preferred  
 embodiment of the present invention,  $R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$ , which are  
 different from each other, represent a hydrogen atom or  
 hydroxyl;  $R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$ , which are different from each other,  
 25 represent a hydrogen atom or hydroxyl.

[0058] According to the first production process of the  
 present invention, in the compound represented by formula (Ia),  
 when hydroxyl exists at 5-position, the steric configuration of  
 the hydroxyl group may be equatorial. Accordingly, in the first  
 30 production process of the present invention in another preferred  
 embodiment of the present invention,  $R^{5ax}$  represents a  
 hydrogen atom, and  $R^{5eq}$  represents hydroxyl.

[0059] According to the first production process of the present invention, in the compound represented by formula (Ia), when hydroxyl exists at 5-position, the steric configuration of the hydroxyl group may be axial. Accordingly, in the first  
5 production process of the present invention in another preferred embodiment of the present invention,  $R^{5ax}$  represents hydroxyl, and  $R^{5eq}$  represents a hydrogen atom.

[0060] In the first production process according to the present invention, preferably, the protective group introduced  
10 into the amino group of the compound represented by formula (Xa) is introduced into 1-, 3-, 2'-, and 6'-position of the compound represented by formula (Xa). Such protective groups include, for example, protective groups represented by  $R^3$ ,  $R^{2'}$ , and  $R^{6'}$  in the compound represented by formula (XXV),  
15 or protective groups represented by  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ , and  $R^{6'}$  in scheme 2 which will be described later. More specifically, protective groups introduced into the amino group at 1-, 3-, 2'-, and 6'-positions of the compound represented by formula (Xa) are preferably protective groups commonly used in synthetic  
20 organic chemistry, for example, optionally substituted alkylsulfonyl, optionally substituted arylsulfonyl, or optionally substituted alkyloxycarbonyl, more preferably optionally substituted C1-6 alkylsulfonyl, optionally substituted arylsulfonyl, or optionally substituted C1-6 alkyloxycarbonyl,  
25 still more preferably C1-6 alkylsulfonyl optionally substituted by optionally substituted phenyl, arylsulfonyl optionally substituted by methyl, or C1-6 alkyloxycarbonyl optionally substituted by optionally substituted phenyl, further preferably C1-3 alkylsulfonyl optionally substituted by optionally substituted  
30 phenyl, arylsulfonyl optionally substituted by methyl, or C1-4 alkyloxycarbonyl optionally substituted by optionally substituted phenyl, still further preferably methanesulfonyl, benzyloxycarbonyl, p-toluenesulfonyl, benzyloxycarbonyl, tert-butoxycarbonyl, p-methoxybenzyloxycarbonyl or p-nitrobenzyloxycarbonyl.  
35 More preferred is p-toluenesulfonyl or benzyloxycarbonyl.

[0061] The protective group introduced into a functional

group other than the amino group at 1-position of the compound represented by formula (Xb) is preferably introduced into the amino group at 2'-, 6'-, and 3"-positions of the compound represented by formula (Xb). The protective group introduced into the 2'- and 6'-positions is the same as the protective group introduced into the 2'- and 6'-positions of the compound represented by formula (Xa). The protective group introduced into the amino group at 3"-position is the same as R<sup>3''</sup> shown in scheme 3 which will be described later. Such protective groups may be the same as those commonly used in synthetic organic chemistry, preferably optionally substituted alkylcarbonyl, more preferably C1-3 alkylcarbonyl optionally substituted by a halogen atom, still more preferably trifluoroacetyl.

[0062] In the compounds represented by formula (Xc), the leaving group represented by W is a halogen atom such as chlorine, bromine or iodine, alkylthio or arylthio, more preferably a halogen atom, C1-3 alkylthio or arylthio, still more preferably bromine or phenylthio.

The protective group for hydroxyl represented by R<sup>2''</sup> is preferably optionally substituted arylalkyl, more preferably aryl C1-2 alkyl optionally substituted, for example, by nitro, still more preferably benzyl, p-methoxybenzyl, or p-nitrobenzyl, further preferably benzyl.

[0063] The protective groups for hydroxyl represented by R<sup>4''</sup> and R<sup>6''</sup> may be the same or different, and examples thereof include ester-type protective groups or ether-type protective groups, preferably alkylcarbonyl, arylalkylcarbonyl, or optionally substituted arylalkyl, more preferably C1-6 alkylcarbonyl, aryl C1-3 alkylcarbonyl, or aryl C1-3 alkyl optionally substituted by methoxy, more preferably acetyl, benzoyl, benzyl, p-methoxybenzyl, or triphenylmethyl.

The protective group for hydroxyl group represented by R<sup>4''</sup> and R<sup>6''</sup> together may form a cyclic protective group. The cyclic protective group is preferably C3-8. Specific examples thereof include cyclic protective

groups such as acetals or ketals, for example, cyclohexylidene acetal, isopropylidene acetal, or benzylidene acetal.

[0064] In the compounds represented by formula (XVII), for example, protective groups presented by formula (XXV) may be mentioned as the protective group for amino group represented by E. More specifically, the protective group for amino represented by E is preferably optionally substituted arylalkyloxycarbonyl, more preferably optionally substituted aryl C1-6 alkyloxycarbonyl, still more preferably aryl C1-6 alkyloxycarbonyl optionally substituted by optionally substituted phenyl, further preferably benzyloxycarbonyl.

The carboxylic acid activation group represented by F is one used for a reaction for forming a peptide bond by activating carboxyl (an active esterification method), preferably a succinimide group, p-nitrophenyl, pentafluorophenyl or 1-hydroxybenzotriazole, more preferably a succinimide group.

[0065] Further, the protective group for hydroxyl group represented by G may be, for example, an ester-type protective group or an ether-type protective group, and examples thereof include protective groups represented by formula (XXV). More specifically, the protective group for hydroxyl group represented by G is preferably optionally substituted alkylcarbonyl, optionally substituted arylalkylcarbonyl, or optionally substituted arylalkyl, more preferably optionally substituted C1-6 alkylcarbonyl, optionally substituted arylalkylcarbonyl, or optionally substituted aryl C1-3 alkyl, still more preferably C1-6 alkylcarbonyl; arylcarbonyl; or aryl C1-3 alkyl optionally substituted, for example, by methoxy, further preferably, for example, acetyl, benzoyl, benzyl, p-methoxybenzyl, or triphenylmethyl.

Reaction conditions for each step in the first production process according to the present invention will be described in more detail in (1), (4), and (5) which will be described later.

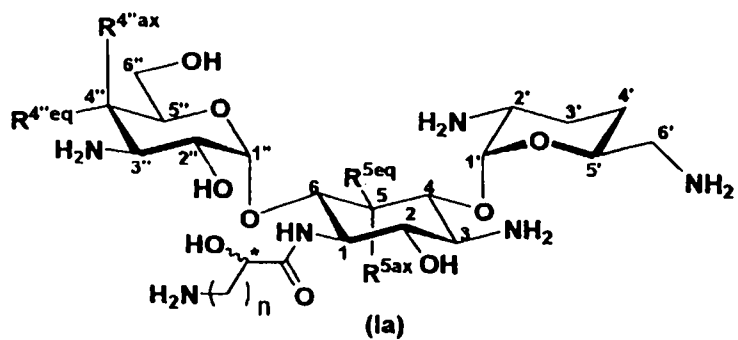
[0066] Second production process

In the second production process according to the

present invention, in addition to the compounds represented by formula (Xa), the compounds represented by formula (XXV) may be used as the synthetic intermediate. This process is suitable for the production of compounds, of which the steric configuration of the hydroxyl group at 5-position is equatorial, among the compounds represented by formula (Ia).

According to another aspect of the present invention, there is provided a process for producing a compound represented by formula (Ia):

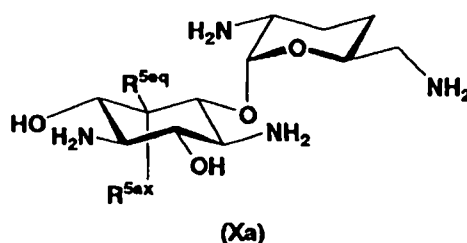
[Chemical formula 13]



wherein

- $R^{5ax}$  represents a hydrogen atom,
- $R^{5eq}$  represents hydroxyl,
- $R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$ , which may be the same or different, represent a hydrogen atom or hydroxyl,
- $n$  is an integer of 1 to 4, and
- the steric configuration of carbon atom attached with \* represents R or S,
- the process comprising the steps of introducing protective groups into amino groups at the 3-, 2'- and 6'-positions and a hydroxyl group at 2-position of a compound represented by formula (Xa):

[Chemical formula 14]

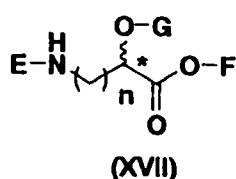


wherein  $R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$  are as defined in formula (Ia),

reacting the resultant compound with a compound

5 represented by formula (XVII):

[Chemical formula 15]



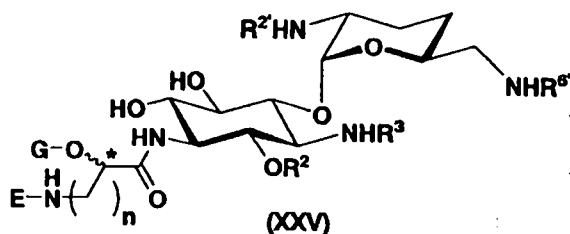
wherein E represents a protective group for amino group;

G represents a protective group for hydroxyl group;

10 F represents a hydrogen atom or a carboxylic acid activating group; n is an integer of 1 to 4; and the steric configuration of carbon atom attached with \* represents R or S,

to give a compound represented by formula (XXV):

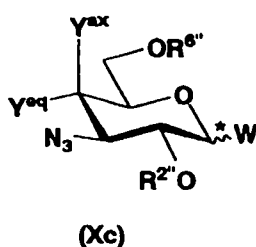
[Chemical formula 16]



wherein  $R^2$  represents a protective group for hydroxyl group;  $R^3$ ,  $R^{2'}$  and  $R^{6'}$  represent a protective group for amino group, and E, G, n and the steric configuration of the carbon atom attached with \* are as defined in formula (XVII),

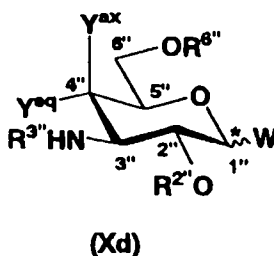
20 reacting the compound represented by formula (XXV) with a compound represented by formula (Xc) or (Xd):

[Chemical formula 17]



wherein W represents a leaving group;  $Y^{ax}$  and  $Y^{eq}$ , which may be the same or different, represent group  $-OR^{4''}$  or a hydrogen atom;  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  represent a protective group for hydroxyl group; and the steric configuration of carbon atom attached with \* represents R or S,

[Chemical formula 18]



wherein W,  $Y^{ax}$ ,  $Y^{eq}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{6''}$ , and the steric configuration of carbon atom attached with \* are as defined in (Xc), and  $R^{3''}$  represents a protective group for amino group, and

removing the protective groups from the resultant compound and, when the compound represented by formula (Xc) is used, converting an azide group in the compound to an amino group, to give a compound represented by formula (Ia).

[0067] In the second production process according to the present invention, the compound represented by formula (XVII) may be an enantiomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*. Accordingly, according to the second production process of the present invention, a diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \* in the compound represented by formula (Ia) can be produced. The present invention includes this embodiment as well.

[0068] In the second production process of the present

invention, preferably, hydroxyl exists at 4"-position in the compound represented by formula (Ia). Accordingly, in the second production process of the present invention in a preferred embodiment of the present invention,  $R^{4'ax}$  and  $R^{4'eq}$ , which are different from each other, represent a hydrogen atom or hydroxyl.

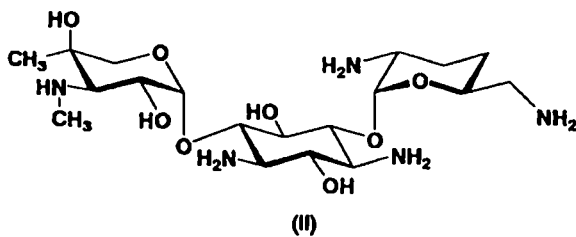
[0069] In the second production process according to the present invention, specific embodiments of protective groups  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$  and  $R^{6'}$  introduced into the amino groups at 3-, 2'- and 6-position and the hydroxyl group at 2-position are as described above. Further,  $W$ ,  $Y^{ax}$ ,  $Y^{eq}$ ,  $R^{2''}$ , and  $R^{6''}$  are the same as those in the first production process.

Reaction conditions for each step in the second production process according to the present invention will be described in detail in (2) and (3) which will be described later.

[0070] Production step of synthetic intermediate (Xa)

The compounds represented by formula (Ia) according to the present invention may be synthesized by using the compound represented by formula (II):  
 20 O-3-deoxy-4-C-methyl-3-(methylamino)- $\beta$ -L-arabinopyranosyl-(1  
 1  
 6)-O-[2,6-diamino-2,3,4,6-tetradeoxy- $\alpha$ -D-erythro-glucopyranosyl-(1  $\rightarrow$  4)]-D-streptamine (hereinafter referred to as "2-hydroxygentamicin C1a") as one of starting materials for the  
 25 production of the compounds. The compound represented by formula (II) can be advantageously used as starting materials for the production of compounds represented by formula (Xa) in the above two production processes.

[Chemical formula 19]



30

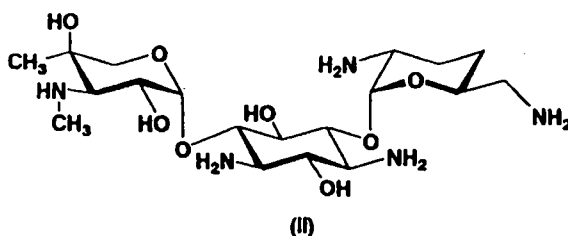
[0071] The compound represented by formula (II)



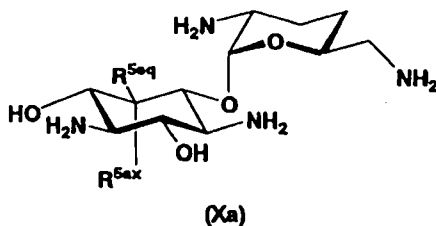
(2-hydroxygentamicin C1a) is a compound obtained by substituting 2-deoxystreptamine, which is a partial constituent element in gentamicin C1a as a gentamicin analogue, by streptamine. This compound may be produced by a conventional method, that is, by adding an analogue of deoxystreptamine to a deoxystreptamine dependent producing strain of an aminoglycoside, culturing the producing strain, and isolating a novel aminoglycoside antibiotic substance which is a substance obtained by substituting a part of the constituent element of the aminoglycoside by the added analogue from the resultant culture. More specifically, the compound represented by formula (II) may be produced by adding streptamine to a deoxystreptamine dependent producing strain of gentamicin C1a and culturing the mixture. Such producing strains include, for example, *Micromonospora purpurea* ATCC 31119. The above production process is described in detail in Japanese Patent Laid-Open No. 108041/1976 the contents of which are incorporated herein by reference. The process for producing the aminoglycoside antibiotic substance derivative and the method for obtaining a producing strain for use in the production process are described, for example, in Shier, W.T., K.L. Rinehart Jr. & D. Gottlieb et al., *Proc. Nat. Acad. Sci.* 63: pp. 198 to 204, (1969) in which neomycin is an object compound, and in Kojima M, Sato A et al., *J. Antibiot* 26 (12): pp. 784-6 (1973) in which ribostamycin and kanamycin are object compounds.

[0072] In the production process according to the present invention, when a compound, which is represented by formula (Ia) and of which the hydroxyl group at 5-position is equatorial, is produced, preferably, the compound represented by formula (II) is hydrolyzed to produce a compound represented by formula (Xa). Conditions for hydrolysis are described in detail in the first to sixth steps of scheme 2 which will be described later.

[Chemical formula 20]



[Chemical formula 21]



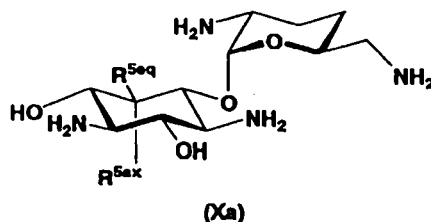
5            wherein R<sup>5ax</sup> represents a hydrogen atom; and R<sup>5eq</sup>  
             represents hydroxyl.

[0073] In the production process according to the present invention, when a compound, which is represented by formula (Ia) and of which the steric configuration of the hydroxyl group at 5-position is axial, is produced, the steric configuration of the hydroxyl group at 5-position of the compound represented by formula (II) is inverted. Thus, in another embodiment of the present invention, the process for producing the compound represented by formula (Ia) comprises introducing a protective groups into the hydroxyl groups other than the hydroxyl groups at 4'- and 5-positions, and the amino groups of the compound represented by formula (II),

inverting the steric configuration of the hydroxyl group at the 5-position of the resultant compound,

20 removing protective groups of the resultant compound and hydrolyzing the compound to give a compound represented by formula (Xa).

[Chemical formula 22]



wherein  $R^{5ax}$  represents hydroxyl; and  $R^{5eq}$  represents a hydrogen atom.

5 [0074] In a preferred embodiment of the present invention, the production process further comprises eliminating the hydroxyl group at the 4"-position before or simultaneously with the inversion of the steric configuration of the hydroxyl group at 5-position. This step is described in detail in step 5-3  
10 to step 5-5 in scheme 10 which will be described later.

The protective groups introduced into the hydroxyl groups other than the hydroxyl group at the 4"- and 5-positions, and the amino groups of the compound represented by formula (II), that is,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ , and  $R^{3''}$  are as defined  
15 above.

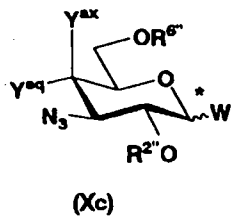
[0075] The production processes according to the present invention will be classified according to the steric configuration of the hydroxyl groups at 5- and 4"-positions and the type of the production process and will be described in more detail.

20 (1) Production of compounds of which 5- and 4"-positions are equatorial: first production process

In the first production process according to the present invention, among the compounds represented by formula (Ia), compounds wherein both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''ax}$  represent a hydrogen atom, both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''eq}$  represent hydroxyl, may  
25 be produced according to the following three schemes, that is, scheme 1 (step 1-1 to step 1-5a and step 1-5b), scheme 2 (step 1-6 to step 1-7) and scheme 3 (step 1-8 to step 1-14).

[0076] In scheme 1, the process for producing compounds represented by formula (Xc) used in the production process according to the present invention will be specifically  
30 described.

[Chemical formula 23]

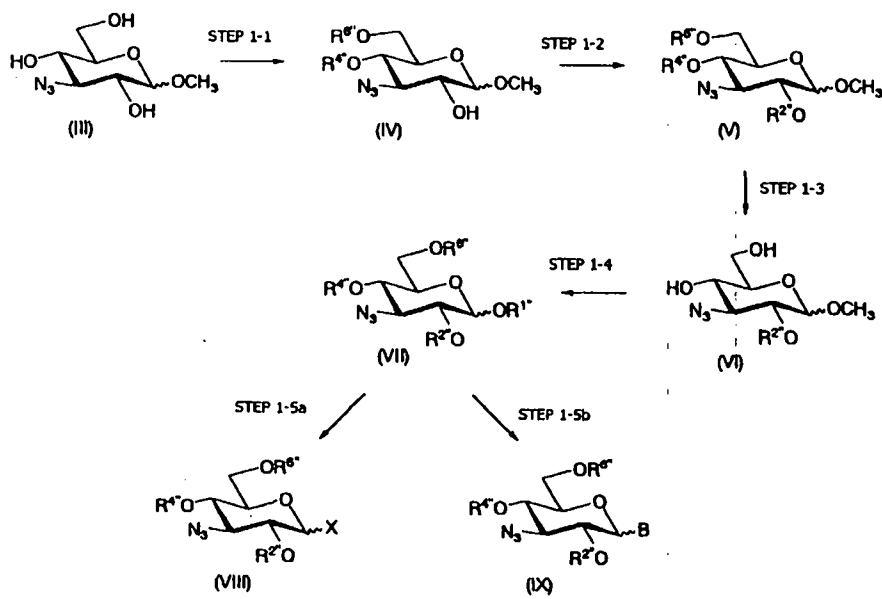


wherein W represents a leaving group; Y<sup>ax</sup> represents a hydrogen atom; Y<sup>eq</sup> represents group -OR<sup>4''</sup>; R<sup>2''</sup>, R<sup>4''</sup> and R<sup>6''</sup> represent a protective group for hydroxyl group; and the steric configuration of carbon atom attached with \* represents R or S.  
[0077] Scheme 1

Scheme 1 describes step 1-1 to sep 1-5a and step 1-5b. In scheme 1, compounds represented by formula (Xc) are classified into compounds represented by formula (VIII) and compounds represented by formula (IX) according to the type of the leaving group represented by W.

[Chemical formula 24]

15



Scheme 1

[0078] wherein B represents a leaving group containing a sulfur atom such as methylthio, ethylthio, or phenylthio, preferably phenylthio; X represents a halogen atom such as chlorine, bromine or iodine, preferably a bromine atom; R<sup>1''</sup> represents a

protective group for hydroxyl group, preferably, for example, an ester-type protective group such as acetyl or benzoyl, more preferably acetyl;  $R^{2''}$  represents a protective group for hydroxyl group, preferably a benzyl-type protective group, which can be removed by a catalytic hydrogen reduction method, such as benzyl, p-methoxybenzyl, or p-nitrobenzyl, more preferably benzyl; and

$R^{4''}$  and  $R^{6''}$ , which may be the same or different, each independently represent a protective group for hydroxyl, for example, an ester-type protective group such as acetyl or benzoyl, or an ether-type protective group such as benzyl, p-methoxybenzyl, or triphenylmethyl, preferably an ester-type protective group such as acetyl or benzoyl, or  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  together represent a cyclic protective group such as acetal or ketal for simultaneously protecting two hydroxyl groups, for example, cyclohexylidene acetal, isopropylideneacetal, or benzylidene acetal.

[0079] Step 1-1

Step 1-1 is a step in which a protective group is introduced into two hydroxyl groups at 4- and 6-positions of the compound represented by formula (III) to give the compound represented by formula (IV). The protective group is an acetal- or ketal-type protective group in which  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  combine to form one protective group, preferably an isopropylidene group. This step is achieved by reacting the compound represented by formula (III) with a ketone typified by acetone or an acetal typified by 2,2-dimethoxypropane in the presence of an acid.

[0080] Solvents usable in this step include, for example, N,N-dimethylformamide, methylene chloride, chloroform, 1,2-dichloroethane, or ethyl acetate. Among them, N,N-dimethylformamide is preferred. Acids usable herein include p-toluenesulfonic acid, pyridinium p-toluene sulfonate, camphor sulfonic acid or hydrochloric acid. Among them, p-toluenesulfonic acid is preferred.

The reaction temperature is in the range of 20°C

to the reflux temperature. The reaction time is, for example, 1 to 24 hr.

In this reaction, for example, when an acetal typified by 2,2-dimethoxypropane is used, a method may also be adopted in which the reaction is carried out while removing the alcohol produced as a by-product by distillation under the reduced pressure from the reaction system to accelerate the reaction.

[0081] Step 1-2

Step 1-2 is a step of producing the compound represented by formula (V) by introducing a protective group ( $R^{2''}$ ) into the hydroxyl group at 2-position of the compound represented by formula (IV). This step is achieved by reacting the compound represented by formula (IV) with  $R^{2''}X$ , wherein  $R^{2''}$  represents, for example, benzyl, p-methoxybenzyl or p-nitrobenzyl, and X represents, for example, chlorine, bromine or iodine, in the presence of a base.

[0082] Solvents usable in this step include pyridine, N,N-dimethylformamide, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, or methylene chloride. Among them, N,N-dimethylformamide is preferred. Bases usable herein include pyridine, lutidine, collidine, triethylamine, diisopropylethylamine, 4-dimethylaminopyridine, sodium hydride, and potassium hydroxide. Among them, sodium hydride is preferred.

The reaction temperature is  $-20^{\circ}\text{C}$  to  $50^{\circ}\text{C}$ . The reaction time is 1 to 24 hr.

[0083] Step 1-3

Step 1-3 is a step of removing the protective group at the 4- and 6-positions of the compound represented by formula (V) to give a compound represented by formula (VI). This step is achieved by reacting the compound represented by formula (V) with an acid.

[0084] Solvents usable in this step include tetrahydrofuran, diethyl ether, 1,4-dioxane, methanol, methylene chloride, chloroform, acetic acid, water, or a mixed solvents composed of them. Among them, a mixed solvent

composed of acetic acid and water is preferred. Acids usable herein include acetic acid, trifluoroacetic acid, hydrochloric acid, sulfuric acid, p-toluenesulfonic acid, or boron trichloride. Among them, acetic acid is preferred.

5                   The reaction temperature is in the range of 0°C to the reflux temperature. The reaction time is 0.1 to 12 hr.

[0085]           Step 1-4

Step 1-4 is a step of introducing a protective group into each of the hydroxyl group at the 4- and 6- positions  
10 of the compound represented by formula (VI) and converting the methoxy group at the 1-position of the compound represented by formula (VI) to an acyloxy group to give a compound represented by formula (VII).

This step can be achieved, for example, by  
15 simultaneously reacting a carboxylic acid represented by  $R^{1''}OH$  such as acetic acid and an acid anhydride represented by  $R^{4''}_2O$  (or  $R^{6''}_2O$ ) such as acetic anhydride with the compound represented by formula (VI) in the presence of an acid catalyst.

[0086]           Solvents usable in the above step include, for  
20 example, methylene chloride, chloroform, 1,2-dichloroethane, acetic acid, acetic anhydride, or a mixed solvent composed of them. Among them, a mixed solvent composed of acetic acid and acetic anhydride is preferred. Acids usable herein include hydrogen chloride or sulfuric acid. Preferred is sulfuric acid.

25                   The reaction temperature is -20°C to 50°C. The reaction time is 1 to 24 hr.

[0087]           Step 1-4 can be carried out in two divided steps. In this case, at the outset, a first step of introducing protective groups into the hydroxyl groups at the 4- and 6-positions is  
30 carried out, and a second step of converting the methoxy group at the 1-position to the acyloxy group is carried out.

[0088]           The first step is carried out by reacting a compound represented by formula (VI) with an acid anhydride such as acetic anhydride or an acid halide such as acetyl  
35 chloride in the presence of a base. Solvents usable herein include, for example, pyridine, N,N-dimethylformamide,

methylene chloride, chloroform, or 1,2-dichloroethane. Among them, pyridine is preferred. Bases usable herein include triethylamine, pyridine, or 4-dimethylaminopyridine. Among them, pyridine is preferred. The reaction temperature is -20°C to 50°C. The reaction time is 1 to 24 hr.

- 5 [0089] In the second step, the compound produced in the first step is reacted with a carboxylic acid represented by  $R^{1''}OH$  such as acetic acid and an acid anhydride represented by  $R^{1''}{}_2O$  such as acetic anhydride in the presence of an acid catalyst.
- 10 Solvents usable in the second step include methylene chloride, chloroform, 1,2-dichloroethane, acetic acid, acetic anhydride, or a mixed solvent composed of them. Among them, a mixed solvent composed of acetic acid and acetic anhydride is preferred. Acids usable herein include hydrogen chloride or
- 15 sulfuric acid. Preferred is sulfuric acid.

The reaction temperature is -20°C to 50°C. The reaction time is 1 to 24 hr.

[0090] Step 1-5a

- 20 Step 1-5a is a step of converting the acyloxy group ( $OR^{1''}$ ) at 1-position of the compound represented by formula (VII) to a halogen atom to give a compound represented by formula (VIII). This step is achieved by reacting the compound represented by formula (VII) with a hydrogen halide represented by  $HX$  or a titanium halide
- 25 represented by  $TiX_4$  wherein  $X$  represents a chlorine atom or a bromine atom.

- [0091] Solvents usable in this step include methylene chloride, chloroform, 1,2-dichloroethane, ethyl acetate, or a mixed solvent composed of them. Among them, a mixed
- 30 solvent composed of methylene chloride and ethyl acetate is preferred.

The reaction temperature is -20°C to 50°C. Further, the reaction time is 1 to 24 hr.

[0092] Step 1-5b

- 35 Step 1-5b is a step of converting the acyloxy group ( $OR^{1''}$ ) at 1-position of the compound represented by



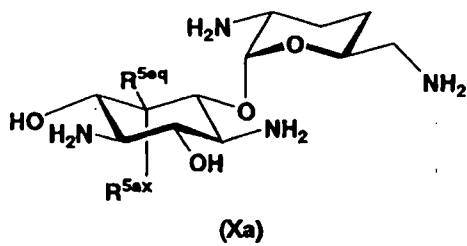
formula (VII) to thioalkyl or thioaryl in the presence of a Lewis acid to give a compound represented by formula (IX). Specifically, this step is achieved by reacting the compound represented by formula (VII) with a thiol represented by BH, wherein B represents, for example, methylthio, ethylthio, or phenylthio, or a trimethylsilylated thiol represented by TMS-B, wherein TMS represents trimethylsilyl, and B is as defined above, in the presence of a Lewis acid.

[0093] Solvents usable in this step include, for example, methylene chloride, chloroform, 1,2-dichloroethane, ethyl acetate, or a mixed solvent composed of them. Among them, methylene chloride is preferred. Lewis acids usable herein include trimethylsilyltriflate or tin chloride. Preferred is trimethylsilyltriflate. The reaction temperature is in the range of 20°C to the reflux temperature. The reaction time is 1 to 48 hr.

[0094] All the substituents at 1-position of the compound shown in scheme 1 can take two steric configurations, that is, an axial form and an equatorial form. In scheme 1, these two steric configurations may be separated from each other before use in the reaction, or alternatively the two steric configurations in a mixed form as such may be used in the reaction. Further, the compound represented by formula (VIII) and the compound represented by formula (IX) produced in scheme 1 may be separated into an axial form and an equatorial form which are then used separately from each other in scheme 3. Alternatively, these compounds may be used as a mixture of the axial form with the equatorial form.

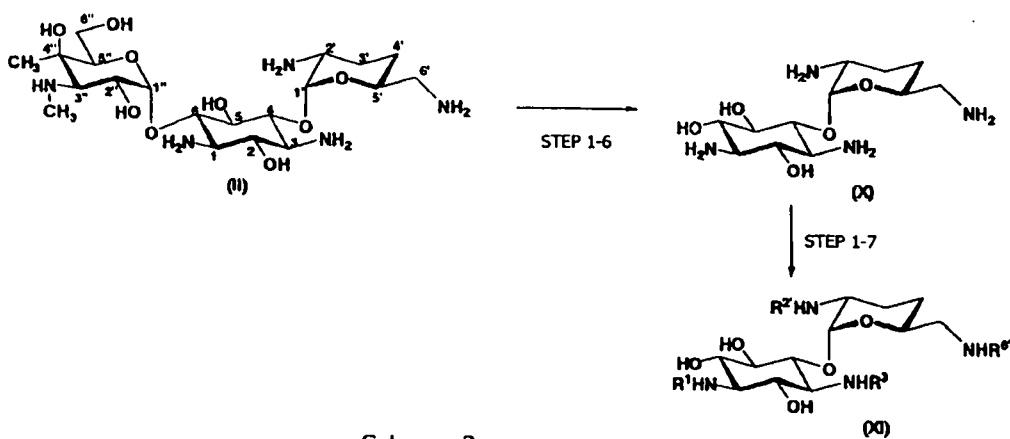
[0095] Next, a process for producing a compound represented by formula (Xa) comprising step 1-6 and step 1-7 will be described in detail according to scheme 2. In scheme 2, the compound represented by formula (Xa) in which the steric configuration of the hydrogen atom at 5-position is equatorial corresponds to the compound represented by formula (X).

[Chemical formula 25]



wherein R<sup>5ax</sup> represents a hydrogen atom; and R<sup>5eq</sup> represents hydroxyl.

5 [0096] [Chemical formula 26]



Scheme 2

wherein

R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>2'</sup> and R<sup>6'</sup> represents a protective group  
10 for amino group, preferably a protective group commonly used  
in organic synthetic chemistry such as methanesulfonyl,  
benzylsulfonyl, p-toluenesulfonyl, benzyloxycarbonyl,  
tert-butoxycarbonyl, p-methoxybenzyloxycarbonyl, or  
p-nitrobenzyloxycarbonyl, more preferably p-toluenesulfonyl or  
15 benzyloxycarbonyl.

[0097] Step 1-6

Step 1-6 is a step for hydrolyzing the compound  
represented by formula (II) (2-hydroxygentamicin C1a) as a  
starting compound to give a compound represented by formula  
20 (X). This step is achieved by heating the compound  
represented by formula (II) in the presence of an acid.

[0098] In the above step, water is preferably used as a

solvent. Acids usable herein include hydrochloric acid, sulfuric acid, nitric acid or hydrobromic acid. Among them, 3 to 5 M hydrochloric acid is preferred.

The reaction temperature is in the range of 20°C to the reflux temperature. The reaction time is 0.5 to 24 hr.

[0099] Step 1-7

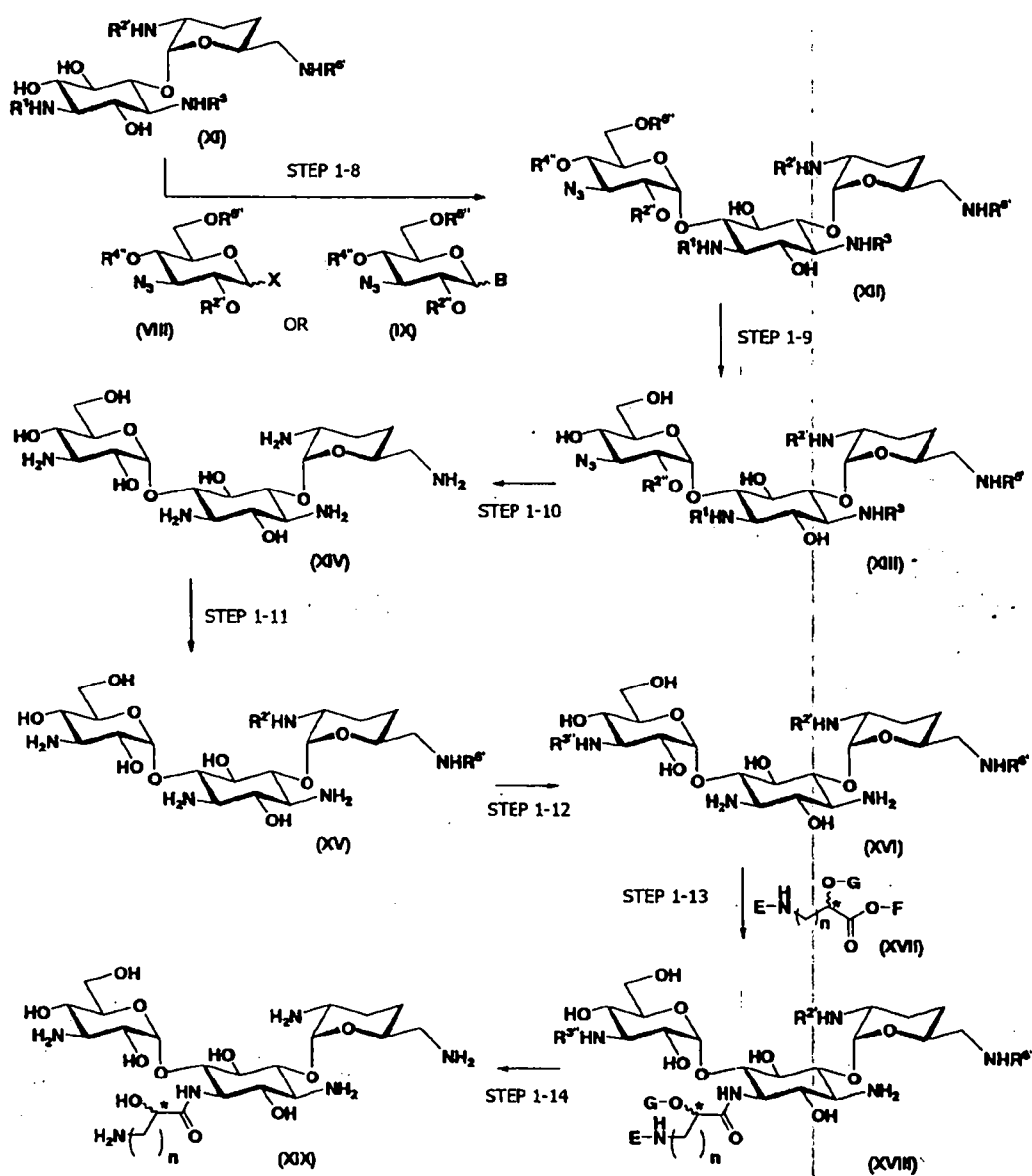
Step 1-7 is a step of introducing protective groups into four amino groups in the compound represented by formula (X) to give a compound represented by formula (XI). This step can be achieved by reacting the compound represented by formula (X) with a chloroformic ester such as benzyl chloroformate, p-methoxybenzyl chloroformate, or p-nitrobenzyl chloroformate, a carbonic diester such as di-tert-butyl dicarbonate, or a sulfonylating agent such as methanesulfonyl chloride, benzylsulfonyl chloride, or p-toluenesulfonyl chloride in the presence of a base.

[0100] Solvents usable in this step include water, N,N-dimethylformamide, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, acetone, or a mixed solvent composed of them. Among them, a mixed solvent composed of water and 1,4-dioxane is preferred. Bases usable herein include sodium hydroxide, potassium carbonate, sodium carbonate, triethylamine, pyridine, or 4-dimethylaminopyridine. Preferred is sodium carbonate.

The reaction temperature is -20°C to 50°C, and the reaction time is 1 to 24 hr.

[0101] The first production process according to the present invention will be described in more detail according to scheme 3 which shows step 1-8 to step 1-14. In scheme 3, the compound represented by formula (Ia) is finally synthesized through a compound represented by formula (XIV) which is a key intermediate of the compound represented by formula (Ia).

[Chemical formula 27]



Scheme 3

[0102] wherein

5 B, X, R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>2'</sup>, R<sup>6'</sup>, R<sup>2''</sup>, R<sup>4''</sup>, R<sup>6''</sup>, n, and the steric configuration of carbon atom attached with \* are as described in schemes 1 and 2,

E represents a protective group for amino, preferably a protective group for amino group commonly used in organic synthetic chemistry, more preferably  
10 benzyloxycarbonyl,

F represents a hydrogen atom or a carboxylic acid activation group used in a reaction which activates carboxyl to

form a peptide bond (an active esterification method), preferably a succinimide group, p-nitrophenyl, pentafluorophenyl, or 1-hydroxybenzotriazole, more preferably succinimide group,

5 G represents a hydrogen atom or a protective group for hydroxyl group, for example, an ester-type protective group such as acetyl or benzoyl, or an ether-type protective group such as benzyl, p-methoxybenzyl, or triphenylmethyl, and

10 R<sup>3''</sup> represents a protective group for amino group, preferably a protective group for amino group commonly used in organic synthetic chemistry, more preferably trifluoroacetyl.

[0103] Step 1-8

15 Step 1-8 is a step of condensing the hydroxyl group at 6-position of the compound represented by formula (XI) with the compound represented by formula (VIII) produced in step 1-5a or the compound represented by formula (IX) produced in step 1-5b to give a compound represented by formula (XII). This step can be achieved by reacting the  
20 compound represented by formula (XI) with the compound represented by formula (VIII) or formula (IX) in the presence of a catalyst and a dehydrating agent.

[0104] Solvents usable in this step include, for example, N,N-dimethylformamide, methylene chloride, chloroform,  
25 1,2-dichloroethane, diethyl ether, or ethyl acetate, preferably 1,2-dichloroethane. Catalysts usable herein include trifluoromethanesulfonic acid, mercuric cyanide, N-iodosuccinimide, trifluoroacetic acid, mercury bromide, or yellow mercury oxide. Preferred is mercuric cyanide.  
30 Dehydrating agents usable herein include, for example, molecular sieves 4A or Drierite, preferably Drierite.

The reaction temperature is -20°C to 60°C. The reaction time is 1 to 24 hr.

[0105] When X in formula (VIII) produced in step 1-5a is  
35 a bromine atom, the step may be carried out by applying a conventional glycosylation reaction using a brominated

succharide donor called a Koenigs-Knorr's glycosylation reaction (Chem. Ber., Vol. 34, p. 957 (1901)). Conditions for this reaction may be properly determined by reference to a review of H. Paulsen et al. (Angew. Chem. Int. Ed. Engl., Vol. 21, pp. 155 - 173 (1982)), a review of R. R. Schmidt (Angew. Chem. Int. Ed. Engl., Vol. 25, pp. 212 - 235 (1986)) and the like.

[0106] On the other hand, when B in formula (IX) produced in step 1-5b is thiophenyl, the step may be carried out by reference to a report of G. H. Veeneman et al. (Tetrahedron Letters, Vol. 31, pp. 1331-1334 (1990)), a report of P. Konradsson et al. (Tetrahedron Letters, Vol. 31, pp. 4313 - 4316 (1990)) and the like.

[0107] Step 1-9

Step 1-9 is a step of removing the protective group ( $R^{4''}$ ) at 4''-position and the protective group ( $R^{6''}$ ) at 6''-position of the compound represented by formula (XII) to give a compound represented by formula (XIII). This step can be achieved by reacting the compound represented by formula (XII) with a base.

[0108] Solvents usable in this step include methanol, ethanol, isopropyl alcohol, tert-butyl alcohol, methylene chloride, chloroform, or a mixed solvent composed of them. Among them, methanol is preferred. Bases usable herein include potassium carbonate, sodium carbonate, potassium hydroxide, sodium hydroxide, sodium methoxide, sodium ethoxide, or tert-BuOK. Preferred is sodium methoxide.

The reaction temperature is  $-20^{\circ}\text{C}$  to  $60^{\circ}\text{C}$ , and the reaction time is 1 to 24 hr.

[0109] Step 1-10

Step 1-10 is a step of producing the compound represented by formula (XIV) as the key intermediate. The compound represented by formula (XIV) constitutes a basic skeleton of the compound represented by formula (Ia). Accordingly, the compound represented by formula (XIV) may be used as an intermediate for the production of the compound represented by formula (Ia) and its derivatives, and the present

invention includes this embodiment.

In step 1-10, all the protective groups in the compound represented by formula (XIII) are removed, and, further, the azido group at 3"-position is converted to amino to give a compound represented by formula (XIV). This step can be achieved by radically reacting the compound represented by formula (XIII) with an alkali metal to remove the protective groups for all the amino groups and a hydroxyl group at 2"-position, and converting the azido group at 3"-position to amino group, that is, by adopting the so-called "Birch reduction conditions."

[0110] Solvents usable in the above step include liquid ammonia, methylamine, ethylamine, hexamethylphosphoamide, diethyl ether, tetrahydrofuran, or a mixed solvent composed of them, preferably liquid ammonia. Alkali metals usable herein include lithium, sodium, or potassium, preferably sodium.

The reaction temperature is -60°C to 20°C, and the reaction time is 0.5 to 24 hr.

[0111] When the protective group for amino group in the compound represented by formula (XIII) is a protective group which can be removed by a catalytic hydrogen reduction reaction, for example, benzyloxycarbonyl, p-methoxybenzyloxycarbonyl, or p-nitrobenzyloxycarbonyl, the above step can also be carried out by reacting the compound represented by formula (XIII) with hydrogen in the presence of a catalytic hydrogen reduction catalyst. Catalytic hydrogen reduction catalysts usable herein include palladium-carbon, palladium black, palladium hydroxide, and platinum oxide. Among them, palladium-carbon is preferred. In the reaction, any solvent may be used without particular limitation so far as the solvent is not involved in the reaction. Preferred are methanol, ethanol, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, a mixed solvent composed of them, or a mixed solvent composed of the above organic solvent and water.

The reaction temperature is 10°C to 30°C. The reaction time is generally 1 to 8 hr.

[0112] When the protective group for amino in the compound represented by formula (XIII) is tert-butoxycarbonyl, a method may also be adopted in which the compound represented by formula (XIII) is reacted with hydrogen in the presence of a catalytic hydrogen reduction catalyst to remove the protective group for hydroxyl group at 2''-position and to convert the azido group at 3''-position to amino group, followed by a reaction of the resultant compound with an acid to remove tert-butoxycarbonyl. In this case, solvents usable for removing the protective group for amino group include ethyl acetate, methylene chloride, acetonitrile, acetone, anisole, water, or a mixed solvent composed of them. Among them, water is preferred. Acids usable herein include p-toluenesulfonic acid, methanesulfonic acid, acetic acid, or trifluoroacetic acid, preferably trifluoroacetic acid.

The reaction temperature is generally 0°C to 30°C. The reaction time is 1 to 12 hr.

[0113] Step 1-11

Step 1-11 is a step of selectively introducing protective group ( $R^{2'}$  and  $R^{6'}$ ) into the amino groups at 2' and 6'-positions of the compound represented by formula (XIV) to give a compound represented by formula (XV). This step can be achieved by the compound represented by formula (XIV) with a chloroformic ester such as benzyl chloroformate, p-methoxybenzyl chloroformate, or p-nitrobenzyl chloroformate, a carbonic diester such as di-tert-butyl dicarbonate, or an N-(benzyloxycarbonyloxy)succinimide in the presence of a metal salt.

[0114] Solvents usable in this step include, for example, N,N-dimethylformamide, dimethylsulfoxide, methanol, ethanol, or isopropyl alcohol, preferably methanol. Transition metal salts usable herein include zinc acetate, nickel acetate, or cobalt acetate, preferably nickel acetate.

The reaction temperature is -20°C to 50°C, and the reaction time is 1 to 24 hr.

[0115] Step 1-12



Step 1-12 is a step of selectively introducing a protective group ( $R^{3''}$ ) into the amino group at 3''-position of the compound represented by formula (XV) to give a compound represented by formula (XVI). This step can be achieved by reacting the compound represented by formula (XV), for example, with a halogenated carboxylic anhydride such as trifluoroacetic anhydride or trichloroacetic anhydride, a halogenated carboxylic ester such as methyl trifluoroacetate or ethyl trifluoroacetate, or an acid halide of a halogenated carboxylic acid.

[0116] In the above step, preferred reactants usable herein include ethyl trifluoroacetate.

Solvents usable in this step include, for example, N,N-dimethylformamide, dimethylsulfoxide, tetrahydrofuran, or 1,4-dioxane, preferably N,N-dimethylformamide.

The reaction temperature is  $-20^{\circ}\text{C}$  to  $50^{\circ}\text{C}$ , and the reaction time is 1 to 24 hr.

[0117] Step 1-13

Step 1-13 is a step of reacting the amino group at 1-position of the compound represented by formula (XVI) with an  $\omega$ -amino- $\alpha$ -hydroxycarboxylic acid derivative represented by formula (XVII) to give a compound represented by formula (XVIII), that is, a step of conducting a peptide bond forming reaction. The compound represented by formula (XVII) is, for example, a 4-amino-2-hydroxybutyric acid derivative which can be prepared by conventional organic synthesis using a proper starting compound. Alternatively, the compound may be synthesized by reference to the process reported by H. Kawaguchi et al. (Journal of Antibiotics, Vol. 25, pp. 695 - 708 (1972)). In this step, when a compound represented by formula (XVII) wherein F represents a hydrogen atom is used, a peptide condensing agent commonly used in organic synthesis is used. Peptide condensing agents include, for example, dicyclohexylcarbodiimide, diisopropylcarbodiimide, N-ethyl-N'-dimethyl aminopropylcarbodiimide and its hydrochloride,

benzotriazol-1-yl-tris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphide, and diphenylphosphorylazide. They may be used solely, or alternatively may be used in combination with N-hydroxysuccinimide, 1-hydroxybenzotriazole or the like.

- 5 When a reaction which activates the carboxyl group to form a peptide bond (an active esterification method) is used, in formula (XVII), F represents a carboxylic acid activation group selected from a succinimide group, p-nitrophenyl, pentafluorophenyl, 1-hydroxybenzotriazole or the like. That is,  
10 a compound called "active ester" is formed. In some cases, this active ester is isolated before use.

[0118] Solvents usable in the above step include N,N-dimethylformamide, dimethylsulfoxide, tetrahydrofuran, or 1,4-dioxane. Among them, tetrahydrofuran is preferred.

- 15 The reaction temperature is -20°C to 50°C, and the reaction time is 1 to 48 hr.

[0119] Step 1-14

- Step 1-14 is a step of removing the protective group in the compound represented by formula (XVIII) to give a  
20 compound represented by formula (Ia) wherein both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''ax}$  represent a hydrogen atom; and both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''eq}$  represent hydroxyl. This step can be achieved by reacting the compound represented by formula (XVIII) with a base to remove the protective group for amino group at 3''-position and  
25 then reacting the resultant compound with hydrogen in the presence of a catalytic hydrogen reduction catalyst to remove the remaining protective group for amino group.

- [0120] Solvents usable in the above step of removing the protective group for amino at the 3''-position include methanol,  
30 ethanol, isopropyl alcohol, tert-butyl alcohol, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, water, or a mixed solvent composed of them. Among them, a mixed solvent composed of tetrahydrofuran and water is preferred. Bases usable herein include aqueous ammonia, potassium carbonate, sodium carbonate, potassium  
35 hydroxide, or sodium hydroxide. Among them, aqueous ammonia is preferred.

The reaction temperature is 0°C to 50°C, and the reaction time is 1 to 48 hr.

- [0121] Catalytic hydrogen reduction catalysts usable in the step of removing the remaining protective group for amino group other than the amino group at 3"-position include palladium-carbon, palladium black, palladium hydroxide, Raney nickel, or platinum oxide. Among them, palladium black is preferred. Any solvent may be used without particular limitation so far as the solvent is inert to the reaction.
- 10 Preferred solvents include methanol, ethanol, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, acetic acid, a mixed solvent composed of them, or a mixed solvent composed of the organic solvent and water. A hydrogen gas may be used as hydrogen added. The pressure of the hydrogen gas may be 1 atm which is the atmospheric pressure.
- 15 If necessary, a pressurized hydrogen gas may also be used. Regarding hydrogen sources different from the hydrogen gas, if necessary, formic acid, a salt of formic acid, cyclohexene or the like may also be used.

- The reaction temperature is 10°C to 30°C, and the reaction time is generally 1 to 8 hr.

- [0122] When the protective group for amino group in the compound represented by formula (XVIII) is, for example, tert-butoxycarbonyl or p-methoxybenzyloxycarbonyl which can be removed under acidic conditions, the remaining protective group for amino group other than the amino group at 3"-position may also be removed by reacting the compound, produced by removing the protective group for amino at 3"-position, with an acid. In this case, solvents usable in the step of removing the protective group for amino group include
- 25 ethyl acetate, methylene chloride, acetonitrile, acetone, anisole, water, or a mixed solvent composed of them. Among them, water is preferred. Acids usable herein include p-toluenesulfonic acid, methanesulfonic acid, acetic acid, or trifluoroacetic acid. Among them, trifluoroacetic acid is
- 30 preferred.
- 35

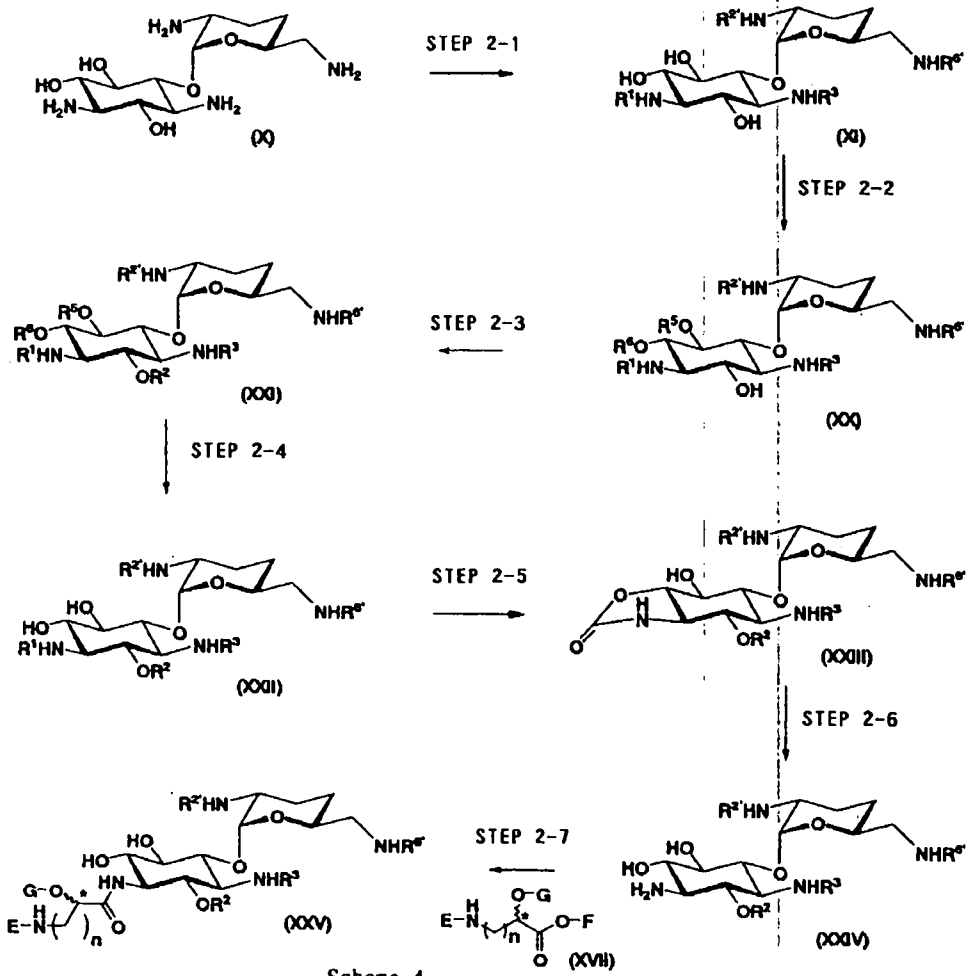
The reaction temperature is generally 0°C to 30°C,

and the reaction time is 1 to 12 hr.

[0123]      (2) Production of compounds of which the 5- and 4''-positions are equatorial: second production process

5      In the second production process according to the present invention, among the compounds represented by formula (Ia), compounds wherein both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''ax}$  represent a hydrogen atom and both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''eq}$  represent hydroxyl, may be produced according to the following scheme 4 (step 2-1 to step 2-7), scheme 5 (step 2-8 to step 2-10). In this case,  
10      the starting compound (X) is the same as the compound synthesized from the compound represented by (2-hydroxygentamicin C1a) represented by formula (II) in scheme 2.

15      [Chemical formula 28]



Scheme 4

wherein

$R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ , E, F, G, n, and the steric configuration of the carbon atom attached with \* are as defined in schemes 1 and 2;  $R^2$  represents a protective group for hydroxyl group commonly used in organic synthesis, preferably a benzyl-type protective group which can be removed by a catalytic hydrogen reduction reaction such as benzyl, p-methoxybenzyl, or p-nitrobenzyl, more preferably benzyl;  $R^5$  and  $R^6$  represent a protective group for hydroxyl group and each independently represent a protective group for hydroxyl group, or  $R^5$  and  $R^6$  together represent a cyclic protective group which simultaneously protects two hydroxyl groups, for example, an acetal or a ketal, preferably cyclohexylidene acetal.

[0124] In scheme 4, step 2-1 to step 2-6 are steps of introducing a protective group into the amino groups at 3, 2' and 6'-positions and the hydroxyl group at 2-position of the compound represented by formula (X).

#### Step 2-1

Step 2-1 is a step of introducing an identical protective group into four amino groups in the compound represented by formula (X) synthesized in scheme 2 to give a compound represented by formula (XI). This step can be achieved by reacting the compound represented by formula (X) with a chloroformic ester such as benzyl chloroformate, p-methoxybenzyl chloroformate, or p-nitrobenzyl chloroformate, a carbonic diester such as di-tert-butyl dicarbonate, or N-(benzyloxycarbonyloxy)succinimide in the presence of a base.

[0125] Solvents usable in this step include, for example, 1,2-dimethoxyethane, N,N-dimethylformamide, dimethylsulfoxide, methanol, ethanol, isopropyl alcohol, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, diethyl ether, methylene chloride, chloroform, and water. They may be mixed together for use as a mixed solvent. A mixed solvent composed of 1,2-dimethoxyethane or 1,4-dioxane and water is preferred.

35 Bases usable herein include organic bases such as triethylamine, diisopropylethylamine, N-methylmorpholine, and pyridine, and

82

inorganic bases such as sodium carbonate, potassium carbonate, and sodium hydrogencarbonate. Among them, triethylamine is preferred.

5 The reaction temperature is  $-20^{\circ}\text{C}$  to  $50^{\circ}\text{C}$ , and the reaction time is 1 to 24 hr.

[0126] Step 2-2

Step 2-2 is a step of introducing protective groups ( $\text{R}^5$  and  $\text{R}^6$ ) into the hydroxyl group adjacent to 5- and 6-positions of the compound represented by formula (XI) to  
10 give a compound represented by formula (XX). The protective group for hydroxyl to be selected may be such that  $\text{R}^5$  and  $\text{R}^6$  each independently serve as a protective group for hydroxyl group. The protective group for hydroxyl group is preferably such that  $\text{R}^5$  and  $\text{R}^6$  together form a cyclic protective group.  
15 Such protective groups include cyclohexylidene acetal, isopropylideneacetal, and benzylidene acetal. In this scheme, cyclohexylidene acetal is preferred.

[0127] Solvents usable in this step include, for example, N,N-dimethylformamide, methylene chloride, chloroform,  
20 1,2-dimethoxyethane, 1,2-dichloroethane, ethyl acetate, or a mixed solvent composed of them. Among them, 1,2-dimethoxyethane is preferred. Acids usable herein include p-toluenesulfonic acid, pyridinium p-toluene sulfonate, camphor sulfonic acid, or hydrochloric acid. Among them, pyridinium  
25 p-toluene sulfonate is preferred.

The reaction temperature is in the range of  $20^{\circ}\text{C}$  to the reflux temperature, and the reaction time is, for example, 1 to 24 hr.

In this reaction, when an acetal such as  
30 2,2-dimethoxypropane or cyclohexanone dimethylacetal is used, the reaction may be carried out while removing the alcohol as a by-product from the reaction system by distillation under the reduced pressure to accelerate the reaction.

[0128] Step 2-3

35 Step 2-3 is a step of introducing a protective group ( $\text{R}^2$ ) into the hydroxyl group at 2-position of the

compound represented by formula (XX) to give a compound represented by formula (XXI). This step can be achieved by reacting the compound represented by formula (XX) with  $R^2-X$ , wherein  $R^2$  represents benzyl, p-methoxybenzyl, or p-nitrobenzyl, and X represents chlorine, bromine, iodine or the like, in the presence of a base.

[0129] Solvents usable in this step include pyridine, N,N-dimethylformamide, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, or methylene chloride. Among them, N,N-dimethylformamide and tetrahydrofuran are preferred. Bases usable herein include pyridine, lutidine, collidine, triethylamine, diisopropylethylamine, 4-dimethylaminopyridine, sodium hydride, or potassium hydroxide. Among them, sodium hydride is preferred.

In this reaction, for example, iodides such as sodium iodide and tetrabutylammonium iodide, silver salts such as silver oxide or silver nitrate, or crown ether may be added from the viewpoint of accelerating the reaction.

The reaction temperature is  $-20^{\circ}\text{C}$  to  $50^{\circ}\text{C}$ , and the reaction time is 1 to 24 hr.

[0130] Step 2-4

Step 2-4 is a step of removing the protective groups for hydroxyl group in  $R^5$  and  $R^6$  introduced in the step 2-3 to give a compound represented by formula (XXII). Reaction conditions used are those commonly used in organic synthesis depending upon the protective groups introduced into  $R^5$  and  $R^6$ .

When the protective group for hydroxyl is such that  $R^5$  and  $R^6$  in formula (XXI) together form a cyclic protective group, this step can be achieved by reacting the compound represented by formula (XXI) with an acid.

[0131] Solvents usable in this step include tetrahydrofuran, diethyl ether, 1,4-dioxane, methanol, methylene chloride, chloroform, acetic acid, water, or a mixed solvent composed of them. Among them, a mixed solvent composed of chloroform and methanol or a mixed solvent composed of acetic acid and water is preferred. Acids usable

herein include acetic acid, trifluoroacetic acid, hydrochloric acid, sulfuric acid, p-toluenesulfonic acid, or boron trichloride. Among them, trifluoroacetic acid or acetic acid is preferred.

The reaction temperature is in the range of 0°C to the reflux temperature. The reaction time is 0.1 to 12 hr.

[0132] Step 2-5

Step 2-5 is a step of removing the protective group ( $R^1$ ) for amino group at 1-position of the compound represented by formula (XXI) and, at the same time, forming a cyclic carbamate between the amino group and an adjacent hydroxyl group at 6-position to give a compound represented by formula (XXIII).

This step is achieved by treating the compound represented by formula (XXI) with a base. Bases usable herein include sodium hydride and potassium hydroxide. Among them, sodium hydride is preferred. Solvents usable herein include N,N-dimethylformamide, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, or methylene chloride. Among them, N,N-dimethylformamide is preferred.

20 [0133] Step 2-6

Step 2-6 is a step of cleaving the cyclic carbamate formed between 1- and 6-position of the compound represented by formula (XXIII) to give a compound represented by formula (XXIV). This step can be achieved by treating the compound represented by formula (XXIII) with a base.

Bases usable herein include inorganic bases such as sodium carbonate and potassium carbonate, and metal alkoxides such as sodium methoxide and sodium ethoxide.

Solvents usable herein include N,N-dimethylformamide, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, methylene chloride, water, and a mixed solvent composed of them. Among them, a mixed solvent composed of 1,4-dioxane and water is preferred.

The reaction temperature is in the range of 0°C to the reflux temperature, and the reaction time is 0.1 to 12 hr.

35 [0134] Step 2-7

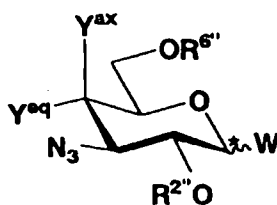


Step 2-7 is a step of condensing the amino group at 1-position of the compound represented by formula (XXIV) produced in step 2-6 with the compound represented by formula (XVII) to give a compound represented by formula (XXV).

This step can be achieved under the same reaction conditions as the reaction conditions described in step 1-13 or reaction conditions similar to the reaction conditions described in step 1-13 in scheme 3.

[0135] Scheme 5 shows the step of reacting the compound represented by formula (XXV) with the compound represented by formula (Xc) (step 2-8),

[Chemical formula 29]

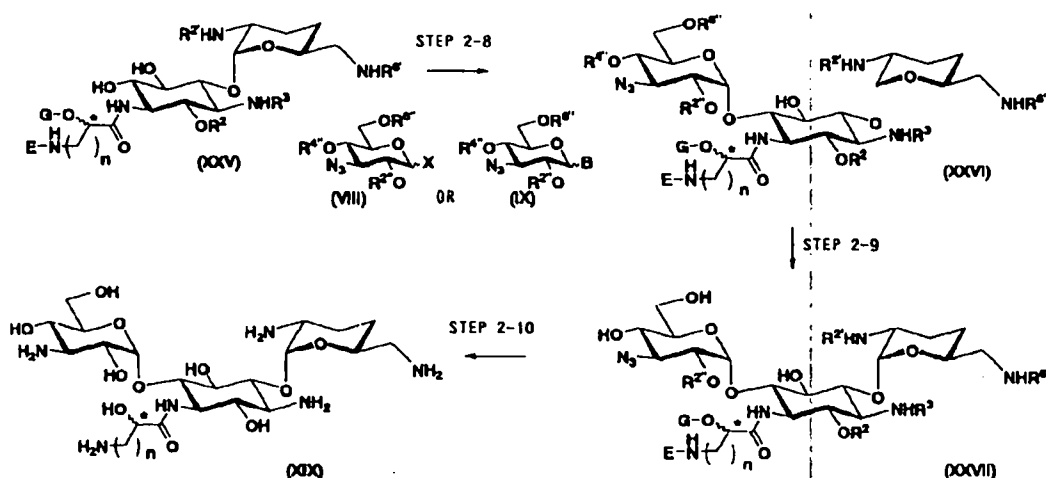


(Xc)

wherein W,  $Y^{ax}$ ,  $Y^{eq}$ ,  $R^{6''}$ ,  $R^{2''}$ , and the steric configuration of carbon atom attached with \* are as defined above, and

[0136] The step of removing the protective group from the resultant compound (step 2-9 and step 2-10) and the step of reducing the azido group of the compound to give a compound represented by formula (Ia) (step 2-10) are explained below.

## [Chemical formula 30]



Scheme 5

wherein

$R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^2'$ ,  $R^6'$ ,  $R^2''$ ,  $R^4''$ ,  $R^6''$ ,  $B$ ,  $X$ ,  $E$ ,  $G$ ,  $n$ , and the steric configuration of carbon atom attached with \* are as defined above.

[0137] Step 2-8

Step 2-8 is a step of condensing the compound represented by formula (XXV) produced in scheme 4 with the compound represented by formula (Xc) (the compound represented by formula (VIII) or the compound represented by formula (IX)) to give a compound represented by formula (XXVI).

This step can be achieved under the same reaction conditions as the reaction conditions described in step 1-8 or reaction conditions similar to the reaction conditions described in step 1-8 in scheme 3.

[0138] Step 2-9

Step 2-9 is a step of removing two protective groups ( $R^{4''}$  and  $R^{6''}$ ) for hydroxyl group in the compound represented by formula (XXVI) to give a compound represented by formula (XXVII).

This step can be achieved by hydrolysis under basic conditions or under acidic conditions, or by treating the compound with a nucleophilic base, for example, sodium methoxide or sodium ethoxide under anhydrous conditions.

In the case of hydrolysis, in addition to water, alcohol solvents such as methanol or ethanol, and solvents miscible with water, for example, with tetrahydrofuran or 1,4-dioxane may be used as the reaction solvent. Further, solvents immiscible with water, for example, ethyl acetate and methylene chloride, may be used by adopting a two layer-type reaction with water. Solvents commonly used in organic synthesis may be used as the solvent under anhydrous conditions.

10 [0139] Step 2-10

Step 2-10 is a step of reducing the azido group in the compound represented by formula (XXVII) produced in step 2-9 to amino group and further removing three protective groups ( $R^3$ ,  $R^{2'}$ , and  $R^{6'}$ ) for amino group and the protective group ( $R^2$ ) for hydroxyl group at 2-position to give a compound represented by formula (XIX) which is a compound represented by formula (Ia) wherein both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''ax}$  represent a hydrogen atom and both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''eq}$  represent hydroxyl.

[0140] In this reaction, the reduction reaction of the azido group and the deprotection may be carried out separately from each other through a plurality of stages. Alternatively, when both the reactions can be carried out under the same reaction conditions, this step may be carried out by a single reaction.

A reaction with hydrogen in the presence of a catalytic hydrogen reduction catalyst may be mentioned as the reaction through which the azido group is reduced and converted to amino group. Catalytic hydrogen reduction catalysts usable herein include palladium-carbon, palladium black, palladium hydroxide, Raney nickel, or platinum oxide. Among them, palladium black is preferred. Any solvent may be used without particular limitation so far as the solvent is inert to this reaction. Preferred solvents include methanol, ethanol, tetrahydrofuran, dioxane, acetic acid, a mixed solvent composed of them, or a mixed solvent composed of the organic solvent and water. A hydrogen gas may be used as hydrogen to be added. The pressure of the hydrogen gas may be 1 atm

which is the atmospheric pressure. If necessary, pressurized hydrogen gas may also be used. Hydrogen sources different from the hydrogen gas, for example, formic acid, salts of formic acid, and cyclohexene may also be used according to need.

- 5                   Methods for reducing the azido group for conversion to amino group include the method of Staudinger et al. in which the azido compound is reacted with phosphine or phosphite to give iminophosphorane which is then hydrolyzed for conversion to amino (Helvetica Chemica Acta, Vol. 2, p. 635  
10 (1919)). Phosphine reagents usable in this method include triphenylphosphine and trimethylphosphine. For example, trimethyl phosphite may be mentioned as the phosphite reagent. Solvents usable in the reaction include tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, diethyl ether, acetonitrile, methylene chloride,  
15 water, and a mixed solvent composed of them. Iminophosphorane produced as an intermediate may be isolated before hydrolysis. The production of iminophosphorane and hydrolysis can be carried out in one step by adding water to a reaction solvent.
- 20 [0141]           The method for removing the three protective groups ( $R^3$ ,  $R^{2'}$ , and  $R^{6'}$ ) for amino group and the protective group ( $R^2$ ) for hydroxyl group at 2-position may be selected by taking into consideration deprotection conditions commonly used in organic synthesis depending upon the type of the  
25 protective group. The method may be carried out stepwise or in one step.

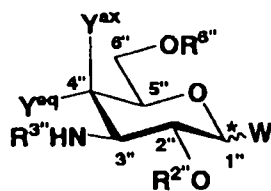
When a protective group, which can remove by a catalytic hydrogenation reaction, is selected for both the three protective groups ( $R^3$ ,  $R^{2'}$ , and  $R^{6'}$ ) for amino group and the  
30 protective group ( $R^2$ ) for hydroxyl group at 2-position and, in this case, when all of  $R^3$ ,  $R^{2'}$ , and  $R^{6'}$  represents benzyloxycarbonyl while  $R^2$  represents benzyl, a reduction reaction for converting the azido group to amino group can also be advantageously simultaneously achieved by a one-step  
35 catalytic hydrogenation reaction.

[0142]           (3) Production of compounds of which the 5- and

4"-positions are equatorial: second production process

In the second production process according to the present invention, the compound represented by formula (Ia) may also be produced by using the compound represented by formula (Xd) instead of the compound represented by formula (Xc).

[Chemical formula 31]



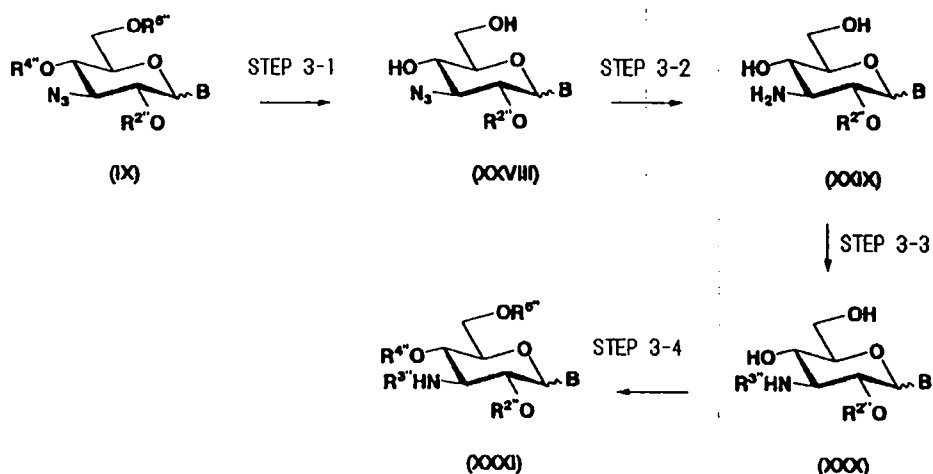
(Xd)

10            wherein W,  $Y^{ax}$ ,  $Y^{eq}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{3''}$ ,  $R^{6''}$ , and the steric configuration of carbon atom attached with \* are as defined above.

15            The second production process will be described with reference to scheme 6 (step 3-1 to step 3-4) and scheme 7 (step 3-5 to step 3-7).

[0143]            In the following scheme 6, compounds represented by formula (Xd), wherein  $Y^{ax}$  represents a hydrogen atom,  $Y^{eq}$  represents hydroxyl, and W represents a leaving group (B), are described as compounds represented by formula (XXXI), and  
20            the production process thereof will be described.

[Chemical formula 32]



Scheme 6

wherein

 $R^{2''}$ ,  $R^{3''}$ ,  $R^{4''}$ ,  $R^{6''}$ , and B are as defined above; and5  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  preferably represent an ester-type protective group.[0144] Step 3-1

Step 3-1 is a step of removing the two protective groups ( $R^{4''}$  and  $R^{6''}$ ) for hydroxyl group in the compound represented by formula (IX) to give a compound represented by formula (XXVIII).

10 When  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  represent an ester-type protective group, a hydrolysis reaction or a solvolysis reaction can be applied. More preferred is a solvolysis reaction.

More specifically, the solvolysis reaction may be carried out using sodium methoxide, sodium ethoxide or the like.

15 Any solvent may be used without limitation so far as the solvent is inert to the reaction. Preferred are alcohol solvents such as methanol and ethanol.

The reaction temperature is in the range of  $-20^{\circ}\text{C}$  to the reflux temperature, and the reaction time is 0.1 to 12 hr.

[0145] Step 3-2

Step 3-2 is a step of reducing the azido group in the compound represented by formula (XXVIII) to amino group to give a compound represented by formula (XXIX).

25 In step 2-10 in scheme 5, the step of reducing the azido group to amino group is described in detail. The same

conditions can be applied to step 3-2. In scheme 6, preferably, the method of Staudinger et al. (Helvetica Chemica Acta, Vol. 2, p. 635 (1919)) is used. The compound represented by formula (XXIX) produced in this step may be isolated for use in step 3-3.

- 5 Alternatively, the compound as such may be subsequently used as a starting compound for step 3-3 without isolation.

[0146] Step 3-3

Step 3-3 is a step of protecting an amino group of the compound represented by formula (XXIX) to give the  
10 compound represented by formula (XXX).

Protective groups for amino group commonly used in organic synthesis may be used as the protective group. Preferably, the protective group can be one which can be removed by a catalytic hydrogenation reaction. Specifically,  
15 benzyl-type protective groups such as benzyloxycarbonyl may be mentioned as the protective group. The protective group may be introduced, for example, by a method described in connection with step 1-7 in scheme 2, a method using a chloroformic ester described in connection with step 2-1 in  
20 scheme 4, or a method using a benzyloxycarbonylation reagent such as an N-(benzyloxycarbonyloxy)succinimide group.

[0147] Step 3-4

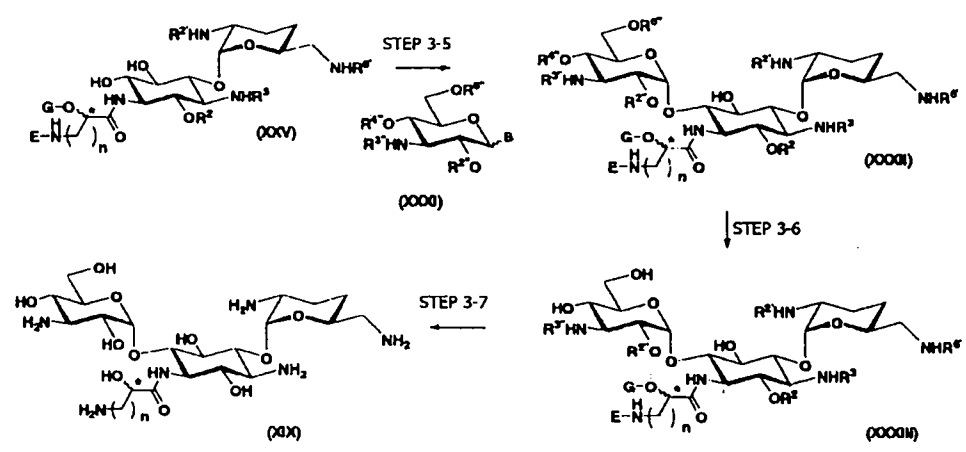
Step 3-4 is a step of simultaneously protecting the hydroxyl group at 4-position and the hydroxyl group at  
25 6-position in the compound represented by formula (XXX) to give a compound represented by formula (XXXI).  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  in scheme 6 preferably represent an ester-type protective group, particularly preferably acetyl.

The ester-type protective group can be introduced  
30 by a method commonly used in organic synthesis using the acid anhydride or the acid halide in the presence or absence of a base. Any solvent may be used without particular limitation so far as the solvent is inert to the reaction. Preferred is a solvent which can serves both as a solvent and a base such as  
35 pyridine.

The reaction temperature is in the range of  $-20^{\circ}\text{C}$

to the reflux temperature, and the reaction time is 0.1 to 72 hr. [0148] Next, scheme 7 shows the step of reacting the compound represented by formula (XXV) with the compound represented by formula (XXXI) (step 3-5) and the step of removing the protective group of the resultant compound to give a compound represented by formula (XIX) (step 3-6 and 3-7).

[Chemical formula 33]



Scheme 7

10

wherein R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>2'</sup>, R<sup>6'</sup>, R<sup>2''</sup>, R<sup>3''</sup>, R<sup>4''</sup>, R<sup>6''</sup>, B, E, G, n, and the steric configuration of carbon atom attached with \* are as defined above.

[0149] Step 3-5

15

Step 3-5 is a step of condensing the compound represented by formula (XXV) produced in scheme 4 with the compound represented by formula (XXXI) in scheme 6 to give a compound represented by formula (XXXII).

Specifically the condensation can be carried out in the same manner as in step 2-8 in scheme 5.

[0150] Step 3-6

20

Step 3-6 is a step of removing the two protective groups (R<sup>4''</sup> and R<sup>6''</sup>) for hydroxyl group in the compound represented by formula (XXXII) produced in step 3-5 to convert the compound represented by formula (XXXII) to compound (XIX).

Specifically, this step can be carried out in the same manner as in step 2-9 in scheme 5.

25



[0151] Step 3-7

Step 3-7 is a step of removing all the protective groups ( $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{3''}$ , E, and G) in the compound represented by formula (XXXIII) produced in step 3-6 to give a compound represented by formula (XIX) which is a compound represented by formula (Ia) in which both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''ax}$  represent a hydrogen atom and both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''eq}$  represent hydroxyl.

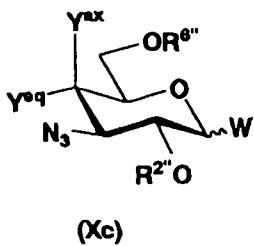
All the protective groups ( $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{3''}$ , E, and G) in the compound represented by formula (XXXIII) can be removed stepwise or in one step (if possible) under deprotection conditions in conventional organic synthesis. For example, when all the protective groups in the compound represented by formula (XXXIII) can be removed by a catalytic hydrogenation reaction, the protective groups can be removed in one step by applying the same catalytic hydrogenation reaction conditions as in step 1-14 in scheme 3 or conditions similar to the catalytic hydrogenation reaction conditions in step 1-14 in scheme 3.

[0152] (4) Production of compounds of which the 5-position is equatorial and the 4''-position is axial: second production process

Further, according to the second production process of the present invention, compounds represented by formula (Ia), wherein both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''eq}$  represent a hydrogen atom and both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''ax}$  represent hydroxyl, can be produced according to scheme 8 (step 4-1 to step 4-5a and step 4-5b) and scheme 9.

[0153] The process for producing compounds represented by formula (Xc) will be described in detail with reference to scheme 8.

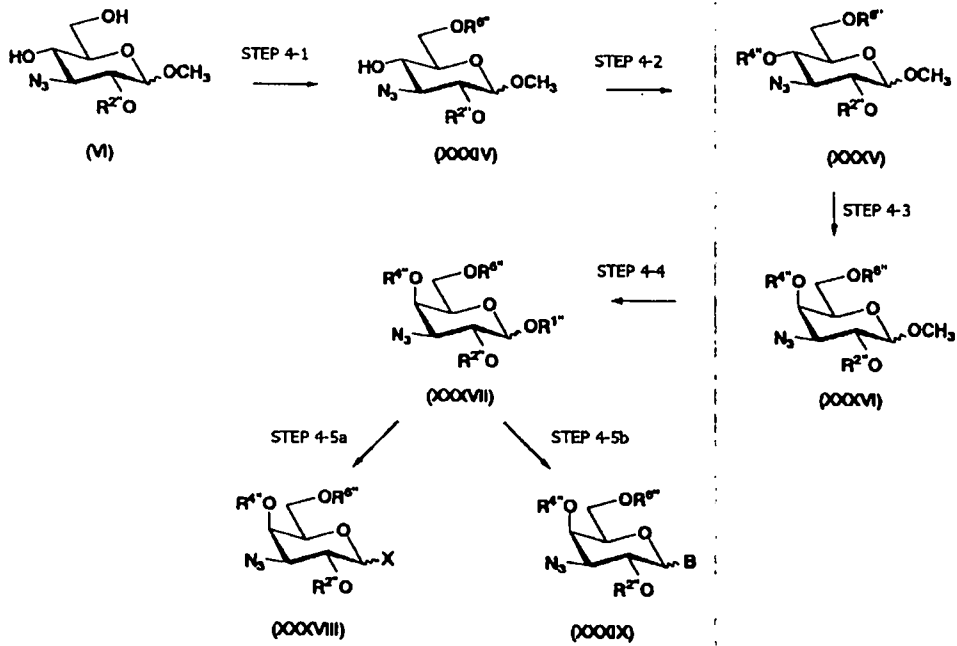
[Chemical formula 34]



5 wherein W represents a leaving group; Y<sup>ax</sup> represents group -OR<sup>4''</sup>; Y<sup>eq</sup> represents a hydrogen atom; R<sup>2''</sup>, R<sup>4''</sup> and R<sup>6''</sup> represent a protective group for hydroxyl group; and the steric configuration of carbon atom attached with \* represents R or S.

10 In scheme 8, the compounds represented by formula (Xc) are classified according to the type of the leaving group represented by W into compounds represented by formula (XXXVIII) and compounds represented by formula (XXXIX).

[0154] [Chemical formula 35]



15

wherein  
R<sup>2''</sup> represents a protective group for hydroxyl

QS

group, preferably a group selected from benzyl ether-type protective groups such as benzyl and p-methoxybenzyl;  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$ , which are different from each other, represent a protective group for hydroxyl group, for example, are selected from ester-type protective groups such as acetyl and benzoyl, and sulfonyl-type protective groups such as p-toluenesulfonyl, methanesulfonyl, and trifluoromethanesulfonyl; and B and X are as defined above.

[0155] Step 4-1

10 Step 4-1 is a step of selectively introducing a protective group ( $R^{6''}$ ) into only the hydroxyl group located at 6-position in the two hydroxyl groups in the compound represented by formula (VI) in scheme 1 to give the compound represented by formula (XXXIV).

15 The protective group introduced is preferably a structurally bulky protective group among protective groups used as a protective group for hydroxyl group in organic synthesis, specifically preferably benzoyl or substituted benzoyl.

20 The reaction may be carried out in the same manner as in step 3-4 in scheme 6.

[0156] Step 4-2

25 Step 4-2 is a step of introducing a leaving group into the hydroxyl group at 4-position of the compound represented by formula (XXXIV) to give a compound represented by formula (XXXV) which is a starting compound in step 4-3 for synthesizing a compound represented by formula (XXXVI) in which the hydroxyl group at 4-position has been inverted.

30 A leaving group having a higher leaving ability than the protective group introduced in  $R^{6''}$  in step 4-2 among leaving groups for hydroxyl group in organic synthesis is selected as the leaving group introduced. Specifically, a sulfonyl-type leaving group is selected. More specifically, for example,  $R^{4''}$  in formula (XXXV) is preferably  
35 trifluoromethanesulfonyl.

The reaction can be carried out in the same

manner as in step 3-4 in scheme 6.

[0157]      Step 4-3

Step 4-3 is a step of utilizing the leaving group at 4-position of the compound represented by formula (XXXV) to give a compound represented by formula (XXXVI) of which the steric configuration at 4-position has been inverted.

R<sup>4''</sup> in the compound represented by formula (XXXVI) is preferably a protective group which serves as a protective group for hydroxyl group at 4-position and can be removed in the same manner as in R<sup>6''</sup> as the protective group for hydroxyl group at 6-position. R<sup>4''</sup> is an ester-type protective group, preferably acetyl.

The reaction which can provide the compound represented by formula (XXXVI) can be achieved by reacting the metal salt of a carboxylic acid with the compound represented by formula (XXXV). The acetyl group which is preferred as R<sup>4''</sup> can be successfully introduced by using a salt of acetic acid such as cesium acetate.

Any solvent may be used without particular limitation so far as the solvent is inert to this reaction. The solvent is preferably N,N-dimethylformamide.

The reaction temperature is in the range of -20°C to reflux temperature, and the reaction time is 0.1 to 72 hr.

[0158]      Step 4-4

Step 4-4 is a step of converting the methoxy group at 1-position of the compound represented by formula (XXXVI) to acyloxy (OR<sup>1''</sup>) to give the compound represented by formula (XXXVII).

This step can be achieved in the same manner as in step 1-4 in scheme 1.

[0159]      Step 4-5a

Step 4-5a is a step of converting the acyloxy group (OR<sup>1''</sup>) at 1-position of the compound represented by formula (XXXVII) to a halogen atom to give a compound represented by formula (XXXVIII).

This step can be carried out in the same manner

as in step 1-5a in scheme 1.

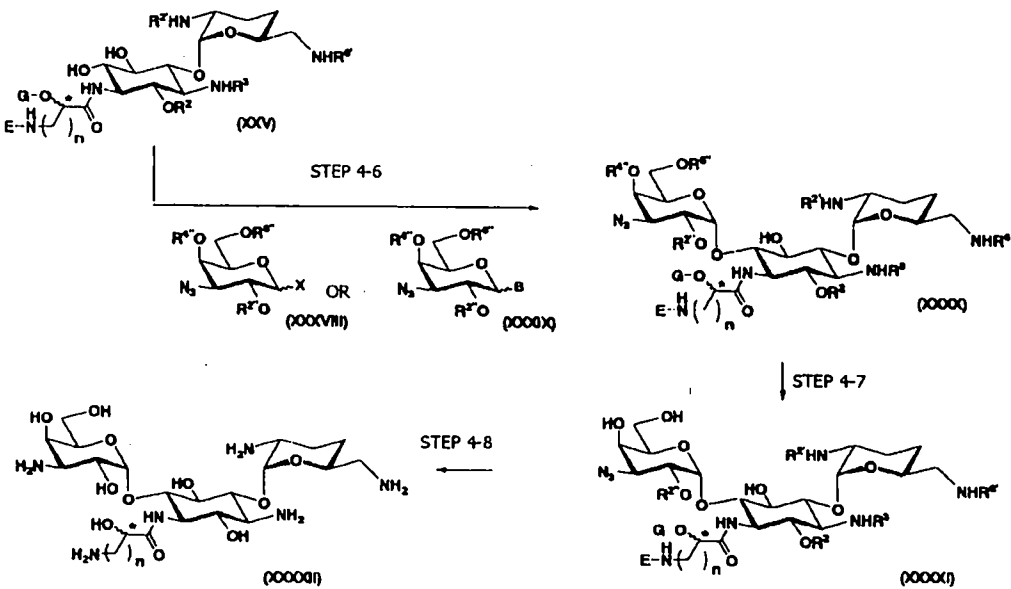
[0160] Step 4-5b

Step 4-5b is a step of converting the acyloxy group (OR<sup>1''</sup>) at 1-position of the compound represented by formula (XXXVII) to thioalkyl or thioaryl in the presence of Lewis acid to give a compound represented by formula (XXXIX).

This step can be carried out in the same manner as in step 1-5b in scheme 1.

[0161] The substituent at 1-position of the compound shown in scheme 8 can take two steric configurations, that is, an equatorial form and an axial form. In scheme 8, they may be separated from each other before use in the reaction, or alternatively the two steric configurations in a mixed form as such may be used in the reaction. Further, the compound represented by formula (XXXVIII) and the compound represented by formula (XXXIX) produced in scheme 8 may be separated into an axial form and an equatorial form which are then used separately from each other in scheme 9. Alternatively, these compounds may be used as a mixture of the axial form with the equatorial form.

[Chemical formula 36]



Scheme 9

wherein

$R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$ ,  $R^{6''}$ , B, E, G, X, n, and the steric configuration of the carbon atom attached with \* are as defined above.

[0162] Step 4-6

5 Step 4-6 is a step of condensing the compound represented by formula (XXV) produced in scheme 4 with the compound represented by formula (XXXVIII) or formula (XXXIX) in scheme 8 to introduce a compound represented by formula (XXXX).

10 The condensation can be carried out in the same manner as in step 2-8 in scheme 5.

[0163] Step 4-7

15 Step 4-7 is a step of removing two protective groups ( $R^{4''}$  and  $R^{6''}$ ) for hydroxyl group in the compound represented by formula (XXXX) produced in the step 4-6 and converting to the compound represented by formula (XXXXI).

Specifically, this step can be carried out in the same manner as in step 2-9 in scheme 5.

[0164] Step 4-8

20 Step 4-8 is a step of removing all the protective groups ( $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ , E, and G) in the compound represented by formula (XXXXI) produced in the step 4-7 to give a compound represented by formula (XXXXII) which is a compound represented by formula (Ia) wherein  $R^{5ax}$  and  $R^{4''eq}$   
25 represent a hydrogen atom and  $R^{5eq}$  and  $R^{4''ax}$  represent a hydroxyl.

Specifically, this step can be carried out in the same manner as in step 2-10 in scheme 5.

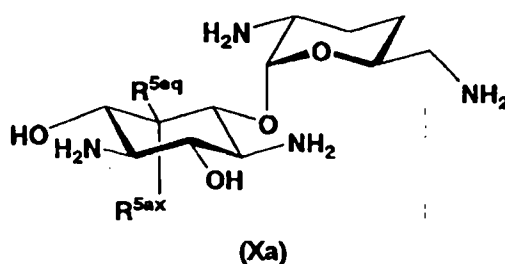
[0165] (5) Production of compounds of which the  
30 5-position is axial and the 4''-position is equatorial: first  
production process

In the first production process according to the present invention, a compound represented by formula (Ia), wherein both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''ax}$  represent a hydrogen atom and both  
35  $R^{5ax}$  and  $R^{4''eq}$  represent hydroxyl, can be produced according to the following scheme 10 (step 5-1 to step 5-6) and scheme 11

(step 5-7 to step 5-13).

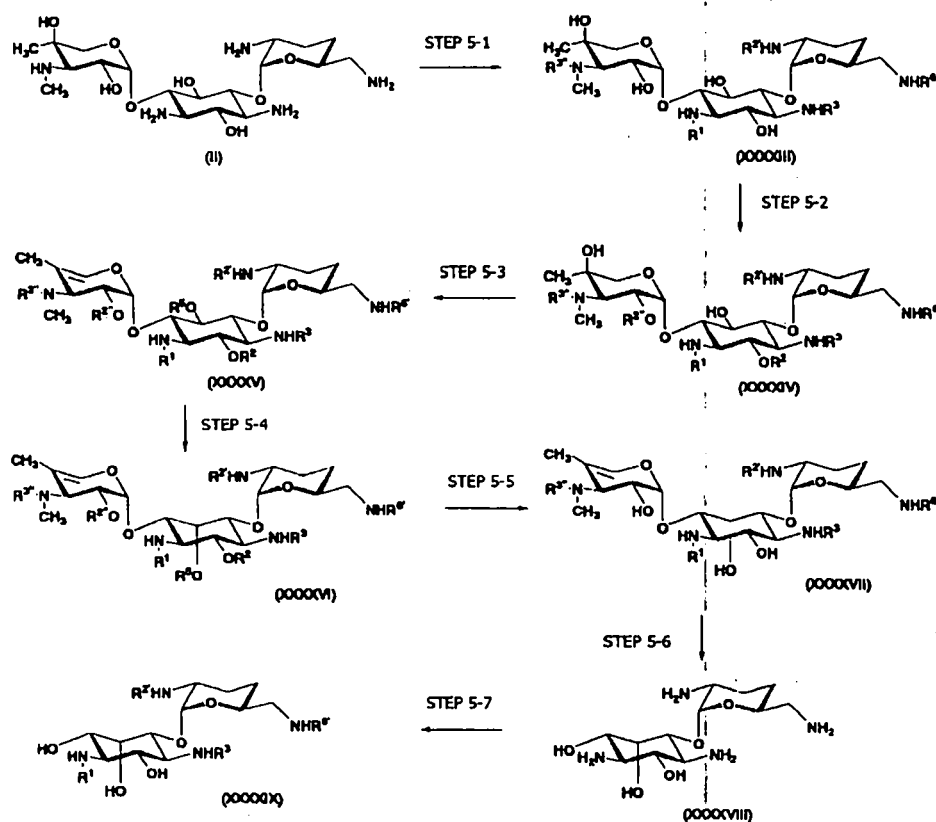
[0166] The production process of compounds represented by formula (Xa), wherein the steric configuration of the hydroxyl group at 5-position is axial, will be specifically described with reference to step 5-1 to step 5-6 in scheme 10. In scheme 10, the compound represented by formula (Xa), wherein the steric configuration of the hydroxyl group at 5-position is axial, corresponds to the compound represented by formula (XXXXVIII).

10 [Chemical formula 37]



wherein,  $R^{5ax}$  represents hydroxyl; and  $R^{5eq}$  represents a hydrogen atom.

[0167] [Chemical formula 38]



wherein,  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ , and  $R^{3''}$  are as defined above;  $R^5$  represents a protective group for hydroxyl group and is selected from, for example, ester-type protective groups such as acetyl or benzoyl and sulfonyl-type protective groups such as p-toluenesulfonyl, methanesulfonyl, or trifluoromethanesulfonyl; and  $R^2$  and  $R^{2''}$  are preferably an ester-type protective group.

[0168] Step 5-1

10 Step 5-1 is a step of introducing protective groups into five amino groups in 2-hydroxygentamicin C1a represented by formula (II).

The protective group introduced is preferably the protective group exemplified in scheme 2. In this step for producing a compound represented by formula (XXXXIII), tert-butoxycarbonyl is particularly preferred. The protective group can be introduced under conditions described in detail in connection with step 1-7 in scheme 2.

[0169] Step 5-2



Step 5-2 is a step of introducing protective groups ( $R^2$  and  $R^{2''}$ ) into two hydroxyl groups in the compound represented by formula (XXXXIII). An ester-type protective group such as acetyl is preferred as the protective group introduced, and acetyl is selected for the compound represented by formula (XXXXIV).

The acetyl group can be introduced in the same manner as in step 3-4 in scheme 6.

[0170] Step 5-3

Step 5-3 is a step of introducing a leaving group into the tertiary hydroxyl group of the compound represented by formula (XXXXIV) in the presence of a base to cause elimination and thus to form an unsaturated bond and, at the same time, introducing a leaving group into the hydroxyl group at 5-position to give a compound represented by formula (XXXXV).

The leaving group to be introduced may be selected from alkylsulfonyl groups such as methanesulfonyl and trifluoromethanesulfonyl, or arylsulfonyl groups such as p-toluenesulfonyl. In the production of the compound represented by formula (XXXXV), methanesulfonyl is preferred. The reaction is carried out by treating sulfonyl chloride and the compound represented by formula (XXXXIV) in the presence of a base. Bases usable in the reaction include organic bases such as triethylamine or 4-dimethylaminopyridine. Preferred is 4-dimethylaminopyridine.

Any solvent may be used in the reaction without particular limitation so far as the solvent is inert to the reaction. Preferred are halide solvents such as methylene chloride.

[0171] Step 5-4

Step 5-4 is a step of inverting the steric configuration at 5-position of the compound represented by formula (XXXXV) to introduce protected hydroxyl group and thus to synthesize a compound represented by formula (XXXXVI). An ester group is preferred as the protected hydroxyl group in consideration of a deprotection step which will

be described later. In the compound represented by formula (XXXXVI), acetyl is preferred.

5 This step of introducing acetyl to invert the hydroxyl group at 5-position can be carried out in the same manner as in step 4-3 in scheme 8.

[0172] Step 5-5

10 Step 5-5 is a step of removing the three protective groups ( $R^2$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^5$ ) for hydroxyl groups in the compound represented by formula (XXXXVI) to give a compound represented by formula (XXXXVII).

15 In the compound represented by formula (XXXXVI), the three protective groups ( $R^2$ ,  $R^{2''}$ , and  $R^5$ ) for hydroxyl groups are acetyl. The deprotection thereof can be carried out under the same conditions as in step 3-1 of scheme 6 or under conditions similar to the conditions in step 3-1 of scheme 6.

[0173] Step 5-6

20 Step 5-6 is a step of subjecting the compound represented by formula (XXXXVII) to acid hydrolysis reaction to give a compound represented by formula (XXXXVIII).

25 This reaction can be carried out by reference to the reaction conditions of step 1-6 in scheme 2. A solvent, which does not inhibit the reaction, such as methanol, may also be additionally used from the viewpoint of enhancing the solubility of the compound represented by formula (XXXXVII) to accelerate the reaction.

[0174] Step 5-7

30 Step 5-7 is a step of introducing protective groups into the four amino groups in the compound represented by formula (XXXXVIII) produced in step 5-6 to give a compound represented by formula (XXXXIX).

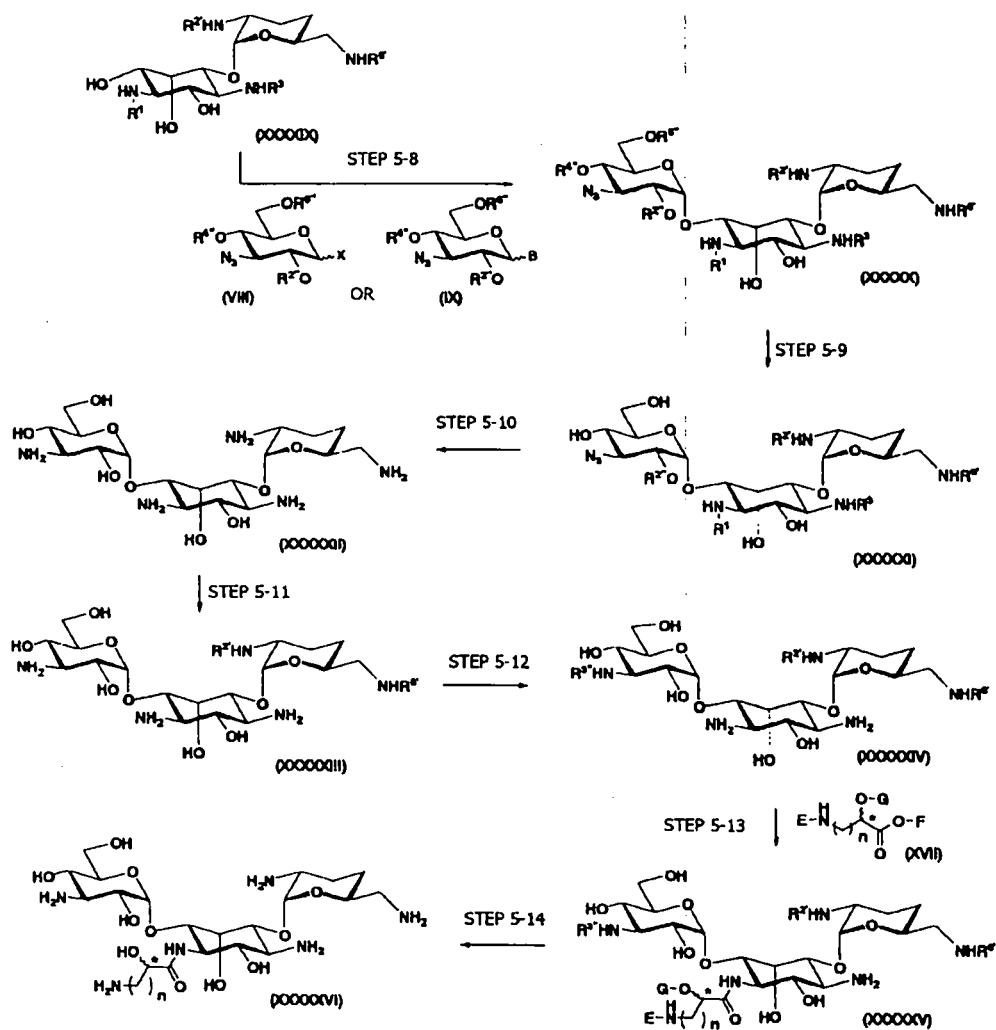
35 The protective group to be introduced is preferably a protective group exemplified in scheme 2, more preferably p-toluenesulfonyl. Conditions described in detail in step 1-7 of scheme 2 may be applied to the introduction of the protective group.

[0175] The compound represented formula (Ia), wherein

both  $R^{5eq}$  and  $R^{4'ax}$  represent a hydrogen atom and both  $R^{5ax}$  and  $R^{4'eq}$  represent hydroxyl, can be produced according to scheme 12 (step 5-8 to step 5-14). In scheme 12, the compound is represented by formula (XXXXXXVI).

5                    Scheme 11 includes the step of reacting the compound represented by formula (XXXXIX) with the compound represented by formula (Xc) (step 5-8), the step of removing the protective groups of the resultant compound and converting the azido group in the compound to amino group (step 5-9 and  
10 step 5-10), the step of optionally introducing a protective groups into functional groups other than the amino group at 1-position in the resultant compound (step 5-11 and step 5-12), the step of reacting the resultant compound with the compound represented by formula (XVII) (step 5-13), and the step of  
15 removing the protective groups in the resultant compound to give a contemplated compound represented by formula (XXXXXXVI) (step 5-14). In scheme 11, the compound represented by formula (Xc) corresponds to the compound represented by formula (VIII) or formula (IX).

20 [0176]            [Chemical formula 39]



Scheme 11

wherein  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ , B, E, F, G, X, n, and the steric configuration of carbon atom attached with \* are as defined above; and,  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  independently represent protective groups for hydroxyl, which are respectively the same protective groups for hydroxyl groups as defined in scheme 1, and are selected from ester-type protective groups such as acetyl and benzoyl.

5

10 [0177] Step 5-8

Step 5-8 is a step of condensing the compound represented by formula (XXXXIX) produced in scheme 10 with the compound represented by formula (VIII) produced in scheme 1 or the compound represented by formula (IX) to give

15 a compound represented by formula (XXXXX). In formula

(VIII) or formula (IX),  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  which are an ester-type protective group for hydroxyl group are preferably acetyl.

The reaction in this step can be achieved under the same conditions used in step 1-8 in scheme 3 or under  
5 conditions similar to the conditions used in step 1-8 in scheme 3.

[0178] Step 5-9

Step 5-9 is a step of removing the two protective groups ( $R^{4''}$  and  $R^{6''}$ ) for hydroxyl groups in the compound  
10 represented by formula (XXXXX) produced in step 5-8 to give a compound represented by formula (XXXXXI).

The two protective groups ( $R^{4''}$  and  $R^{6''}$ ) for hydroxyl groups in the compound represented by formula (XXXXX) are acetyl and can be removed in the same manner as  
15 in step 3-1 in scheme 6.

[0179] Step 5-10

Step 5-10 is a step of reducing the azido group in the compound represented by formula (XXXXXI) produced in step 5-9 to amino group and further removing the four  
20 protective groups ( $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$  and  $R^{6'}$ ) for amino groups and the protective group ( $R^{2''}$ ) for hydroxyl group in one step to give a compound represented by formula (XXXXXII).

This step is the same as step 1-10 in scheme 3, and conditions for Birch reduction in the conditions for step  
25 1-10 can be applied.

[0180] Step 5-11

Step 5-11 is a step of selectively introducing protective groups ( $R^{2'}$  and  $R^{6'}$ ) into the amino groups at 2'- and 6'-positions in the compound represented by formula (XXXXXII)  
30 produced in step 5-10 to give a compound represented by formula (XXXXXIII). In formula (XXXXXIII),  $R^{2'}$  and  $R^{6'}$  represent benzyloxycarbonyl, and the reaction conditions described in step 1-11 in scheme 3 can be applied.

[0181] Step 5-12

Step 5-12 is a step of selectively introducing a  
35 protective group ( $R^{3''}$ ) into the amino group at 3''-position of the

compound represented by formula (XXXXXIII) to give a compound represented by formula (XXXXXIV). In formula (XXXXXIV), preferably,  $R^{3''}$  represents trifluoroacetyl, and the reaction conditions for step 1-12 in scheme 3 can be applied to the reaction.

[0182] Step 5-13

Step 5-13 is a step of reacting the amino group at the 1-position of the compound represented by formula (XXXXXIV) with a  $\omega$ -amino- $\alpha$ -hydroxycarboxylic acid derivative represented by formula (XVII) to give a compound represented by formula (XXXXXV), that is, a step of conducting a reaction for peptide bond formation. This step can be carried out in the same manner as in step 1-13 in scheme 3.

[0183] Step 5-14

Step 5-14 is a step of removing all the protective groups in the compound represented by formula (XXXXXV) to give a compound represented by formula (Ia) wherein both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''ax}$  represent a hydrogen atom and both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''eq}$  represent hydroxyl.

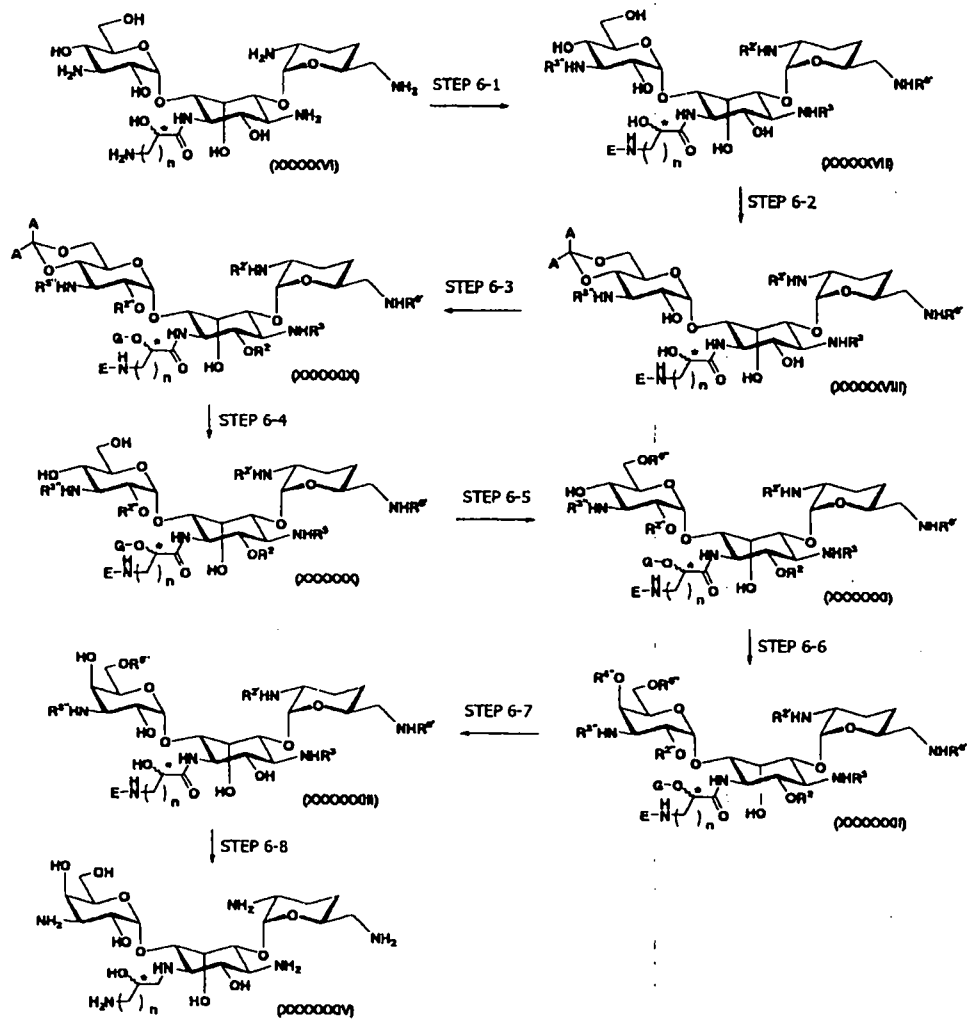
This step can be achieved in the same manner as in step 1-14 in scheme 3.

[0184] (6) Production of compound of which 5-position is axial and 4''-position is axial: inversion reaction of steric configuration at 4''-position

The compound represented by formula (Ia), wherein both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''eq}$  represent a hydrogen atom and both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''ax}$  represent hydroxyl, can be produced according to scheme 12 (step 6-1 to 6-8). In scheme 12, this compound is represented by formula (XXXXXXIV).

Scheme 12 includes the step of introducing protective groups into the functional groups other than the functional group at 4''-position of the compound represented by formula (XXXXXXVI) produced in scheme 11 (step 6-1 to step 6-5), the step of inverting the steric configuration of the hydroxyl group at 4''-position (step 6-6), and the step of removing the protective groups (step 6-7 and step 6-8).

[0185] [Chemical formula 40]



Scheme 12

[0186] wherein R<sup>3</sup>, R<sup>2'</sup>, R<sup>6'</sup>, R<sup>3''</sup>, and E represent a  
 5 protective group for amino group, preferably t-butoxycarbonyl;  
 R<sup>2</sup>, R<sup>2''</sup>, and G represent an ester-type protective group such as  
 acetyl and benzoyl, preferably acetyl; R<sup>4''</sup> represents a group  
 selected from the group consisting of ester-type protective  
 10 groups such as p-toluenesulfonyl, methanesulfonyl and  
 trifluoromethanesulfonyl; R<sup>6''</sup> represents a protective group for  
 hydroxyl group which can be removed under acidic condition  
 such as triphenylmethyl; A represents C1-6 lower alkyl, or two  
 of A together may form five-membered or eight-membered  
 15 cyclic alkyl; and n and the steric configuration of carbon atom

attached with \* are as defined above.

[0187]      Step 6-1

Step 6-1 is a step of introducing protective groups into the five amino groups in the compound represented by formula (XXXXXXVI) produced in scheme 11 to give a compound represented by formula (XXXXXXVII). This step can be carried out by the method described in detail in step 1-7 in scheme 2.

[0188]      Step 6-2

Step 6-2 is a step of introducing cyclic acetal, preferably cyclohexylidene acetal, as a protective group into the two hydroxyl groups in the compound represented by formula (XXXXXXVII). This step is similar to step 2-2 in scheme 4 and can be achieved by applying the reaction conditions adopted in step 2-2 in scheme 4.

15 [0189]      Step 6-3

Step 6-3 is a step of protecting the three hydroxyl groups in the compound represented by formula (XXXXXXVIII) produced in step 6-2 by ester-type protective groups.

Conditions for introducing an ester-type protective group for hydroxyl group in organic synthesis, for example, the conditions applied in step 3-4 in scheme 6, can be applied to this step.

[0190]      Step 6-4

Step 6-4 is a step of removing the cyclic acetal as the protective group in the compound represented by formula (XXXXXXIX) produced in step 6-3 to give a compound represented by formula (XXXXXXX).

The conditions adopted in step 2-4 in scheme 4 can be applied to this step.

30 [0191]      Step 6-5

Step 6-5 is a step of selectively introducing a protective group into the primary hydroxyl group in the compound represented by formula (XXXXXXX) produced in step 6-4 to give a compound represented by formula (XXXXXXXI).

35 A particularly bulky protective group selected from protective groups used as protective groups for hydroxyl group



in conventional organic synthesis, specifically, for example, triphenylmethyl, is selected as the protective group to be introduced. The reaction is carried out by allowing triphenylmethyl chloride or triphenylmethyl bromide chloride to  
5 act on the compound represented by formula (XXXXXX) in the presence of a base. Any base may be used without particular limitation so far as the base is inert to the reaction. Preferred bases are, for example, pyridine and 4-dimethylaminopyridine. Further, in this reaction, any solvent may be used without  
10 particular limitation so far as the solvent is inert to the reaction.

[0192] Step 6-6

Step 6-6 is a step of inverting the hydroxyl group at 4"-position in the compound represented by formula (XXXXXXI) produced in step 6-5 to give a compound  
15 represented by formula (XXXXXXII).

This step is a step similar to the two steps, step 4-2 and step 4-3, in scheme 8 and can be carried out by applying the reaction conditions. Step 6-6 may also be divided into two steps as in scheme 8.

20 [0193] Step 6-7

Step 6-7 is a step of removing the four ester-type protective groups ( $R^2$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$ , and G) among the protective groups for hydroxyl group in the compound represented by formula (XXXXXXII) produced in step 6-6 to give a compound  
25 represented by formula (XXXXXXIII). This step can be carried out by applying step 2-9 in scheme 5.

[0194] Step 6-8

Step 6-8 is a step of removing all the protective groups in the compound represented by formula (XXXXXXIII) produced in step 6-7 to give a compound represented by  
30 formula (XXXXXXIV) which is a compound represented by formula (Ia) wherein both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''eq}$  represent a hydrogen atom and both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''ax}$  represent hydroxyl.

In formula (XXXXXXIII), reaction conditions for  
35 the deprotection depend upon the selected protective group. For example, when  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{3''}$ , and E represent

t-butoxycarbonyl while  $R^{6''}$  represents triphenylmethyl, the deprotection can be carried out under acidic conditions, for example, using trifluoroacetic acid.

[0195] As described above, according to the reaction shown in scheme 12, in the compound represented by formula (Ia) produced in the first or second production process according to the present invention, the steric configuration of the hydroxyl at the 4''-position can be inverted to axial. Accordingly, the first or second production process according to the present invention may comprise introducing a protective group into the functional group other than the hydroxyl group at the 4''-position of the compound represented by formula (Ia), inverting the steric configuration of the hydroxyl group at the 4''-position, and removing the protective group to give a compound represented by formula (Ia) wherein the steric configuration of the hydroxyl group at the 4''-position has been inverted. The present invention includes this embodiment as well.

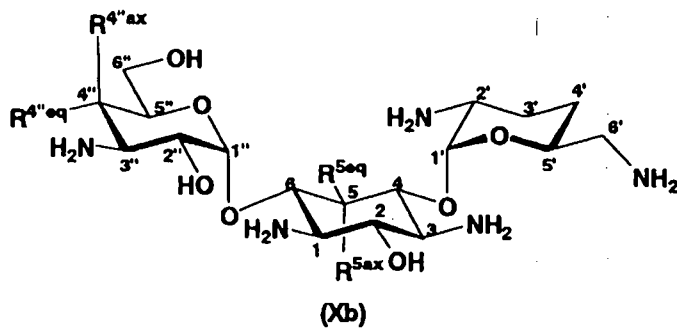
[0196] (7) Production of compound of which 5-position is axial and 4''-position is axial: production of synthetic intermediate of which 5-position is axial and 4''-position is axial (first production process)

In the first production process according to the present invention, the compound represented by formula (Ia), wherein both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''eq}$  represent a hydrogen atom and both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''ax}$  represent hydroxyl, can be produced using a synthetic intermediate produced according to scheme 13.

[0197] In scheme 13, the compound represented by formula (XXXXXXVII) corresponds to a compound represented by formula (Xb) which is a synthetic intermediate in the first production process according to the present invention and of which the steric configuration of the hydroxyl group at the 5-position and 4''-position is axial.

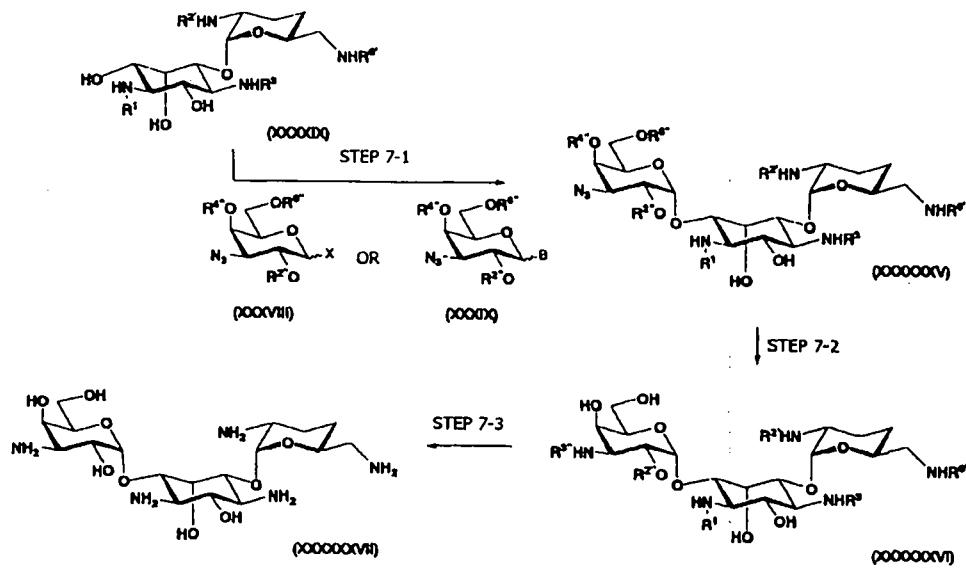
[Chemical formula 41]

lll



wherein both  $R^{5eq}$  and  $R^{4''eq}$  represent a hydrogen atom;  
and both  $R^{5ax}$  and  $R^{4''ax}$  represent hydroxyl.

5 [0198] [Chemical formula 42]



wherein  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ , and  $R^{6'}$  represent protective groups  
for amino groups, preferably p-toluenesulfonyl;  $R^{2''}$  represents  
an ether-type protective group such as benzyl, preferably  
benzyl;  $R^{4''}$  represents an ester-type protective group such as  
acetyl or benzoyl, preferably acetyl;  $R^{6''}$  represents an  
ester-type protective group such as acetyl or benzoyl,  
preferably benzoyl; B represents a sulfur atom-containing  
leaving group such as methylthio, ethylthio, or phenylthio,  
preferably phenylthio; and X represents a halogen atom such as  
chlorine, bromine, or iodine, preferably a bromine atom.

[0199] Step 7-1

112

Step 7-1 is a step of condensing the compound represented by formula (XXXXIX) produced in scheme 10 with the compound represented by formula (XXXVIII) or the compound represented by formula (XXXIX) in scheme 8 to give a compound represented by formula (XXXXXXV). This step can be carried out by the method which has been described in detail in step 2-8 in scheme 5.

[0200] Step 7-2

Step 7-2 is a step of removing the two ester-type protective groups ( $R^{4''}$  and  $R^{6''}$ ) in the compound represented by formula (XXXXXXV) to give a compound represented by formula (XXXXXXVI). This step is similar to step 5-9 in scheme 11 and can be achieved by applying the reaction conditions adopted in step 5-9 in scheme 11.

15 [0201] Step 7-3

Step 7-3 is a step of removing all the protective groups in the compound represented by formula (XXXXXXVI) produced in step 7-2, reducing the azido group to amino to give a compound represented by formula (XXXXXXVII).

20 The reaction conditions for the deprotection of the compound represented by formula (XXXXXXVII) vary depending upon the selected protective group. For example, when  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ , and  $R^{6'}$  represent p-toluenesulfonyl, the deprotection can be carried out, for example, by Birch reduction in which a radical reaction is carried out using liquid ammonia and metallic sodium.

[0202] It would be apparent to a person having ordinary skill in the art that, after step 7-3, the compound represented by formula (Ia) can be produced by applying step 1-11 to step 30 1-14 in scheme 3 to the compound represented by formula (XXXXXXVII).

[0203] The compounds according to the present invention and the compounds produced in the production steps can be purified and isolated by conventional purification operation. 35 The purification and isolation can be carried out, for example, by liquid separation, distillation, sublimation, precipitation,

crystallization, column chromatography on silica gel in which normal- or reverse-phase silica gel is packed, column chromatography using an ion exchange resin such as Amberlite CG-50, Dowex 50 W x 2, or CM-Sephadex C-25, column  
5 chromatography using cellulose or the like, preparative thin-layer chromatography or high performance liquid chromatography. Alternatively, the compounds produced in the above productions steps can also be properly used in subsequent steps without the isolation and purification.

10 [0204] Antimicrobial agent

The compounds represented by formula (Ia) according to the present invention or their pharmacologically acceptable salts, or their solvates have excellent antimicrobial activity against bacteria, which causes infectious diseases, for  
15 example, MRSA, staphylococcus aureus, colibacillus, and Pseudomonas aeruginosa, and are preferably used as antimicrobial agents, more preferably anti-MRSA agents. Thus, according to another aspect of the present invention, there is provided use of a compound according to the present invention  
20 or its pharmacologically acceptable salt or their solvates for the manufacture of an antimicrobial agent. Further, according to still another preferred aspect of the present invention, there is provided use of a compound according to the present invention or its pharmacologically acceptable salt or their solvates for the  
25 manufacture of an anti-MRSA agent.

[0205] Pharmaceuticals

The compounds represented by formula (Ia) according to the present invention or their pharmacologically acceptable salts, or their solvates optionally together with  
30 pharmaceutically acceptable additives may be used as pharmaceuticals. Thus, according to a further aspect of the present invention, there is provided a composition, especially a pharmaceutical composition comprising a compound represented by formula (Ia) or its pharmacologically acceptable  
35 salt, or their solvate. Further, according to another aspect of the present invention, there is provided use of a compound

represented by formula (Ia) or its pharmacologically acceptable salt, or their solvate for the manufacture of a pharmaceutical composition. The pharmaceutical composition according to the present invention can be specifically used for preventing or  
5 treating an infectious disease. Preferred infectious diseases for which the pharmaceutical composition according to the present invention is very effective for the treatment or prevention, include nosocomial infectious diseases and opportunistic infectious diseases. More preferred are skin suppurative  
10 diseases, tympanitis, sinusitis, conjunctivitis, pneumonia, bronchitis, sepsis, cystitis, pyelonephritis, enteritis (including food poisoning) and the like.

[0206] The pharmaceutical composition according to the present invention can be administered to patients parenterally  
15 or orally by administration routes, for example, parenteral administration (for example, intravenous administration, intramuscular administration, subcutaneous administration, rectal administration, or percutaneous administration), or oral administration depending, for example, upon the type of  
20 pathogenic bacteria and diseases and the nature of the patient. Further, the pharmaceutical composition according to the present invention may be formulated into a suitable dosage form depending upon the administration route. Examples of such dosage forms include, for example, injections used mainly,  
25 for example, for intravenous administration and intramuscular administration; external preparations for parenteral administration, for example, eye drops, ear drops, nasal drops, ophthalmic ointments, skin mucosa absorbers, dermatologic preparations, inhalants, or suppositories; and preparations for  
30 oral administration, for example, capsules, tablets, pills, fine subtilaes, granules, powders, syrups, or troches.

[0207] The above preparations can be produced by a conventional method using additives, for example, excipients, extenders, binders, wetting agents, disintegrators, surfactants,  
35 lubricants, dispersants, buffers, preservatives, solubilizers, antiseptics, corrigents, soothing agents, and stabilizers.

Specific examples of nontoxic additives usable herein, for injections, eye drops, ear drops, and nasal drops, include, dissolving agents or solubilizers which can constitute aqueous or dissolution-before-use dosage forms (for example, distilled  
5 water for injection, physiological saline, ethanol, glycerin, propylene glycol, corn oils, and sesame oils), pH adjustors (for example, inorganic acid addition salts such as trisodium orthophosphate and sodium hydrogencarbonate, organic acidic salts such as sodium citrate, and organic basic salts such as  
10 L-lysine and L-arginine), tonicity adjusting agents (for example, sodium chloride, glucose, and glycerin), buffering agents (for example, sodium chloride, benzalkonium chloride, and sodium citrate), surfactants (for example, sorbitan monooleate and polysorbate 80), dispersing agents (for example, D-mannitol),  
15 stabilizers (for example, antioxidants such as ascorbic acid, sodium sulfite, and sodium pyrosulfite and chelate agents such as citric acid and tartaric acid); for ophthalmic ointments, skin mucosa absorbers, and dermatologic preparations, include, for example, preparation components suitable as ointments,  
20 creams, and patch preparations (for example, white petrolatum, macrogol, glycerin, liquid paraffin, and cotton clothes); for liquid inhalants, include, for example, pH adjustors (for example, sodium citrate and sodium hydroxide), tonicity adjusting agents (for example, sodium chloride, benzalkonium chloride, and  
25 sodium citrate), and buffering agents (for example, sodium chloride, benzalkonium chloride, and sodium citrate); for powdery inhalants, include, for example, lactose as a carrier; and, for preparations for oral administration and suppositories, include, for example, excipients (for example, lactose,  
30 D-mannitol, corn starch, and crystalline cellulose), disintegrators (for example, carboxymethylcellulose and carboxymethylcellulose calcium), binders (for example, hydroxypropylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, and polyvinyl pyrrolidone), lubricants (for example, magnesium stearate and talc), coating agents (for example, shellac,  
35 hydroxypropylmethylcellulose, saccharose, and titanium oxide),

plasticizers (for example, glycerin and polyethylene glycol), and substrates (for example, cacao butter, polyethylene glycol, and hard fat).

[0208] Further, when an enhancement in the therapeutic or preventive effect of infectious diseases is taken into consideration, the pharmaceutical composition according to the present invention may contain, in addition to the compound according to the present invention, clinically useful one or more conventional antimicrobial agents (for example,  $\beta$ -lactam antimicrobial agents (for example, carbapenems, cephalosporins, cephameycins, and penicillins), glycopeptide antimicrobial agents, ansamycin antimicrobial agents, aminoglycoside antimicrobial agents, quinolone antimicrobial agents, monobactam antimicrobial agents, macrolide antimicrobial agents, tetracycline antimicrobial agents, chloramphenicol antimicrobial agents, lincomycin antimicrobial agents, streptogramin antimicrobial agents, oxazolidinone antimicrobial agents, fosfomycins, novobiocins, cycloserines, and moenomycins). Alternatively, the pharmaceutical composition together with the above antimicrobial agent may be administered to the living body. Further, when the fact that the pharmaceutical composition according to the present invention can expand or improve the effectiveness against gram-negative bacteria and resistant bacterial against existing antimicrobial agents is taken into consideration, the pharmaceutical composition according to the present invention may contain, for example, a drug discharge pump (efflux pump) inhibitor and an existing antimicrobial agent degradative enzyme (for example,  $\beta$ -lactamase) inhibitor. Alternatively, the pharmaceutical composition according to the present invention, together with these inhibitors or the like may be administered to the living body. Furthermore, when the fact that the pharmaceutical composition according to the present invention can enhance the therapeutic or preventive effect of infectious diseases is taken into consideration, the pharmaceutical composition according to the present invention can be used in combination with



compounds not having any antimicrobial activity (for example, medicaments for treating complication). The present invention includes this embodiment.

[0209] As described above, the compound represented by formula (Ia) according to the present invention or its pharmacologically acceptable salt, or their solvate can be advantageously utilized as an antimicrobial agent or a pharmaceutical in the prevention or treatment of infectious diseases. Thus, according to another aspect of the present invention, there is provided a method for preventing or treating an infectious disease, comprising administering the compound represented by formula (Ia) or its pharmacologically acceptable salt, or their solvate to an animal including a human. Animals as candidates for the prevention or treatment are preferably mammals, more preferably humans. The dose of the compound represented by formula (Ia) or its pharmacologically acceptable salt, or their solvate may be appropriately determined by a person having ordinary skill in the art, for example, in consideration of dose regimen, the type of pathogenic bacteria, and the age, sex, and weight of patients, and disease severity of patients. In particular, the dose per day and the number of doses per day may, if necessary, be appropriately varied.

#### EXAMPLES

[0210] The present invention is further illustrated by the following Examples that are not intended as a limitation of the invention.

In the following description, all temperatures are expressed in Celsius degree.

<sup>1</sup>H-NMR denotes a proton nuclear magnetic resonance spectral method, and <sup>13</sup>C-NMR denotes a carbon nuclear magnetic resonance spectral method. Further, chemical shifts obtained therefrom are expressed in shifts (ppm) from tetramethylsilane (TMS) to a lower magnetic field side.

MS denotes a mass spectral method, and the

results

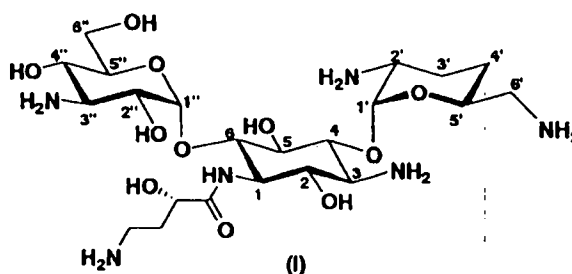
obtained by an electron spray ionization method (ESI), an atmospheric pressure ionization method (API), a fast atom bombardment method (FAB), and a high-performance liquid chromatography-mass analysis method (LCMS) are expressed in m/z (mass/charge).

R<sub>f</sub> values in thin-layer chromatography are values measured with a silica gel plate of ART5715 manufactured by Merck, and a developing solvent, which gave the R<sub>f</sub> values, are described within the parentheses.

In the following structural formulae, Bn represents benzyl, Ac acetyl, Ph phenyl, Ts p-toluenesulfonyl, and Cbz benzyloxycarbonyl.

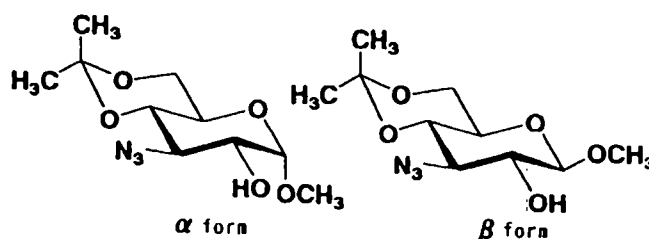
[0211] Example 1

15      Production of 2-hydroxyarbakacin  
[Chemical formula 43]



[0212] Production step 1-1

20      Methyl  
3-azido-3-deoxy-4,6-O-isopropylidene-D-glucopyranoside  
[Chemical formula 44]



25      [0213]      Methyl 3-azido-3-deoxy-D-glucopyranoside (32.7 g) synthesized according to the description of the method of C.

B. Barlow et al. (J. Chem. Soc., Abstracts pp. 3870 - 3871, (June), (1965)) was dissolved in 330 mL of N,N-dimethylformamide. 2,2-Dimethoxypropane (26.8 mL) and 1.92 g of p-toluenesulfonic acid were added to the solution, and the mixture was stirred at 50°C. Three hr after the start of the stirring, 26.8 mL of 2,2-dimethoxypropane was further added to the reaction solution; after 5.5 hr, 2.10 g of p-toluenesulfonic acid was further added to the reaction solution; after 6.5 hr, 17.9 mL of 2,2-dimethoxypropane was further added to the reaction solution; and after 24 hr, 16.2 mL of triethylamine was added under ice cooling to the reaction solution, and the mixture was concentrated to dryness with a vacuum pump. Chloroform (1.5 L) was added to the residue. The solution was washed twice with 500 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and was further washed twice with 500 mL of saturated brine, was dried over Glauber's salt, and was concentrated to dryness to give the title compound (a mixture of an  $\alpha$  form and a  $\beta$  form, 36.3 g, yield 96%) as a brown syrup.

ESIMS:  $m/z$  282  $[M + Na]^+$

[0214]  $\alpha$  Form

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.74 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 3.88 (dd, 1H,  $J = 5, 10$  Hz), 3.72 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.65 (dddd 1H,  $J = 5, 9, 10$  Hz), 3.61 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.55 (dt, 1H,  $J = 4, 10, 10$  Hz), 3.45 (s, 3H), 3.47 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.35 (d, 1H,  $J = 10$  Hz), 1.51 (s, 3H), 1.44 (s, 3H).

[0215]  $\beta$  Form

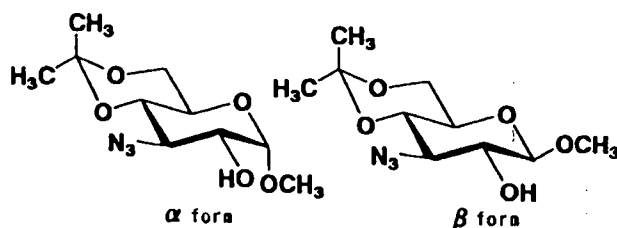
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.27 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 3.95 (dd, 1H,  $J = 5, 10$  Hz), 3.78 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.64 (m, 1H), 3.56 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.55 (s, 3H), 3.50 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.37 (dd, 1H,  $J = 8, 10$  Hz), 2.67 (br. s, 1H), 1.51 (s, 3H), 1.44 (s, 3H).

[0216] Production step 1-2

Methyl

3-azido-2-O-benzyl-3-deoxy-4,6-O-isopropylidene-D-glucopyranoside

[Chemical formula 45]



[0217] The above compound (46.0 g) product in production step 1-1 was dissolved in 690 mL of N,N-dimethylformamide. Sodium hydride 11.4 g (60% oil suspension) was added to the solution with stirring under ice cooling and a nitrogen atmosphere, and the mixture was further stirred under ice cooling and a nitrogen atmosphere for 30 min. Benzyl bromide (27.4 mL) was added to the reaction solution, and the mixture was stirred under a nitrogen atmosphere at room temperature for 1.5 hr. The reaction solution was then ice cooled and was adjusted to pH 4 to 5 by the addition of a 50% aqueous acetic acid solution. The reaction mixture was then concentrated to dryness, and 2.0 L of chloroform was added thereto. The solution was washed twice with 500 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and was washed once with 500 mL of water. The washed solution was dried over Glauber's salt and was concentrated to dryness to give 73.4 g of a crude product. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (hexane : ethyl acetate = 7 : 1 to 3 : 1) using 350 g of a neutral silica gel to give the title compound (a mixture of an  $\alpha$  form and a  $\beta$  form: 55.1g, yield 89%).

ESIMS:  $m/z$  372  $[M + Na]^+$ [0218]  $\alpha$  Form

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 7.40 (m, 5H), 4.70 - 4.90 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.52 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 3.85 (dd,  $J = 2, 10$  Hz), 3.82 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.66 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.65 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.36 (s, 3H), 3.39 (dt, 1H,  $J = 2, 10, 10$  Hz), 3.37 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 1.47 (s, 3H), 1.43 (s, 3H).

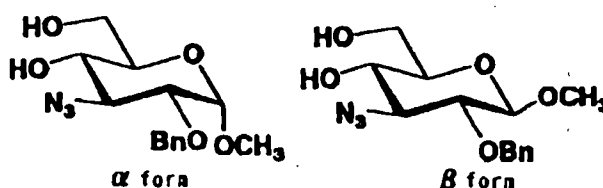
[0219]  $\beta$  Form

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 7.40 (m, 5H), 4.71 - 4.88 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.38 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 3.93 (dd,  $J = 5, 10$  Hz), 3.75 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.56 (s, 3H), 3.51 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.45 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.27 (dd, 1H,  $J = 8, 10$  Hz), 3.26 (dt, 1H,  $J = 5, 10, 10$  Hz), 1.49 (s, 3H), 1.44 (s, 3H).

[0220] Production step 1-3

Methyl 3-azido-2-O-benzyl-3-deoxy-D-glucopyranoside

[Chemical formula 46]



10 An 80% aqueous acetic acid solution (186 mL) was added to 37.3 g of the compound produced in production step 1-2. A reaction was allowed to proceed at  $80^\circ\text{C}$ , and, 30 min after the start of the reaction, the reaction solution was cooled to room temperature and was concentrated to dryness to give 32.9 g of the title compound (a mixture of an  $\alpha$  form and a  $\beta$  form) at a quantitative yield.

ESIMS:  $m/z$  332 [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$

[0221]  $\alpha$  Form

20  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 7.45 (m, 5H), 4.63 - 4.80 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.57 (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz), 3.78 - 3.85 (m, 2H), 3.63 (dt, 1H,  $J = 4, 4, 10$  Hz), 3.44 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.40 (dd, 1H,  $J = 3.5, 10$  Hz), 3.38 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.37 (s, 3H), 2.44 (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz), 1.82 (dd, 1H,  $J = 6, 7.5$  Hz).

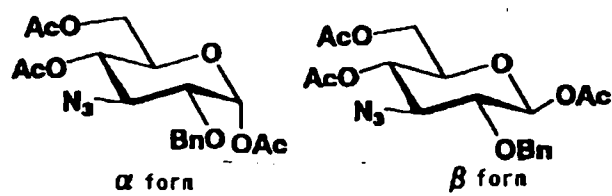
[0222]  $\beta$  Form

25  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 7.45 (m, 5H), 4.71 - 4.92 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.39 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 3.91 (m, 1H), 3.78 - 3.85 (m, 2H), 3.58 (s, 3H), 3.45 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.39 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.27 (dd, 1H,  $J = 8, 10$  Hz), 2.50 (d, 1H,  $J = 2.5$  Hz), 1.97 (dd, 1H,  $J = 6, 7.5$  Hz).

30 [0223] Production step 1-4

1,4,6-Tri-O-acetyl-3-azido-2-O-benzyl-3-deoxy-D-glucopyranose

[Chemical formula 47]



[0224] Acetic acid-acetic anhydride-concentrated sulfuric acid (50 : 50 : 1) (164 mL) was added to and dissolved in 32.8 g of the compound produced in production step 1-3 with an ultrasonic cleaner, and a reaction was allowed to proceed at room temperature for 5 hr. The reaction solution was dropped with vigorous stirring to 1.7 L of an ice cooled 10% aqueous sodium acetate solution. Chloroform (20 mL) was added four times to the reaction solution, and mixture was vigorously stirred under ice cooling for 20 min. The reaction solution was returned to room temperature and was further vigorously stirred for one hr. The reaction solution was then extracted with 2.5 L of chloroform (once with 900 mL and twice with 800 mL). The chloroform layer was washed once with 500 mL of saturated brine, twice with 500 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, and once with 500 mL of saturated brine. The chloroform layer was further dried over Glauber's salt and was concentrated to dryness to give 48.4 g of a crude product. The crude product thus obtained was purified by column chromatography on silica gel (250 g) (hexane : ethyl acetate = 5 : 1) to give the title compound (a mixture of an  $\alpha$  form and a  $\beta$  form: 41.3 g, yield 92%) as a light yellow syrup.

ESIMS:  $m/z$  444  $[M + Na]^+$

[0225]  $\alpha$  Form

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.30 - 7.40 (m, 5H), 6.32 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.90 (t, 1H,  $J = 10$ , 10 Hz), 4.62 - 4.71 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 12$  Hz), 4.22 (dd, 1H,  $J = 5$ , 13 Hz), 4.01 (dd, 1H,  $J = 2.5$ , 10 Hz), 3.98 (m, 1H), 3.88 (t, 1H,  $J = 10$ , 10 Hz), 3.58 (dd, 1H,  $J = 4$ , 10 Hz), 2.06, 2.12, 2.17 (each s, each 3H).

[0226]  $\beta$  Form

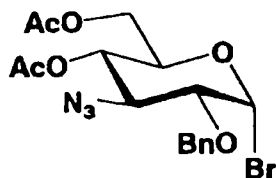
$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.30 - 7.40 (m, 5H), 5.62 (d, 1H,  $J = 9$

Hz), 4.91 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.72 - 4.82 (ABq, 2H, Jgem = 12 Hz), 4.25 (dd, 1H, J = 5, 13 Hz), 3.99 (dd, 1H, J = 2.5, 13 Hz), 3.74 (ddd, 1H, J = 2.5, 5, 10 Hz), 3.66 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.59 (dd, 1H, J = 9, 10 Hz), 2.07, 2.12, 2.22 (each s, each 3H).

[0227] Production step 1-5a

4,6-Di-O-acetyl-3-azido-2-O-benzyl-1-bromo-3-deoxy- $\alpha$ -D-glucopyranose

[Chemical formula 48]



10

[0228] The compound (347 mg) synthesized in production step 1-4 was dissolved in a mixed solution composed of 6.2 mL of methylene chloride and 0.69 mL of ethyl acetate. Titanium tetrabromide (605 mg) was added to the mixed solution with stirring under ice cooling, and the mixture was stirred at room temperature for 14.5 hr. The reaction solution was ice cooled, and 30 mL of ice cooled methylene chloride was added thereto. The solution was washed eight times with 15 mL of ice cooled water until the water layer had pH 7. The solution was then dried over Glauber's salt under ice cooling and was concentrated to dryness to give the title compound (352 mg, yield: 97%) as a light yellow syrup.

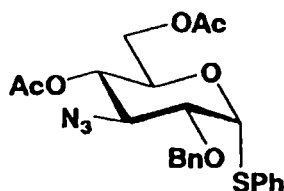
[0229]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.20 - 7.45 (m, 5H), 6.32 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 4.92 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.68 - 4.74 (ABq, 2H, Jgem = 12 Hz), 4.27 (dd, 1H, J = 4.5, 12.5 Hz), 4.17 (ddd, 1H, J = 2.5, 4.5, 10 Hz), 4.03 (dd, 1H, J = 2.5, 12.5 Hz), 3.98 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.43 (dd, 1H, J = 3.5, 10 Hz), 2.13 (s, 3H), 2.06 (s, 3H).

[0230] Production step 1-5b

4,6-Di-O-acetyl-3-azido-2-O-benzyl-3-deoxy-1-thiophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranose

[Chemical formula 49]

30



[0231] The compound (19.9 g) produced in production step 1-4 was dissolved in 200 mL of methylene chloride. Trimethylsilylthiophenol (26.8 mL) and 11.0 mL of trimethylsilyltriflate were added to the solution, and the mixture was refluxed. The reaction mixture was ice cooled 41 hr after the start of the reflux. Further, ice cooled chloroform (1.8 L) was added thereto. The reaction mixture was then washed three times with 1 L of an ice cooled 5% aqueous NaOH solution and twice with 1 L of ice cooled water. The reaction mixture was then dried over Glauber's salt, was concentrated to dryness to give a crude product (22.1 g). The crude product was then dissolved in 20 mL of ethyl acetate. Hexane (120 mL) was further added to the solution for recrystallization. The resultant crystal was washed with ice cooled ethyl acetate : hexane (1 : 9) to give the title compound (17.7 g, yield 79%). Further, the mother liquor and the wash liquid for the crystal were combined and were concentrated to dryness to give the title compound (4.3 g).

ESIMS:  $m/z$  494  $[M + Na]^+$

[0232]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.20 - 7.48 (m, 10H), 5.59 (d, 1H,  $J = 5$  Hz), 4.83 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.68 - 4.78 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.46 (ddd, 1H,  $J = 2.5, 5, 10$  Hz), 4.22 (dd, 1H,  $J = 5, 12$  Hz), 3.96 (t, 1H,  $J = 2.5, 12$  Hz), 3.86 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.79 (dd, 1H,  $J = 5, 10$  Hz), 2.13 (s, 3H), 1.99 (s, 3H).

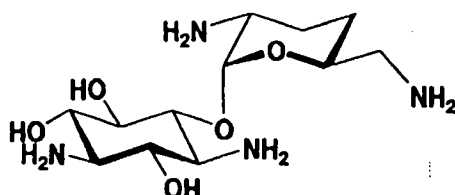
[0233] Production step 1-6

3',4'-Dideoxy-2-hydroxyneamine



125.

[Chemical formula 50]



[0234] Process A: 2-Hydroxygentamicin C1a (18.0 g) represented by formula (II) was produced according to the description of Japanese Patent Laid-Open No. 108041/1976 and was purified. Next, 3 M HCl (360 mL) was added to the resultant 2-hydroxygentamicin C1a, and the mixture was refluxed for 1.5 hr. The reaction solution was returned to room temperature, was then ice cooled, was adjusted to pH about 6.8 by the addition of 4 M NaOH, was diluted with 1.8 L of water, and was added into an Amberlite CG-50 (previously equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia) 500 mL column. This column was washed with 1 L of 0.005 M aqueous ammonia. Elution was carried out with 2 L of 0.1 M aqueous ammonia and 2 L of 0.3 M aqueous ammonia. Fractions containing the title compound were combined and were concentrated to dryness to give 6.1 g of the title compound. Fractions containing impurities were again purified by the Amberlite CG-50 column to give 0.6 g of the title compound. Thus, 6.7 g in total of the title compound (monocarbonate, yield 72%) was obtained.

[0235] Process B: 2-Hydroxygentamicin C1a (600 g) represented by formula (II) was produced and was purified according to the description of Japanese Patent Laid-Open No. 108041/1976. Next, 2-hydroxygentamicin C1a (300 g, 483 mmol as 2.5 carbonate) was dissolved in 3 N HCl (3 L), and the solution was stirred at 95°C for 70 min. After standing to cool, the solution was ice cooled to 10°C and was neutralized and adjusted to pH 6.88 by the addition of 5 N NaOH. Further, the same reaction was again carried out using 2-hydroxygentamicin C1a (300 g, 483 mmol as 2.5 carbonate). The resultant two reaction mixtures were combined and were purified with Amberlite CG-50 (NH<sub>4</sub> type; equilibrated with 0.005 M NH<sub>3</sub>, 10

L). Elution solvent: 0.1 M → 0.2 M → 0.3 M NH<sub>3</sub>. The purified product was lyophilized to give the title compound (335.9 g; 781 mmol as dicarbonate; yield 81%).

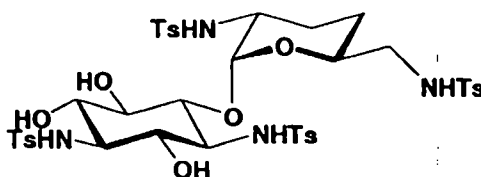
[0236] ESIMS: m/z 329 [M + Na]<sup>+</sup>

5       <sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O: δ 5.09 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 3.82 (m, 1H), 3.56 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.30 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.35 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.08 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.82 (dt, 1H, J = 3.5, 3.5, 12 Hz), 2.78 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.58 - 2.68 (m, 2H), 2.63 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 1.67 - 1.79 (m, 2H), 1.60 (dq, 1H, J = 4, 12, 12, 12 Hz), 1.36 (dq, 1H, J = 4, 12, 12, 12 Hz).

[0237] Production step 1-7

3',4'-Dideoxy-2-hydroxyl-1,3,2',6'-tetra-N-tosylneamine

[Chemical formula 51]



15

[0238] The compound (6.7 g) produced in production step 1-6 was dissolved in 67 mL of water. Sodium carbonate (11.6 g) was added to the solution, and 134 mL of dioxane was further added. p-Toluenesulfonyl chloride (20.8 g) was added to the mixture under ice cooling, and the mixture was vigorously stirred for 15 min under ice cooling. The solution was returned to room temperature and was vigorously stirred overnight. Dioxane (134 mL) was then added to the reaction solution; after 42.5 hr, 3.9 g of sodium carbonate was added to the reaction solution; after 88 hr, 3.5 g of p-toluenesulfonyl chloride was added to the reaction solution; and after 112.5 hr, 8.5 mL of concentrated aqueous ammonia was added to the reaction solution, and the mixture was stirred for 30 min. The reaction mixture was concentrated to dryness. Ethyl acetate (700 mL) was added to the residue, and the mixture was washed twice with 300 mL of water, was dried over Glauber's salt, and was then concentrated to dryness. The crude product

30

177

was purified by column chromatography on silica gel (chloroform : methanol = 20 : 1) on 250 g of silica gel to give 3.47 g of the title compound. A fraction containing impurities was also subjected to column chromatography on silica gel to give 7.05 g of the title compound. As a result, 10.52 g (total amount; yield 63%) of the title compound was produced.

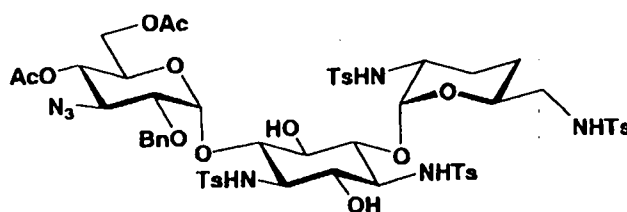
[0239] ESIMS:  $m/z$  945  $[M + Na]^+$

$^1H$ -NMR (Pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  9.20 (d, 1H,  $J = 7$  Hz), 9.15 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 8.80 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 8.46 (t, 1H,  $J = 6, 6$  Hz), 7.90 - 8.18 (m, 8H), 7.00 - 7.15 (m, 8H), 5.97 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 5.09 (m, 1H), 4.14 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.07 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.91 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.79 - 3.86 (m, 2H), 3.74 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.73 (m, 1H), 3.30 - 3.47 (m, 2H), 2.40 (dq, 1H,  $J = 5, 12, 12, 12$  Hz), 2.17 (s, 6H), 2.16 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.77 (m, 1H), 1.58 - 1.72 (m, 2H).

[0240] Production step 1-8

4'',6''-Di-O-acetyl-3''-azido-2''-O-benzyl-3''-deoxy-2-hydroxyl-1,3,2',6'-tetra-N-tosyldibekacin

[Chemical formula 52]



20

[0241] Process A: A solution of 352 mg of the compound produced in production step 1-5a in 7.3 mL of 1,2-dichloroethane was added to 363 mg of the compound produced in production step 1-7. Drierite (1070 mg) was added thereto, and the mixture was stirred at room temperature for 30 min. Mercuric cyanide (397 mg) was added to the reaction solution, and the mixture was stirred under light shielding at 60°C until the compound produced in production step 1-5a disappeared when the reaction was traced by TLC. The reaction solution was returned to room temperature and was filtered through Celite. The insolubles were washed with 73 mL of chloroform. The filtrate and the wash liquid were

30

combined, were washed three times with 36 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, three times with 36 mL of a 10% aqueous sodium iodide solution and twice with 36 mL of water in that order, were dried over a Glauber's salt, and were concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (chloroform : ethyl acetate = 5 : 2) on 36 g of silica gel to give the title compound (190 mg, yield 37.5%).

[0242] Process B: The compound (10.52 g) produced in production step 1-7 and the compound (9.67 g) produced in production step 1-5b were dissolved in 210 mL of methylene chloride. A molecular sieves 4A powder (31.6 g) was added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for 30 min. Next, a solution of 5.54 g of N-iodosuccinimide and 0.55 mL of trifluoromethanesulfonic acid in 9.45 mL of methylene chloride was added to the reaction solution with stirring at -20°C under light shielding. Further, the mixture was stirred at -20°C for 30 min under light shielding. Next, 3.4 mL of triethylamine was added to the reaction solution, and the mixture was filtered through Celite, and the insolubles were washed with 1.8 L of chloroform. Next, the filtrate and the wash liquid were combined, were washed twice with 1 L of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, twice with 1 L of a 10% aqueous sodium thiosulfate solution, and twice with 500 mL of water in that order, were dried over a Glauber's salt, and were concentrated to dryness to give 20.2 g of a crude product. Next, the crude product was purified by column chromatography on 500 g of silica gel (chloroform : ethyl acetate = 5 : 2) to give the title compound (5.4 g, yield 37%).

[0243] Rf value 0.68 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3)

ESIMS: m/z 1306 [M + Na]<sup>+</sup>

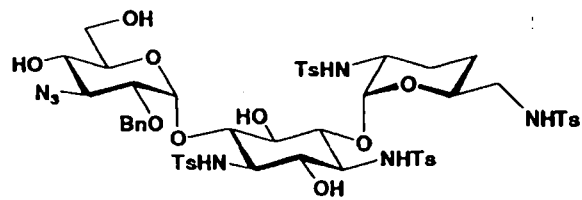
<sup>1</sup>H-NMR (Pyridine-d<sub>5</sub>): δ 9.22 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 8.82 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 8.73 (t, 1H, J = 6, 6 Hz), 8.25 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 7.8 - 8.1 (m, 10H), 7.0 - 7.45 (m, 11H), 6.75 (d, 1H, J = 3 Hz), 6.09 (d, 1H, J = 2 Hz), 5.51 (ABq, 1H, J<sub>gem</sub> = 11 Hz), 5.23 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 5.03 (m, 1H), 4.96 (m, 1H), 4.93

(ABq, 1H, Jgem = 11 Hz), 4.41 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.38 (dd, 1H, J = 4, 12 Hz), 4.23 (m, 1H), 4.07 - 4.21 (m, 5H), 3.83 (dd, 1H, J = 3, 10 Hz), 3.78 (t, 1H, J = 9, 9 Hz), 3.72 (m, 1H), 3.27 (m, 1H), 3.17 (m, 1H), 2.35 (m, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.20 (s, 6H), 2.19 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.65 (m, 1H), 1.45 - 1.60 (m, 2H).

[0244] Production step 1-9

3''-Azido-2''-O-benzyl-3''-deoxy-2-hydroxyl-1,3,2',6'-tetra-N-tosyldibekacin

10 [Chemical formula 53]



[0245] A 0.1% solution (118 mL) of sodium methoxide in methanol was added to 5.91 g of the compound produced in production step 1-8, and the mixture was allowed to react at room temperature. A 28% solution (1.74 mL) of sodium methoxide in methanol was added to the reaction solution 50 min after the start of the reaction. After 1.5 hr, the reaction solution was neutralized and adjusted to pH 6 to 7 with Dowex 50W x 2 (H<sup>+</sup> form, 200 - 400 mesh, substituted with MeOH). Next, the resin was removed from the reaction solution by filtration, and the insolubles were washed five times or more with methanol. The filtrate and the wash liquid were combined and were concentrated to dryness to give 5.2 g of the crude title compound. This compound as such was used in the next reaction.

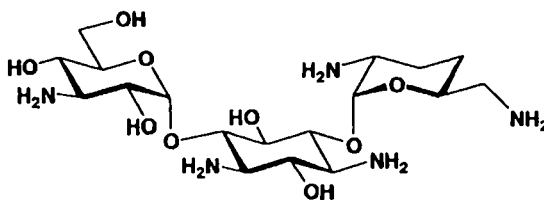
Rf value 0.39 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3)

ESIMS: m/z 1222 [M + Na]<sup>+</sup>

[0246] Production step 1-10

2-Hydroxydibekacin

## [Chemical formula 54]



[0247] Liquid ammonia (about 10 mL) was stored at -50°C in an egg-plant type flask containing 45.7 mg of the compound produced in production step 1-9. Next, 70 mg of metallic sodium was added to the egg-plant type flask at -50°C, and the mixture was vigorously stirred with a glass stirrer bar for 2 hr. Methanol was slowly added to the egg-plant type flask until the color of radicals disappeared. The mixture was returned to room temperature to evaporate ammonia and was finally concentrated to dryness with an evaporator. Water (3 mL) was added to the egg-plant type flask, and the contents of the flask were adjusted to pH 4 to 5 with Dowex 50W × 2 (H<sup>+</sup> form). The contents of the flask together with the resin were added to a column packed with 2 mL of the same resin. The column was washed with 20 mL of water, was eluted with 1 M aqueous ammonia. Ninhydrin positive fractions were combined and were concentrated to dryness to give 20.1 mg of a crude product. This was brought to an aqueous solution (10 mL) which was then added to a CM-Sephadex C-25 column (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia, 10 mL). The column was washed with water (10 mL). Next, elution was carried out while successively changing the concentration of aqueous ammonia from 0.05M (50 mL) to 0.2 M (100 mL, 2 mL cut), and the corresponding fraction was concentrated to dryness to give 16.4 mg of the title compound (monocarbonate-monohydrate, yield 79%).

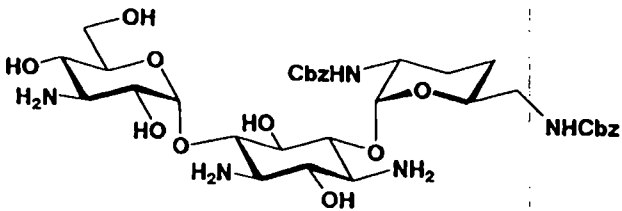
[0248] R<sub>f</sub> value 0.35 (1-butanol : ethanol : chloroform : 17% aqueous ammonia = 4 : 7 : 2 : 7).

ESIMS: m/z 490 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 5.12 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 5.01 (d, 1H, J = 4 Hz), 3.88 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 3.75 (dd, 1H, J

= 2.5, 12 Hz), 3.68 (dd, 1H, J = 5, 12 Hz), 3.66 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.46 (dd, 1H, J = 4, 10 Hz), 3.35 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.28 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.27 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.10 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.99 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.83 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.80 (m, 1H), 2.79 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.66 (dd, 1H, J = 4.5, 13 Hz), 2.62 (dd, 1H, J = 7, 13 Hz), 1.68 - 1.77 (m, 2H), 1.60 (m, 1H), 1.37 (m, 1H).  
 [0249] <sup>13</sup>C-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 102.62, 101.41, 85.70, 84.53, 75.36, 74.00, 73.67, 72.89, 71.83, 70.35, 61.35, 57.67, 56.81, 55.65, 51.35, 46.60, 28.97, 27.45.

[0250] Production step 1-11  
2',6'-Di-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxydibekacin  
 [Chemical formula 55]



[0251] Nickel acetate tetrahydrate (1136 mg) was added to the compound (625 mg; as calculated as monocarbonate-monohydrate) produced in production step 1-10. Methanol (25 mL) was added to thereto, and the mixture was treated with an ultrasonic cleaner to give a homogeneous solution. N-Benzyloxycarbonyloxysuccinimide (626 mg) was added little by little to the solution under ice cooling over a period of about 2 min. The mixture was stirred under ice cooling for one hr, was returned to room temperature, and was further stirred for 2.5 hr. Next, 57 mg of N-benzyloxycarbonyloxysuccinimide was added to the reaction solution under ice cooling, was returned to room temperature, and was further stirred for 2 hr. The reaction solution was concentrated to dryness. Concentrated aqueous ammonia (30 mL) saturated with sodium chloride was added to the residue, and the mixture was extracted three times with 20 mL of 1-butanol. The butanol layer thus obtained was concentrated to dryness. N,N-Dimethylformamide was added to 1423 mg of

the residue and was filtered through Celite. The substance on the Celite was washed with N,N-dimethylformamide (20 mL × 1, 10 mL × 4). The filtrate and the wash liquid were concentrated to dryness to give 1222 mg of a crude product.

- 5 [0252] Rf value 0.60 (1-butanol : ethanol : chloroform : 17% aqueous ammonia = 4 : 7 : 2 : 7)

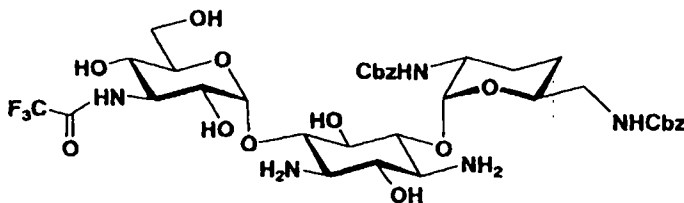
ESIMS: m/z 758 [M + Na]<sup>+</sup>

- <sup>1</sup>H-NMR (Pyridine-d<sub>5</sub>): δ 8.35 (br. s, 1H), 7.90 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.15 - 7.55 (m, 10H), 5.62 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.41 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.33 (s, 2H), 5.30 (ABq, 1H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 5.14 (ABq, 1H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 4.64 (m, 1H), 4.44 (dd, 1H, J = 2, 12 Hz), 4.42 (m, 1H), 4.28 (dd, 1H, J = 5, 12 Hz), 4.24 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.20 (dd, 1H, J = 3, 10 Hz), 4.05 (m, 1H), 4.04 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.90 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.85 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.68 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.60 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.52 (m, 1H), 3.39 (m, 1H), 3.29 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.11 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.05 (m, 1H), 1.89 (dq, 1H, J = 3.5, 13, 13, 13 Hz), 1.64 (m, 1H), 1.43 (q, 1H, J = 13, 13, 13 Hz).

- 20 [0253] Production step 1-12

2',6'-Di-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxy-3''-N-trifluoroacetyl  
tyldibekacin

[Chemical formula 56]



- 25 The crude product (1222 mg) produced in production step 1-11 was dissolved in 17 mL of anhydrous N,N-dimethylformamide. Ethyl trifluoroacetate (0.15 mL) was added to the solution with stirring under ice cooling. The mixture was returned to room temperature and was stirred for 8  
30 hr. The reaction solution was concentrated to dryness to give 1416 mg of the product.

Rf value 0.42 (lower layer part of a solution of



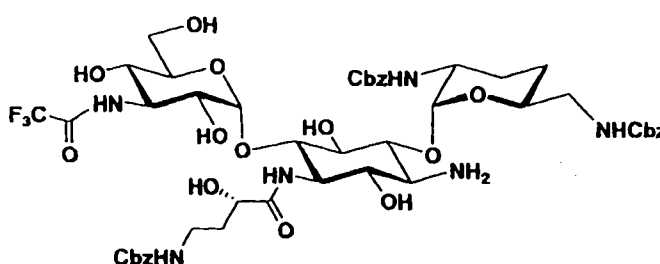
chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) = 1 : 1 : 1 was used)

[0254]  $^1\text{H-NMR}$  (Pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  10.65 (d, 1H,  $J = 9$  Hz), 8.35 (br. s, 1H), 7.89 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz), 7.10 - 7.55 (m, 10H), 5.70 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 5.41 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 5.33 (s, 2H), 5.30 (ABq, 1H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 5.26 (ABq, 1H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 5.18 (m, 1H), 4.77 (m, 1H), 4.58 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.50 (dd, 1H,  $J = 3, 10$  Hz), 4.31 - 4.46 (m, 3H), 4.18 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.04 (m, 1H), 3.96 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.82 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.71 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.51 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.31 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.10 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.05 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 1.64 (m, 1H), 1.43 (m, 1H).

[0255] Production step 1-13

15 1-N-(4-Benzyloxycarbonylamino-2-(S)-hydroxybutyryl)-2',6'-di-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxy-3"-N-trifluoroacetyldibekacin

[Chemical formula 57]



[0256] The product (438 mg) produced in production step 20 1-12 was dissolved in 6.2 mL of tetrahydrofuran. A solution (2 mL) of 149 mg of an (S)-4-N-benzyloxycarbonylamino-2-hydroxybutyric acid succinimide ester synthesized according to a report of Kawaguchi et al. (Journal of Antibiotics, Vol. 25, pp. 695 to 708 25 (1972)) in tetrahydrofuran was added dropwise to the solution with stirring under ice cooling over a period of 2 min, and the mixture was returned to room temperature and was stirred. A solution (2 mL) of 149 mg of an N-benzyloxycarbonyl-4-amino-2-(S)-hydroxybutyrylic acid 30 succinimide ester in tetrahydrofuran was added to the reaction solution with stirring under ice cooling 19 hr after the start of

stirring, and the mixture was returned to room temperature and was stirred. After 20.5 hr, the reaction solution was concentrated to dryness.

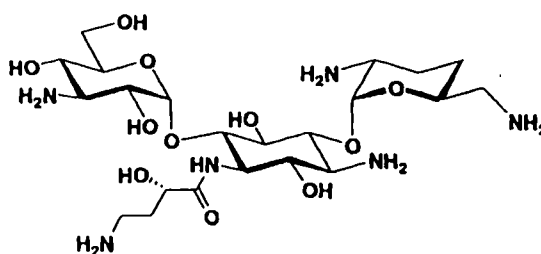
Ethyl acetate (70 mL) was added to the residue, and the mixture was washed twice with 14 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and twice with 14 mL of water and was concentrated to dryness to give 571 mg of the reaction mixture.

R<sub>f</sub> value 0.59 (lower part of a solution of chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) = 1 : 1 : 1 was used)

[0257] Production step 1-14

2-Hydroxyarbakacin

[Chemical formula 58]



15

[0258] Tetrahydrofuran (22.8 mL) and 17.8 mL of 3.5 M aqueous ammonia were added to 571 mg of the reaction mixture produced in production step 1-13, and the mixture was stirred at room temperature for 20 hr. The reaction solution was concentrated to dryness. Tetrahydrofuran-acetic acid-water (4 : 1 : 1) (22 mL) was added to 624 mg of the residue. Further, 12 drops of a suspension of palladium black in water was added, and the mixture was stirred at the atmospheric pressure for 6 hr while blowing a hydrogen gas into the system. Next, palladium black was removed from the reaction solution by filtration. The removed palladium black was washed with water, and the filtrate and the wash liquid were combined and were concentrated to dryness. 2 M aqueous ammonia (15 mL) was added to the residue, and the mixture was allowed to stand at room temperature overnight. The insolubles were removed by filtration through a cotton

stopper, followed by concentration to dryness to give 467 mg of a crude product. The crude product was dissolved in water to give 50 mL of an aqueous solution, and the aqueous solution added to a CM-Sephadex C-25 column (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia, 50 mL). The column was washed with 100 mL of 0.005 M aqueous ammonia, and elution was carried out with aqueous ammonia with 0.05 M (250 mL) to 0.5 M (500 mL) and further 0.75 M (500 mL). The corresponding fractions were concentrated to give 39.1 mg of the title compound:

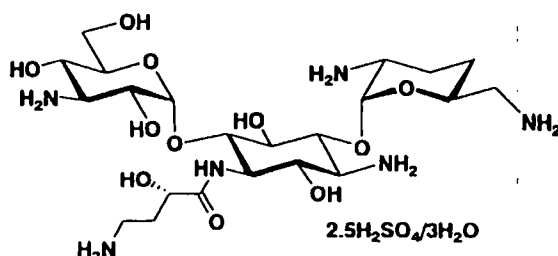
2-hydroxyarbakacin.

[0259]  $^1\text{H-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  5.13 (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz), 5.03 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.16 (dd, 1H,  $J = 4, 9.5$  Hz), 3.98 (m, 1H), 3.83 - 3.90 (m, 2H), 3.65 - 3.77 (m, 4H), 3.37 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.34 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.32 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.25 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.97 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.86 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.82 (m, 1H), 2.70 - 2.78 (m, 2H), 2.65 (dd, 1H,  $J = 5, 13$  Hz), 2.62 (dd, 1H,  $J = 7, 13$  Hz), 1.86 - 1.96 (m, 1H), 1.69 - 1.80 (m, 3H), 1.61 (dq, 1H,  $J = 4, 13, 13, 13$  Hz), 1.37 (dq, 1H,  $J = 4, 13, 13, 13$  Hz).

[0260]  $^{13}\text{C-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  177.84, 102.09, 98.99, 83.65, 78.17, 75.41, 72.87, 72.23, 71.71, 71.28, 70.45, 69.81, 60.79, 56.60, 56.15, 54.88, 50.71, 46.02, 38.26, 37.23, 28.39, 26.94.

[0261] Example 2

25 2-Hydroxyarbakacin 2.5 sulfate trihydrate  
[Chemical formula 59]



[0262] The compound (2-hydroxyarbakacin; 126.8 mg) represented by formula (I) produced in production step 1-14 of Example 1 was brought to an aqueous solution. The aqueous solution was adjusted to pH 7.0 by the addition of 0.1 M sulfuric

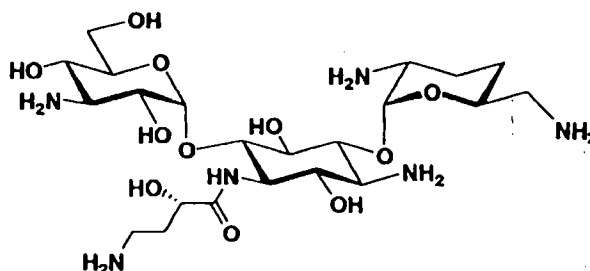
acid and was lyophilized to give 147.3 mg of 2.5 sulfate (trihydrate) of the title compound.

[0263] Calcd. for  $C_{22}H_{44}N_6O_{11} \cdot 2.5H_2SO_4 \cdot 3H_2O$ . C, 30.45; H, 6.39; N, 9.67.

5 Found, C, 30.41; H, 6.45; N, 9.46.

[0264] Example 3: Production of 2-hydroxyarbakacin

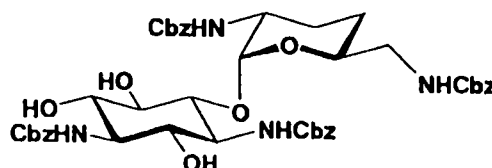
[Chemical formula 60]



[0265] Production step 3-1

10 1,3,2',6'-Tetra-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxy-2-hydroxyneamine

[Chemical formula 61]



[0266] Process A: The compound (16.5g, 38.3 mmol: calculated as dicarbonate) produced in production step 1-6 was dissolved in water (83 ml). Dimethoxyethane (165 ml) was added to the solution, and the mixture was then stirred. N-Benzyloxycarbonyloxysuccinimide (66.8 g, 268 mmol) was added thereto, triethylamine (56.0 ml, 402 mmol) was then added, and the mixture was stirred overnight (heat up to about 45°C was generated). Ethyl acetate (490 ml) and water (83 mL) were added to the reaction solution followed by separation. The organic layer was washed with a saturated aqueous sodium hydrogencarbonate solution (247 mL) and a 10% aqueous sodium thiosulfate solution (247 mL) in that order. The organic layer was dried over anhydrous magnesium sulfate, was filtered, and was then concentrated under the reduced pressure. Methanol (133 ml) was added to the residue (as a foam), and

15

20

25

the mixture was stirred on a water bath heated to 60°C. As a result, crystals were precipitated. The mixture was stirred at room temperature overnight (slurry washing). The precipitated crystals were collected by filtration and were dried under the reduced pressure at 40°C overnight to give the title compound (yield 33.8 g, quantitative).

[0267] Process B: The compound (303 g, 704 mmol as dicarbonate) produced in production step 1-6 was dissolved in water (1.5 L), and 1,2-dimethoxyethane (3.0 L) was added to the solution. N-Benzyloxycarbonyloxysuccinimide (1229 g, 4.93 mol, 7.0 eq.) was added thereto, and triethylamine (1013 mL, 7.40 mol, 10.5 eq.) was then added, and the mixture was stirred overnight. Ethyl acetate (9.1 L) and water (1.5 L) were added to the reaction solution, followed by separation. The water layer was again extracted with ethyl acetate : 1,2-dimethoxyethane = 3 : 1 (1.8 L). The organic layers were combined and were washed once with a 5% aqueous sodium hydrogencarbonate solution (4.6 L) and once with a 10% aqueous sodium thiosulfate solution (4.6 L). The organic layer was dried over anhydrous magnesium sulfate, and the solvent was then removed by distillation under the reduced pressure. Methanol (2.4 L) was added to the residue, and the mixture was stirred at room temperature overnight. The precipitated crystal was filtered to give the title compound (619.1 g, 734 mmol, yield 104 %).

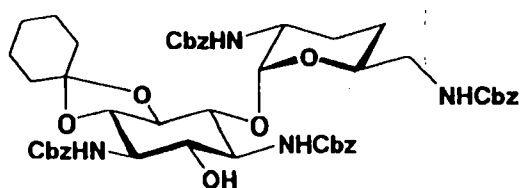
[0268] APIMS:  $m/z$  843  $[M + H]^+$

$^1\text{H-NMR}$  (Pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  7.73 (d, 1H,  $J = 6.9$  Hz), 7.12 - 7.56 (m, 22H), 6.82 - 6.95 (m, 1H), 5.67 (d, 1H,  $J = 2.9$  Hz), 5.12 - 5.31 (m, 8H), 4.26 - 4.40 (m, 1H), 3.90 - 4.30 (m, 7H), 3.35 - 3.50 (m, 2H), 1.85 - 2.01 (m, 2H), 1.43 - 1.65 (m, 2H).

[0269] Production step 3-2

1,3,2',6'-Tetra-N-benzyloxycarbonyl-5,6-O-cyclohexylidene-3',4'-dideoxy-2-hydroxyneamine

[Chemical formula 62]



[0270] Process A: The compound (2.0 g, 2.4 mmol) produced in production step 3-1 was dissolved in dimethoxyethane (40 mL). 1,1-Dimethoxycyclohexane (0.54 mL, 3.56 mmol) and pyridinium p-toluenesulfonate (PPTS) (0.060 g, 0.24 mmol) were added to the solution, and the mixture was stirred on an oil bath at 110°C for 2 hr with an apparatus comprising a dropping funnel containing molecular sieves 5A 1/16 (30 g, 40 mL) and a Dimroth condenser provided on the dropping funnel (internal temperature 85°C). Ethyl acetate (40 mL) and a saturated aqueous sodium hydrogencarbonate solution (40 mL) were added to the reaction solution, followed by separation. The organic layer was washed with a saturated aqueous NaCl solution and was dried over anhydrous magnesium sulfate and was then concentrated under the reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (hexane : ethyl acetate = 2 : 1 to 1 : 3, chloroform : methanol = 9 : 1) to give the title compound (1.75 g, 1.89 mmol, yield 80%).

[0271] Process B: The compound (150 g, 178 mmol) produced in production step 3-1 was suspended in 1,2-dimethoxyethane (3.0 L). 1,1-Dimethoxycyclohexane (38.5 g, 267 mmol, 1.5 eq.) and pyridinium p-toluenesulfonate (4.47 g, 17.8 mmol, 0.1 eq.) were added, and the mixture was heated and was refluxed while passing through 1.5 kg of molecular sieves 5A (1/16) for 4 hr. The reaction mixture was diluted with ethyl acetate (3 L) and was washed once with a 5% aqueous sodium hydrogencarbonate solution (4.6 L) and once with a 10% aqueous sodium thiosulfate solution (3 L). The organic layer was dried over anhydrous magnesium sulfate, and the solvent was then removed by distillation under the reduced

pressure. The same reaction was further carried out three more times. The residues were combined and were purified by chromatography on silica gel to give the title compound. Developing solvent = hexane : ethyl acetate = 2 : 1 → 1 : 1 →

5 1 : 2 → 1 : 3. (557.93 g, 604 mmol, yield 85 %).

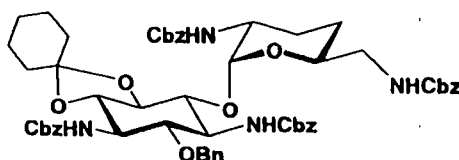
[0272] APIMS:  $m/z$  923  $[M + H]^+$

$^1H$ -NMR (Pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  7.96 (d, 1H,  $J = 6.2$  Hz), 7.68 (d, 1H,  $J = 6.8$  Hz), 7.22 - 7.57 (m, 20H), 6.75 - 7.05 (m, 2H), 5.57 (s, 1H), 5.12 - 5.35 (m, 8H), 3.96 - 4.45 (m, 6H), 3.92 (t, 10  
1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.79 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.30 - 3.47 (m, 2H), 1.77 - 2.00 (m, 2H), 1.45 - 1.70 (m, 10H), 1.16 - 1.35 (m, 2H).

[0273] Production step 3-3

15 2-Benzzyloxy-1,3,2',6'-tetra-N-benzyloxycarbonyl-5,6-O-cyclohexylidene-3',4'-dideoxyneamine

[Chemical formula 63]



[0274] Process A: Tetrahydrofuran (99 mL) was added to  
20 the compound (4.970 g, 5.38 mmol) produced in production  
step 3-2. A 60% sodium hydride (0.26 g, 6.50 mmol)  
dispersion in paraffin liquid and benzyl bromide (1.15 mL, 9.67  
mmol) were added at an internal temperature of 4°C, and the  
mixture was stirred at an internal temperature of 7 to 8°C for  
25 21 hr. A saturated aqueous ammonium chloride solution (10  
mL) was added thereto at an internal temperature of 4°C, and  
the mixture was adjusted to pH 7, followed by separation with  
100 mL of ethyl acetate and 50 mL of water. The organic layer  
was dried over magnesium sulfate, and the solvent was  
30 removed by distillation under the reduced pressure. The  
residue was purified by column chromatography on silica gel  
(toluene : ethyl acetate = 3 : 1) to give the title compound  
(4.492 g, 4.43 mmol, yield 83%).

[0275] Process B: The compound (396 g, 429 mmol) produced in production step 3-2 was dissolved in a mixed solution composed of tetrahydrofuran (8 L) and N,N-dimethylformamide (158 mL), and the solution was cooled to 5°C. Sodium hydride (dispersion in paraffin liquid, 60%; 20.6 g, 515 mmol, 1.2 eq.) and benzyl bromide (91.8 mL, 772 mmol, 1.8 eq.) were added to the solution, and the mixture was stirred at the same temperature for 6 hr. A 10% aqueous ammonium chloride solution (8 L) was added thereto to stop the reaction, and the mixture was extracted with ethyl acetate (8 L). The organic layer was washed once with 20% brine (8 L) and once with a 10% aqueous sodium thiosulfate solution (8 L) and was dried over anhydrous magnesium sulfate. The solvent was then removed by distillation under the reduced pressure. The residue was purified by chromatography on silica gel to give the title compound. Developing solvent = hexane : ethyl acetate = 1 : 1 → 1 : 3 (320.24 g, 316 mmol, yield 74 %).

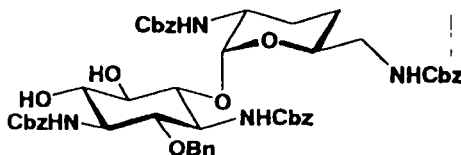
[0276] APIMS:  $m/z$  1014  $[M + H]^+$

$^1\text{H-NMR}$  (Pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  8.08 - 8.16 (m, 1H), 7.88 - 7.96 (m, 1H), 7.10 - 7.48 (m, 25H), 6.70 - 6.95 (m, 2H), 5.53 (s, 1H), 5.15 - 5.46 (m, 8H), 4.91 (AB, 2H,  $J_{\text{gem}} = 11$  Hz), 4.40 - 4.51 (m, 1H), 4.20 - 4.35 (m, 2H), 3.93 - 4.16 (m, 4H), 3.72 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.32 - 3.50 (m, 2H), 1.77 - 2.00 (m, 2H), 1.45 - 1.72 (m, 10H), 1.15 - 1.35 (m, 2H).

[0277] Production step 3-4

2-Benzoyloxy-1,3,2',6'-tetra-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxyneamine

[Chemical formula 64]



[0278] Process A: The compound (22.75 g, 22.5 mmol) produced in production step 3-3 was dissolved in a mixed solution composed of chloroform (460 mL) and methanol (46 mL), and the solution was cooled to 7°C. 90% trifluoroacetic



acid (46 mL) was added to the cooled solution, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. The solvent was removed by distillation under the reduced pressure. Methanol (460 mL) was added to the residue, and the mixture was subjected to slurry washing for 2 hr, followed by filtration to give the title compound (19.47 g, 0.9 mmol, yield 93 %).

[0279] Process B: The compound (376 g, 371 mmol) produced in production step 3-3 was dissolved in a mixed solution composed of chloroform (7.5 L) and methanol (750 mL), and the mixture was cooled to 10°C. 90% trifluoroacetic acid (750 mL) was added to the cooled solution, and the mixture was stirred at 20°C for 3 hr 20 min. The solvent was removed by distillation under the reduced pressure. Methanol (7.5 L) was added to the residue, and the slurry was stirred overnight and was filtered to give the title compound (313 g, 335 mmol, yield 90%).

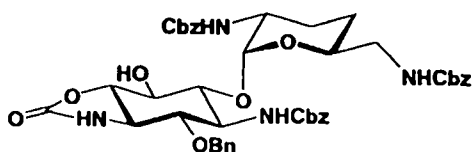
[0280] APIMS:  $m/z$  933  $[M + H]^+$

$^1\text{H-NMR}$  (Pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  7.86 (d, 1H,  $J = 6.6$  Hz), 7.62 - 7.70 (m, 1H), 7.10 - 7.55 (m, 26H), 6.80 - 6.95 (m, 1H), 5.64 (d, 1H,  $J = 2.9$  Hz), 5.13 - 5.37 (m, 8H), 4.91 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.29 - 4.37 (m, 3H), 3.90 - 4.17 (m, 3H), 4.02 (dd, 1H,  $J = 9.1, 10$  Hz), 3.94 (dd, 1H,  $J = 8.8, 9.0$  Hz), 3.92 - 3.52 (m, 2H), 1.86 - 2.04 (m, 2H), 1.47 - 1.66 (m, 2H).

[0281] Production step 3-5

25 2-Benzyloxy-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-1,6-N,O-carbonyl-3',4'-dideoxyneamine

[Chemical formula 65]



[0282] Process A: The compound (19.291 g, 20.7 mmol) produced in production step 3-4 was dissolved in  $N,N$ -dimethylformamide (390 mL), and the solution was cooled to 3°C. Sodium hydride (60%, in oil; 4.968 g, 0.124 mol) was added to the cooled solution, and the mixture was stirred at the

same temperature for 1.5 hr. The reaction mixture was adjusted to pH about 7 under ice cooling by the addition of a saturated aqueous ammonium chloride solution (400 mL). Ethyl acetate (800 mL) and a saturated aqueous ammonium chloride solution (400 mL) were added thereto, and the mixture was stirred, followed by separation. The organic layer was washed twice with a 5% aqueous ammonium chloride solution (800 mL) and was then dried over magnesium sulfate. The solvent was removed by distillation under the reduced pressure. Methanol (400 mL) was added to the residue. A seed crystal was added thereto, and a contemplated product was crystallized with gentle stirring. The crystals were collected by filtration to give the title compound. The mother liquor was concentrated under the reduced pressure, and the residue was subjected to slurry washing with methanol/diisopropyl ether (1/1; 100 mL) to further give the title compound (15.70 g, 19.0 mmol, yield 92%).

[0283] Process B: The compound (293 g, 314 mmol) produced in production step 3-4 was cooled in N,N-dimethylformamide (5.9 L), and the solution was cooled to 3°C. Sodium hydride (dispersion in paraffin liquid, 60%; 75.4 g, 1.88 mol, 6.0 eq.) was added to the cooled solution, and the mixture was stirred at the same temperature for one hr. The reaction mixture was poured into a two-layer solution of a 20% aqueous ammonium chloride solution (12 L) and ethyl acetate (5 L) with vigorous stirring under ice cooling. Further, ethyl acetate (7 L) was added thereto, and the mixture was stirred, followed by separation. The organic layer was washed twice with a 5% aqueous ammonium chloride solution (12 L) and was dried over anhydrous magnesium sulfate. The solvent was removed by distillation under the reduced pressure. Methanol (5.9 L) was added to the residue, and the mixture slurry was stirred overnight and was then filtered to give the title compound (248 g, 301 mmol, yield 95%).

[0284] APIMS: m/z 825 [M + H]<sup>+</sup>

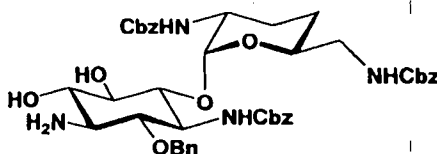
<sup>1</sup>H-NMR (Pyridine-d<sub>5</sub>): δ 8.80 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.17 -

8.24 (m, 1H), 7.75 - 7.53 (m, 1H), 7.12 - 7.53 (m, 20H), 6.93 - 7.10 (m, 1H), 5.22 (d, 1H,  $J = 3.1$  Hz), 5.11 - 5.39 (m, 6H), 4.88 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 3.95 - 4.38 (m, 7H), 3.73 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.38 - 3.53 (m, 2H), 1.77 - 1.95 (m, 2H), 1.45 - 1.72 (m, 2H).

[0285] Production step 3-6

2-Benzoyloxy-3,2',6'-tri-N-benzoyloxycarbonyl-3',4'-dideoxy neamine

[Chemical formula 66]



10

[0286] Process A: The compound (822 mg, 0.997 mmol) produced in production step 3-5 was dissolved in a mixed liquid composed of 1,4-dioxane (25 mL) and water (25 mL). Sodium carbonate (127 mg, 1.20 mmol) was added to the solution, and the mixture was stirred at 80°C for 5 hr. The reaction mixture was cooled and was extracted once with chloroform (50 mL) and once with a mixed liquid composed of chloroform (25 mL) and methanol (25 mL). The extract was dried over magnesium sulfate. The solvent was removed by distillation under the reduced pressure. The residue was dissolved in ethyl acetate (16 mL). A seed crystal was added to the solution, and a contemplated product was crystallized with gentle stirring, followed by filtration to give compound 7. The mother liquor was concentrated under the reduced pressure, and the residue was subjected to slurry washing with ethyl acetate/diisopropyl ether (1/1; 4 mL) to further give the title compound (617 mg, 0.772 mmol, yield 77%).

[0287] Process B: The compound (228 g, 276 mmol) produced in production step 3-5 was dissolved in a mixed liquid composed of 1,4-dioxane (6.8 L) and water (6.8 L). Sodium carbonate (29.30 g, 276 mmol, 1.0 eq.) was added the solution, and the mixture was stirred at 80°C for 6 hr. The reaction mixture was cooled, and sodium chloride (1.37 kg) was

30

dissolved therein, and the mixture was extracted with chloroform (13.7 L). The extract was dried over anhydrous magnesium sulfate. The solvent was then removed by distillation under the reduced pressure to give the title compound (157.87 g, 198 mmol, yield 71%).

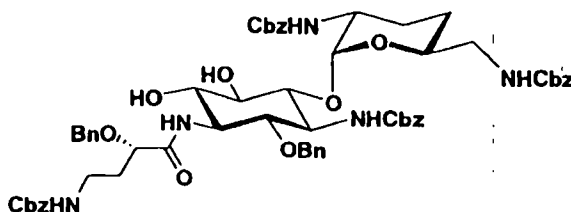
[0288] FABMS:  $m/z$  799  $[M + H]^+$

$^1H$ -NMR (Pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  7.10 - 7.60 (m, 22H), 6.65 - 6.90 (m, 1H), 5.66 (d, 1H,  $J = 2.9$  Hz), 5.34 (s, 2H), 5.24 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 13$  Hz), 5.21 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 13$  Hz), 4.97 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 11$  Hz), 3.64 - 4.36 (m, 5H), 3.89 (t, 1H,  $J = 9.0, 9.0$  Hz), 3.54 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.39 - 3.50 (m, 2H), 3.07 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 1.87 - 2.02 (m, 2H), 1.45 - 1.65 (m, 2H).

[0289] Production step 3-7

1-N-[(S)-4-Benzyloxycarbonylamino-2-benzyloxybutyryl]-2-benzyloxy-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxyneamine

[Chemical formula 67]



[0290] Process

A:

(S)-2-Benzyloxy-4-benzyloxycarbonylamino-butyric acid (9.065 g, 26.4 mmol) synthesized in Reference Example 1 was dissolved in tetrahydrofuran, and the solution was cooled to 2°C. N-Hydroxysuccinimide (3.038 g, 26.4 mmol) and dicyclohexylcarbodiimide (5.447 g, 26.4 mmol) were added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. The insolubles were filtered to give an active ester solution. The compound (10.552 g, 13.2 mmol) produced in production step 3-6 was dissolved in tetrahydrofuran (210 mL). Triethylamine (3.7 mL, 27 mmol) and the active ester solution were added to the solution, and the mixture was stirred at 50°C for 3.5 hr. The reaction mixture was diluted with chloroform

(800 mL), washed with a saturated sodium hydrogencarbonate solution (800 mL) and was then dried over magnesium sulfate. The solvent was removed by distillation under the reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (chloroform : ethyl acetate = 1 : 1 → chloroform : methanol = 30 : 1 → 20 : 1) to give the title compound (11.352 g, 10.1 mmol, yield 76 %).

[0291] Process

B:

(S)-2-Benzyloxy-4-benzyloxycarbonylamino-butyric acid

10 (101.78 g, 296 mmol, 1.5 eq.) synthesized in Reference Example 1 was dissolved in tetrahydrofuran (2.04 L), and the solution was cooled to 3.4°C. N-Hydroxysuccinimide (37.53 g, 326 mmol, 1.65 eq.) and dicyclohexylcarbodiimide (67.28 g, 326 mmol, 1.65 eq.) were added to the cooled solution, and the mixture was stirred at 25°C for 3 hr. The insolubles were filtered to give an active ester solution. The compound (157.87 g, 198 mmol) produced in production step 3-6 was dissolved in tetrahydrofuran (3.16 L). Triethylamine (41.34 mL, 296 mmol, 1.5 eq.) and the active ester solution were added to the solution, and the mixture was stirred at 53°C for 4.5 hr. The stirred mixture was then diluted with chloroform (12.63 L), and the diluted solution was washed with a 5% aqueous sodium hydrogencarbonate solution (12.63 L) and was then dried over anhydrous magnesium sulfate. The solvent was removed by distillation under the reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel to give the title compound. Developing solvent = chloroform : acetone = 3.5 : 1 → 3 : 1 → chloroform : methanol = 30 : 1 → 20 : 1. (158.45 g, 140 mmol, yield 71%).

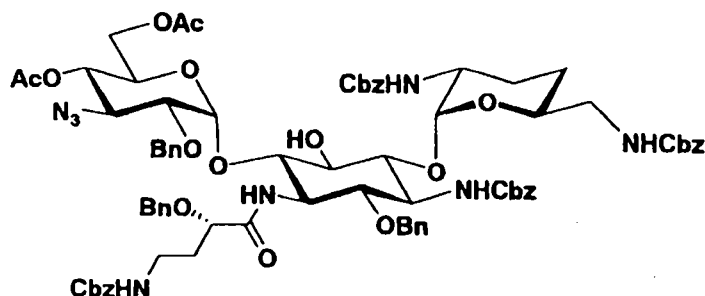
30 [0292] LCMS:  $m/z$  1124  $[M + H]^+$

$^1\text{H-NMR}$  (Pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  8.15 (d, 1H,  $J = 8.3$  Hz), 7.60 - 7.72 (m, 1H), 7.10 - 7.55 (m, 32H), 6.83 - 7.00 (m, 1H), 5.65 (d, 1H,  $J = 2.9$  Hz), 5.12 - 5.36 (m, 8H), 4.98 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 11, 11$  Hz), 4.60 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12, 12$  Hz), 3.90 - 4.49 (m, 8H), 4.08 (t, 1H,  $J = 9.8, 9.8$  Hz), 3.38 - 3.70 (m, 4H), 2.20 - 2.36 (m, 2H), 1.85 - 2.01 (m, 2H), 1.45 - 1.65 (m, 2H).

## [0293] Production step 3-8

4",6"-Di-O-acetyl-3"-azido-2",2'''-di-O-benzyl-1,3,2',6'-tetra-N-benzyloxycarbonyl-3"-deoxy-2-hydroxylarbekacin

[Chemical formula 68]



5

[0294] The compound (11.249 g, 10.0 mmol) produced in production step 3-7 and 4,6-di-O-acetyl-3-azido-2-O-benzyl-1,3-dideoxy-1-phenylthio- $\alpha$ -D-glucopyranose (9.440 g, 20.0 mmol), which had been dried under the reduced pressure for 2 hr, were dissolved in methylene chloride (225 mL). Molecular sieves 4A (powder, 33.7 g), which had been dried under the reduced pressure for 2 hr, was added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature under an argon atmosphere for one hr. The reaction vessel was brought to a light shielded state and was cooled to  $-20^{\circ}\text{C}$ . N-Iodosuccinimide (10.811 g, 48.1 mmol) and trifluoromethanesulfonic acid (178 mL, 2.01 mmol) were added thereto, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. N-Iodosuccinimide (5.405 g, 24.0 mmol) and trifluoromethanesulfonic acid (88 mL, 0.99 mmol) were added, and the mixture was stirred at room temperature for additional two hr. Triethylamine (431 mL, 3.09 mmol) was added under ice cooling to stop the reaction. The insolubles were filtered, and the organic layer was washed once with a saturated aqueous sodium hydrogencarbonate solution (500 mL) and twice with a 10% aqueous sodium thiosulfate solution and was dried over magnesium sulfate. The solvent was removed by distillation under the reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (chloroform : acetone = 10 : 1  $\rightarrow$  : /1  $\rightarrow$  chloroform : methanol = 10 : 1) to

30

give the title compound (9.388 g, 6.32 mmol, yield 63%). The compound (3.16 g, 2.81 mmol) produced in production step 3-7 remaining unreacted was recovered.

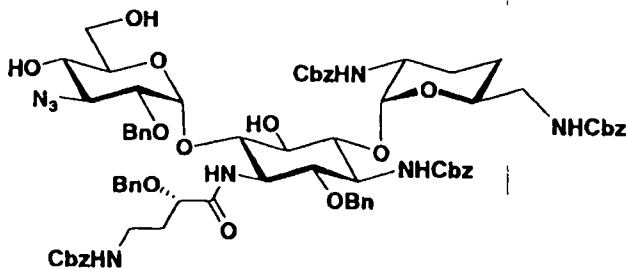
[0295] LCMS: m/z 1485 [M + H]<sup>+</sup>

5 <sup>1</sup>H-NMR (Pyridine-d<sub>5</sub>): δ 8.30 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 7.75 - 7.83 (m, 1H), 7.20 - 7.67 (m, 36H), 6.92 - 7.05 (m, 1H), 6.75 - 6.90 (m, 1H), 5.92 (d, 1H, J = 3.4 Hz), 5.65 (d, 1H, J = 2.9 Hz), 4.94 - 5.35 (m, 12H), 4.62 - 4.76 (m, 4H), 4.35 - 4.50 (m, 3H), 3.92 - 4.35 (m, 9H), 3.71 (dd, 1H, J = 3.4, 10 Hz), 3.34 - 3.62  
10 (m, 4H), 2.18 - 2.43 (m, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.80 - 1.93 (m, 2H), 1.43 - 1.65 (m, 2H).

[0296] Production step 3-9

3''-Azido-2'',2'''-di-O-benzyl-1,3,2',6'-tetra-N-benzyloxycarbonyl-3''-deoxy-2-hydroxylarbekacin

15 [Chemical formula 69]



[0297] The compound (8.819 g, 5.94 mmol) produced in production step 3-8 was dissolved in a mixed liquid composed of chloroform (180 mL) and methanol (90 mL). 0.5 M sodium methoxide (a methanol solution, 3.6 mL, 1.8 mmol) was added  
20 to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. Acetic acid (0.14 mL, 2.4 mmol) was added thereto, and the mixture was washed with a saturated aqueous sodium carbonate solution (250 mL). The water layer  
25 was again extracted with chloroform (200 mL). The combined organic layers were dried over magnesium sulfate, and the solvent was removed by distillation under the reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (chloroform : methanol = 30 : 1) to give the title compound  
30 (7.263 g, 5.18 mmol, yield 87%).

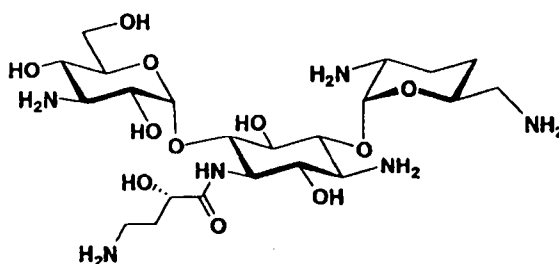
[0298] LCMS: m/z 1401 [M + H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (Pyridine-d<sub>5</sub>): δ 8.11 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 7.50 - 7.62 (m, 1H), 7.10 - 7.58 (m, 35H), 6.96 - 7.10 (m, 1H), 6.80 - 6.96 (m, 1H), 6.14 - 6.23 (m, 1H), 5.50 - 5.65 (m, 3H), 5.12 - 5.33 (m, 8H), 4.91 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 11, 11 Hz), 4.83 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12, 12 Hz), 4.58 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12, 12 Hz), 3.85 - 4.51 (m, 14H), 3.37 - 3.64 (m, 5H), 2.20 - 2.42 (m, 2H), 1.80 - 1.95 (m, 2H) 1.45 - 1.65 (m, 2H).

[0299] Production step 3-10

2-Hydroxyarbakacin

10 [Chemical formula 70]



[0300] The compound (154 mg, 0.110 mmol) produced in production step 3-9 was dissolved in 3 mL of a solution of 1,4-dioxane : water : 1 N hydrochloric acid = 40 : 19 : 1. The solution was adjusted to pH 1.53, a palladium black powder (154 mg) was added thereto, and the mixture was vigorously stirred under a hydrogen atmosphere. The pH value of the reaction system reached 8.50 three hr after the start of vigorous stirring. The reaction mixture was adjusted to pH 1.68 by the addition of 1 N hydrochloric acid (500 μl) and was vigorously stirred under a H<sub>2</sub> atmosphere for 15 hr. The palladium black powder was removed by filtration through a cotton, and the catalyst was washed with water. The filtrate and the wash liquid were combined and were concentrated to dryness. The concentrate was dissolved in water to give a 10-mL solution which was then purified by a Bio Rex 70 column (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia) to give the title compound (51.1 mg, 0.079 mmol, yield 72%).

[0301] LCMS: m/z 569 [M + H]<sup>+</sup>

30 <sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 5.13 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 5.03 (d, 1H, J = 4 Hz), 4.16 (dd, 1H, J = 4, 9.5 Hz), 3.98 (m, 1H),



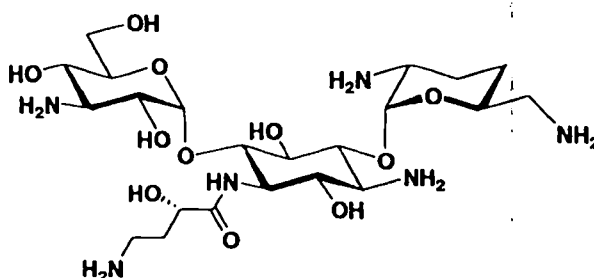
3.83 - 3.90 (m, 2H), 3.65 - 3.77 (m, 4H), 3.37 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.34 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.32 (dd, 1H, J = 4, 10 Hz), 3.25 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.97 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.86 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.82 (m, 1H), 2.70 - 2.78 (m, 2H), 2.65 (dd, 1H, J = 5, 13 Hz), 2.62 (dd, 1H, J = 7, 13 Hz), 1.86 - 1.96 (m, 1H), 1.69 - 1.80 (m, 3H), 1.61 (dq, 1H, J = 4, 13, 13, 13 Hz), 1.37 (dq, 1H, J = 4, 13, 13, 13 Hz).

[0302] Example 4

Production of 2-hydroxyarbakacin

10

[Chemical formula 71]

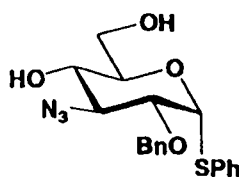


[0303] Production step 4-1

3-Azido-2-O-benzyl-3-deoxy-1-thiophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranose

15

[Chemical formula 72]



Process A: A 0.13% sodium methoxide/methanol solution (40.5 mL) and 13.5 mL of chloroform were added to the compound (2.67 g) of production step 1-5b, and the mixture was allowed to react at room temperature for 1.5 hr. The reaction mixture was neutralized (pH 6 to 7) by the addition of Dowex 50 W  $\times$  2 (H<sup>+</sup> form, substituted by methanol). The resin was removed by filtration followed by washing with methanol (4 mL  $\times$  5). The filtrate and the wash liquid were combined and were concentrated to dryness to give a crude product (2.193 g, quantitative).

[0304] Process B: The compound (26.0 g) produced in production step 1-5b was suspended in 260 mL of methanol, and 33.3 mL of a 0.5 M sodium methoxide/methanol solution was added. The mixture was allowed to react at room temperature for 30 min, and 1 mL of acetic acid was added dropwise. The reaction solution was concentrated to dryness to give a crude product which as such was used in a next reaction.

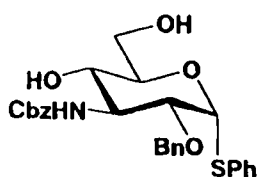
[0305] ESIMS:  $m/z$  388  $[M + H]^+$

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.28 - 7.47 (m, 10H), 5.56 (d, 1H,  $J = 4.6$  Hz), 4.68 - 4.79 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 11.7, 12.3$  Hz), 4.21 (dt, 1H,  $J = 3.9, 9.7$  Hz), 3.70 - 3.81 (m, 4H), 3.45 (t, 1H,  $J = 9.3, 9.5$  Hz).

[0306] Production step 4-2

2-O-Benzyl-3-benzyloxycarbonylamino-1,3-dideoxy-1-ph  
enylthio- $\alpha$ -D-glucopyranose

[Chemical formula 73]



Process A: The compound (2.19 g) produced by process A in production step 4-1 was dissolved in 44 mL (20 v/w) of anhydrous tetrahydrofuran. Triphenylphosphine (7.43 g, 5 folds by mol) was added to the solution, and the mixture was allowed to react at room temperature. Water (0.71 mL, 7 folds by mol), N-benzyloxycarbonyloxysuccinimide (1.83 g, 1.3 folds by mol), and triethylamine (2.37 mL, 3 folds by mol) were added thereto 18.5 hr after the start of the reaction, and the mixture was stirred at room temperature. The reaction mixture was concentrated to dryness 2.5 hr after the start of the stirring at room temperature to give 12.6 g of a crude product.

[0307] Process B: The compound (about 22.0 g) produced by process B in production step 4-1 was dissolved in a mixed liquid (550 mL, 10 v/mol) of tetrahydrofuran/water (1 : 1). Triphenylphosphine (36.1 g, 2.5 folds by mol) was added to the

151

solution, and the mixture was allowed to react at room temperature. N-Benzyloxycarbonyloxysuccinimide (17.84 g, 1.3 folds by mol) and 10 mL (1.3 folds by mol) of triethylamine were added thereto 2 hr after the start of the reaction, and the mixture was stirred at room temperature. The reaction mixture was concentrated to dryness 2.5 hr after the start of the stirring and was washed with ethyl acetate/hexane to give 23.7 g of a crude product (yield in three steps 87%).

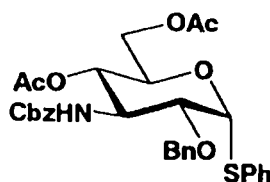
[0308] APIMS:  $m/z$  496  $[M + H]^+$

10  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO):  $\delta$  7.52 (dt, 2H,  $J = 1.5, 7.0$  Hz), 7.23 - 7.36 (m, 13H), 5.78 (d, 1H,  $J = 4.9$  Hz), 5.18 (d, 1H,  $J = 6.8$  Hz), 4.97 - 5.12 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12.7, 12.9$  Hz), 4.48 - 4.71 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12.2$  Hz), 4.55 (t, 1H,  $J = 5.8$  Hz), 3.91 (m, 1H), 3.71 (dd, 1H,  $J = 5.1, 10.7$  Hz), 3.53 (m, 2H).

15 [0309] Production step 4-3

4,6-Di-O-acetyl-2-O-benzyl-3-benzyloxycarbonylamino-1,3-dideoxy-1-phenylthio- $\alpha$ -D-glucopyranose

[Chemical formula 74]



20 Process A: The crude product (12.61 g) produced by process A in production step 4-2 was rendered anhydrous and was dissolved in 56 mL of anhydrous pyridine. Acetic anhydride (5.3 mL, 10 folds by mol) was added to the solution under ice cooling, and the mixture was allowed to react at room temperature for 16 hr. Methanol (4.5 mL) (2 folds by mol as compared with acetic anhydride) was added thereto, and the mixture was allowed to stand at room temperature for 30 min and was concentrated to dryness (azeotropic distillation with toluene: three times). Further, 330 mL of chloroform was added to the residue, and the mixture was washed with a saturated aqueous sodium bicarbonate solution (160 mL  $\times$  3), a 5% aqueous  $\text{KHSO}_4$  solution (160 mL  $\times$  3), and distilled water

(160 mL  $\times$  1) in that order, was dried over a Glauber's salt, and was concentrated to dryness to give 13.3 g of a crude product. The crude product was purified by column chromatography on silica gel and was then crystallized from chloroform/hexane to give 3.19 g of a contemplated product as a crystal (yield 97%).

[0310] Process B: A part (4.93 g) of a crude product produced by process B in production step 4-2 was rendered anhydrous and was dissolved in 50 mL (10 v/w) of pyridine. Acetic anhydride (25 mL, 5 v/w) was added to the solution, and the mixture was allowed to react at room temperature for 3 hr. Methanol (25 mL, 5 v/w) was added thereto under ice cooling, and the mixture was allowed to stand at room temperature for 30 min. Next, 150 mL of chloroform was added, and the mixture was washed with water (150 mL  $\times$  1), 2.5 N hydrochloric acid (150 mL  $\times$  1), 0.5 N hydrochloric acid (150 mL  $\times$  1), and a saturated aqueous sodium bicarbonate solution (150 mL  $\times$  1) in that order, was dried over magnesium sulfate, was concentrated to dryness, and was crystallized from ethyl acetate/hexane to give 5.39 g of a contemplated product (yield 94%).

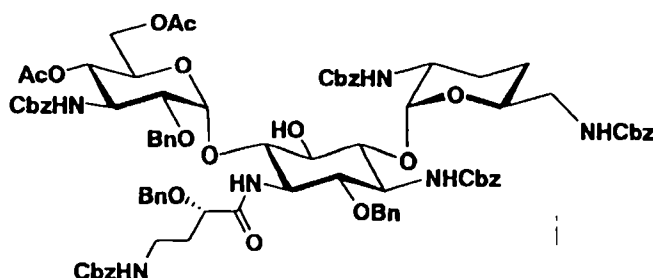
[0311] FABMS:  $m/z$  580  $[M + H]^+$

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.46 - 7.49 (m, 2H), 7.26 - 7.36 (m, 13H), 5.67 (d, 1H,  $J = 5.4$  Hz), 5.12 (bs, 2H), 4.89 (t, 1H,  $J = 9.9, 10.3$  Hz), 4.74 - 4.50 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 12.2$  Hz), 4.50 - 4.56 (m, 2H), 4.26 (dd, 1H,  $J = 5.4, 12.2$  Hz), 4.07 (dd, 1H,  $J = 9.7, 10.3$  Hz), 3.96 (dd, 1H,  $J = 2.2, 12.2$  Hz), 3.77 (bs, 1H), 1.98 (s, 3H), 1.94 (s, 3H).

[0312] Production step 4-4

4'',6''-Di-O-acetyl-2'',2'''-di-O-benzyl-2-hydroxyl-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbonylarbekacin

## [Chemical formula 75]



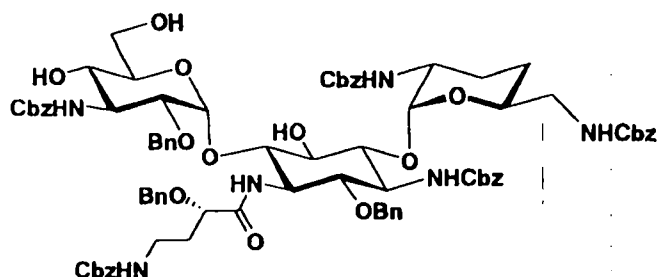
[0313] Process A: The compound (2.401 g, 2.14 mmol) produced in production step 3-7 and 4,6-di-O-acetyl-2-O-benzyl-3-benzyloxycarbonylamino-1,3-dideoxy-1-phenylthio- $\alpha$ -D-glucopyranose (1.490 g, 2.57 mmol), which had been dried under the reduced pressure for 2 hr, were dissolved in methylene chloride (48 mL). Molecular sieves 4A (powder, 7.20 g) dried under the reduced pressure for 2 hr was added to the solution, and the mixture was stirred under an argon atmosphere at room temperature for one hr. The reaction vessel was brought to a light shielded state and was cooled to  $-20^{\circ}\text{C}$ . N-Iodosuccinimide (1.390 g, 6.18 mmol) and trifluoromethanesulfonic acid (38 mL, 0.43 mmol) were added thereto, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. N-Iodosuccinimide (0.700 g, 3.09 mmol) and trifluoromethanesulfonic acid (19 mL, 0.22 mmol) were added to the reaction mixture, and the mixture was stirred at room temperature for additional 2 hr. Triethylamine (90 mL, 0.65 mmol) was added under ice cooling to stop the reaction. The insolubles were filtered, and the organic layer was washed once with a saturated aqueous sodium hydrogencarbonate solution (120 mL) and twice with a 10% aqueous sodium thiosulfate solution, and was dried over magnesium sulfate. The solvent was removed by distillation under the reduced pressure, and the residue was purified by column chromatography on silica gel (chloroform : acetone = 10 : 1  $\rightarrow$  7 : 1  $\rightarrow$  chloroform : methanol = 10 : 1) to give the title compound (2.350 g, 1.47 mmol, yield 69%) .

[0314] Process B: Dichloromethane (1.4 L) was added to the compound (70.0 g, 62.3 mmol) produced in production step

- 3-7 and  
 4,6-di-O-acetyl-2-O-benzyl-3-benzyloxycarbonylamino-1,3-dideoxy-1-phenylthio- $\alpha$ -D-glucopyranose (43.3 g, 74.7 mmol, 1.2 eq.), which had been dried under the reduced pressure overnight and molecular sieves 4A (powder, 210 g), which had been dried under the reduced pressure overnight. The mixture was stirred at room temperature under a nitrogen atmosphere for one hr. The reaction mixture was cooled to  $-15^{\circ}\text{C}$ . N-Iodosuccinimide (67.2 g, 299 mmol, 4.8 eq.) and trifluoromethanesulfonic acid (1.1 mL, 12.5 mmol, 0.2 eq.) were added thereto, and the mixture was stirred under light shielding at  $-10^{\circ}\text{C}$  for 50 min. N-Iodosuccinimide (33.6 g, 149 mmol, 2.4 eq.) and trifluoromethanesulfonic acid (0.55 mL, 6.23 mmol, 0.1 eq.) were added thereto, and the mixture was stirred at  $-10^{\circ}\text{C}$  for additional 50 min. Triethylamine (3.47 mL, 24.9 mmol, 0.4 eq.) was then added to the reaction mixture to stop the reaction. The insolubles were filtered (washed with 1.4 L of chloroform), and the organic layer was washed once with a 10% aqueous sodium thiosulfate solution (2.8 L) and once with a 5% aqueous sodium hydrogencarbonate solution (2.8 L) and was dried over anhydrous magnesium sulfate. The residue was purified by chromatography on silica gel to give the title compound. Developing solvent = chloroform : acetone = 7/1  $\rightarrow$  5/1 (134.11 g, 84.2 mmol, yield 68%).
- 25 [0315] LCMS:  $m/z$  1593  $[\text{M} + \text{H}]^{+}$   
 $^1\text{H}$ -NMR (Pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  8.22 (d, 1H,  $J = 3.9$  Hz), 7.85 (d, 1H,  $J = 7.6$  Hz), 7.67 - 7.77 (m, 1H), 7.13 - 7.56 (m, 40H), 7.05 - 7.15 (m, 1H), 6.92 - 7.03 (m, 2H), 6.23 - 6.38 (m, 1H), 5.82 (d, 1H,  $J = 3.2$  Hz), 5.62 (s, 1H), 5.40 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 5.12 - 5.35 (m, 10H), 4.87 (ABq, 2H,  $J = 12, 12$  Hz), 4.95 (ABq, 2H,  $J = 11$  Hz), 4.67 (q, 1H,  $J = 10, 10, 10$  Hz), 4.60 (ABq, 2H,  $J = 12, 12$  Hz), 3.92 - 4.58 (m, 13H), 3.37 - 3.61 (m, 4H), 2.18 - 2.45 (m, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.87 (s, 3H), 1.82 - 1.96 (m, 2H), 1.45 - 1.68 (m, 2H).
- 35 [0316] Production step 4-5  
2'',2'''-Di-O-benzyl-3''-deoxy-2-hydroxyl-3,2',6'3"-tetra-N-

benzyloxycarbonylarbekacin

[Chemical formula 76]



5 [0317] The compound (0.6422 g, 0.40 mmol) produced in production step 4-4 was dissolved in a mixed liquid composed of chloroform (12.8 mL) and methanol (6.4 mL). 0.5 M sodium methoxide (methanol solution, 0.26 mL, 0.13 mmol) was added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. Acetic acid (7.4  $\mu$ L, 0.13 mmol) was added thereto, and the mixture was washed with a saturated aqueous sodium hydrogencarbonate solution (40 mL). The water layer was again extracted with chloroform (40 mL), and the combined organic layers were dried over magnesium sulfate.

10 The solvent was removed by distillation under the reduced pressure, and the residue was purified by column chromatography on silica gel (chloroform : methanol = 30 : 1) to give the title compound (0.5798 g, 0.38 mmol, yield 95%).

LCMS:  $m/z$  1509  $[M + H]^+$

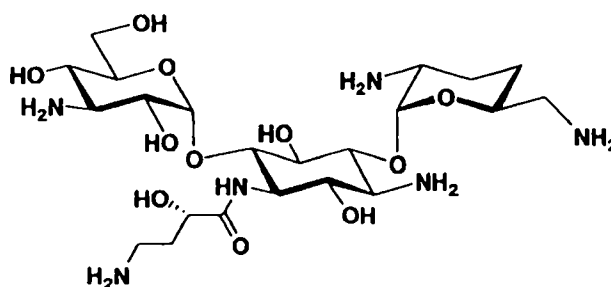
20 [0318]  $^1H$ -NMR (Pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  8.09 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz), 7.60 - 7.70 (m, 1H), 7.57 (d, 1H,  $J = 8.8$  Hz), 7.15 - 7.55 (m, 40H), 6.70 - 7.10 (m, 2H), 6.65 - 6.75 (m, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.47 - 5.58 (m, 3H), 5.15 - 5.35 (m, 10H), 4.93 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 11, 11$  Hz), 4.79 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 12, 12$  Hz), 4.61 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 12, 12$  Hz), 4.05 - 4.59 (m, 13H), 3.90 - 3.98 (m, 2H), 3.38 - 3.60 (m, 4H), 2.19 - 2.48 (m, 2H), 1.85 - 1.95 (m, 2H), 1.43 - 1.62 (m, 2H).

[0319] Production step 4-6

2-Hydroxyarbakacin

30

[Chemical formula 77]



[0320] The compound (290.0 mg, 0.192 mmol) produced in production step 4-5 was dissolved in 6 mL of a solution of 1,4-dioxane/water/1 N hydrochloric acid = 40/19/1. The solution was adjusted to pH 1.54, a palladium black powder (145 mg) was added thereto, and the mixture was vigorously stirred under a hydrogen atmosphere. The pH value of the reaction system reached 8.50 2 hr after the start of the vigorous stirring. The reaction system was adjusted to pH 1.68 by the addition of 1 N hydrochloric acid (860  $\mu$ l) and was vigorously stirred under a hydrogen atmosphere for 39 hr. The palladium black powder was removed by filtration through a cotton, and the catalyst was washed with water. The filtrate and the wash liquid were combined and were concentrated to dryness. The residue was dissolved in 10 mL of water, and the solution was purified by an Amberlite CG-50 column (equilibrated with 0.005 M  $\text{NH}_4\text{OH}$ ) to give the title compound (0.1165 g, yield 72%).

[0321] LCMS:  $m/z$  569  $[\text{M} + \text{H}]^+$

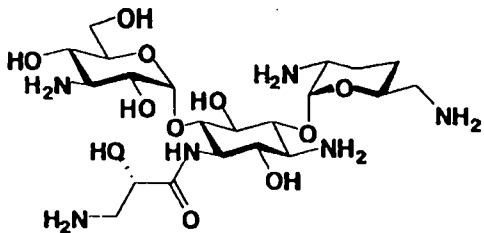
$^1\text{H}$ -NMR (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  5.13 (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz), 5.03 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.16 (dd, 1H,  $J = 4, 9.5$  Hz), 3.98 (m, 1H), 3.83 - 3.90 (m, 2H), 3.65 - 3.77 (m, 4H), 3.37 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.34 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.32 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.25 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.97 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.86 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.82 (m, 1H), 2.70 - 2.78 (m, 2H), 2.65 (dd, 1H,  $J = 5, 13$  Hz), 2.62 (dd, 1H,  $J = 7, 13$  Hz), 1.86 - 1.96 (m, 1H), 1.69 - 1.80 (m, 3H), 1.61 (dq, 1H,  $J = 4, 13, 13, 13$  Hz), 1.37 (dq, 1H,  $J = 4, 13, 13, 13$  Hz).

[0322] Example 5

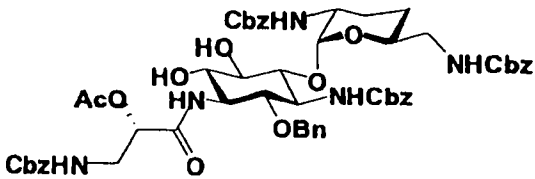


157

1-N-[(S)-3-Amino-2-hydroxypropionyl]-2-hydroxydibekac  
in  
[Chemical formula 78]



5 [0323] Production step 5-1  
1-N-[(S)-2-Acetoxy-3-amino-N-benzyloxycarbonylpropion  
yl]-2-benzyloxy-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxyne  
amine  
[Chemical formula 79]



10

(S)-2-Acetoxy-3-amino-N-benzyloxycarbonylpropanoic acid (21.2 mg) produced in Reference Example 2 and 43.2 mg of  
15 2-benzyloxy-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxy-2-hydroxyneamine produced in production step 3-6 of Example 3 were dissolved in 0.6 mL of tetrahydrofuran. 2-Propanol (1.3 mL), 0.1 mL of water and 22.4 mg of 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium  
20 chloride (DMT-MM) were added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for one hr. The reaction solution was concentrated under the reduced pressure, 20 mL of chloroform was added to the residue, and the mixture was washed once with 15 mL of a saturated aqueous sodium  
25 bicarbonate solution and three times with 15 mL of water and was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica

gel (3 g, chloroform  $\rightarrow$  chloroform : methanol =  $\rightarrow$  100 : 1  $\rightarrow$  100 : 5  $\rightarrow$  10 : 1) to give title compound (43.0 mg, yield 75%).

[0324] Rf value: 0.57 (chloroform : methanol = 10 : 1)

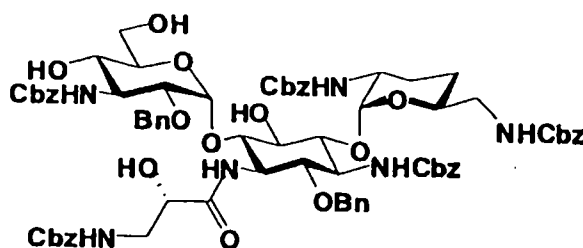
ESIMS: m/z 1084 [M + Na]<sup>+</sup>

- 5 <sup>1</sup>H-NMR (pyridine-d<sub>5</sub>):  $\delta$  9.53 (d, 1H, J = 6.5 Hz), 8.08 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.68 (d, 1H, J = 7.0 Hz), 7.49 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.21 - 7.45 (m, 26H), 5.72 (d, 1H, J = 5.8 Hz), 5.44 (d, 1H, J = 12.3 Hz), 5.39 (d, 1H, J = 12.1 Hz), 5.22 - 5.37 (m, 7H), 5.17 (d, 1H, J = 12.0 Hz), 5.02 (d, 1H, J = 10.5 Hz), 4.59  
10 (br, 1H), 4.43 (dd, 1H, J = 8.9, 9.3 Hz), 4.29 - 4.39 (m, 3H), 4.19 - 4.22 (m, 2H), 4.08 (dd, 1H, J = 7.9, 9.3 Hz), 4.00 - 4.06 (m, 2H), 3.58 - 3.62 (m, 1H), 3.50 - 3.53 (m, 1H), 2.01 (br, 2H), 1.75 (s, 3H), 1.62 (br, 2H).

[0325] Production step 5-2

- 15 1-N-[(S)-3-Amino-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxypropionyl]-2,2''-di-O-benzyl-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxydibekacin

[Chemical formula 80]



- 20 [0326] The compound (225 mg) produced in production step 5-1 was dissolved in 7.0 mL of methylene chloride. The compound (246 mg) produced in production step 4-3 of Example 4 and 675 mg of a molecular sieves 4A powder were added to the solution, and the mixture was stirred at room  
25 temperature for one hr. The stirred mixture was cooled to -20°C, 238 mg of N-iodosuccinimide and 5.5  $\mu$ L of trifluoromethanesulfonic acid were added thereto, and the mixture was stirred under light shielded conditions at room temperature for 3 hr. Triethylamine (55  $\mu$ L) was added thereto  
30 under ice cooling. The reaction solution was filtered through Celite, and the insolubles were washed with 30 mL of

chloroform. The solution thus obtained was washed once with 20 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and twice with 15 mL of a 10% aqueous sodium thiosulfate solution, was dried over a Glauber's salt, and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (16 g, chloroform : ethyl acetate = 30 : 1 → 20 : 1 → chloroform : methanol = 20 : 1 → 10 : 1) to give 320mg of a crude product containing 4'',6''-di-O-acetyl-1-N-[(S)-2-acetoxy-3-amino-N-benzyloxycarbonylpropionyl]-2,2''-di-O-benzyl-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxydibekacin as a contemplated product.

Rf value: 0.56 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3): contemplated product

ESIMS: m/z 1553 [M + Na]<sup>+</sup>: contemplated product

[0327] The crude product (320 mg) was dissolved in 6.0 mL of methanol. Sodium borohydride (7.1 mg) was added to the solution under ice cooling, and the mixture was stirred at room temperature for 1 hr. Acetone (0.5 mL) was added thereto under ice cooling, and the mixture was stirred at room temperature for 15 min. The mixture was then diluted with 30 mL of chloroform, 20 mL of water was added to the diluted solution, followed by separation. The organic layer was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness to give 272 mg of a crude product (4'',6''-di-O-acetyl-1-N-[(S)-2-acetoxy-3-amino-N-benzyloxycarbonylpropionyl]-2,2''-di-O-benzyl-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxydibekacin).

Rf value: 0.56 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3)

ESIMS: m/z 1553 [M + Na]<sup>+</sup>

[0328] The crude product (272 mg) was dissolved in 5.4 mL of chloroform and 2.7 mL of methanol. A 28% solution (9 μL) of sodium methoxide in methanol was added to the solution under ice cooling, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. Acetic acid (0.1 mL) was added thereto under ice cooling, the mixture was diluted with 20 mL of chloroform, and the dilution solution was washed with 10 mL of

a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, was dried over Glauber's salt, and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (20 g, chloroform → chloroform : methanol = 99 : 1 → 97 : 3) to give the title compound (141 mg, yield 47%).

[0329] Rf value: 0.18 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3)

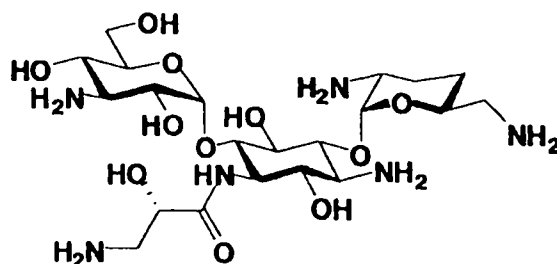
<sup>1</sup>H-NMR (pyridine-d<sub>5</sub>): δ 8.81 (d, 1H, J = 6.6 Hz), 8.40 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 8.31 (d, 1H, J = 7.4 Hz), 7.91 (br, 1H), 7.65 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.22 - 7.51 (m, 36H), 5.78 (d, 1H, J = 5.8 Hz), 5.73 (d, 1H, J = 6.1 Hz), 5.44 (d, 1H, J = 12.1 Hz), 5.39 (d, 1H, J = 12.1 Hz), 5.18 - 5.38 (m, 10H), 5.11 (m, 1H), 5.07 (d, 1H, J = 10.5 Hz), 5.01 (d, 1H, J = 11.8 Hz), 4.94 (d, 1H, J = 10.5 Hz), 4.78 (br, 1H), 4.69 - 4.75 (m, 4H), 4.45 (br, 1H), 4.42 (dd, 1H, J = 8.5, 9.2 Hz), 4.37 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 4.29 (dd, 1H, J = 7.7, 8.9 Hz), 4.26 (dd, 1H, J = 7.9, 9.5 Hz), 4.00 - 4.05 (m, 2H), 3.82 - 3.89 (m, 2H), 3.58 - 3.62 (m, 1H), 3.49 - 3.53 (m, 1H), 1.93 - 2.00 (m, 2H), 1.58 (br, 2H).

[0330] ESIMS: m/z 1427 [M + Na]<sup>+</sup>

[0331] Production step 5-3

20 1-N-[(S)-3-Amino-2-hydroxypropionyl]-2-hydroxydibekac  
in

[Chemical formula 81]



[0332] The compound (141 mg) produced in production step 5-2 was dissolved in 7 mL of tetrahydrofuran : water : acetic acid (4 : 1 : 1). Thereafter, seven drops of palladium black/water were added as a catalyst, and the mixture was vigorously stirred at room temperature under a hydrogen atmosphere for 13 hr in which the catalyst was replaced once in the 13-hr period. The reaction solution was filtered through a cotton, and the mother liquor was concentrated under the

reduced pressure. Water was added to the residue, and the solution was again concentrated to dryness under the reduced pressure. The residue was dissolved in 5 mL of water. The solution was neutralized with 0.1 M aqueous ammonia and was  
 5 charged into an Amberlite CG-50 column (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia, 5 mL), and the column was washed with 0.005 M aqueous ammonia (5 mL). Elution was carried out with 0.10 M → 0.25 M → 0.50 M → 0.75 M aqueous ammonia (each 10 mL). The corresponding fractions were  
 10 concentrated to dryness to give the title compound (1.5 carbonate 0.75 hydrate, 47 mg (71%)).

[0333] Rf value: 0.18 (chloroform : methanol : 28% aqueous ammonia : ethanol = 4 : 6 : 7 : 2)

<sup>1</sup>H-NMR (DCl-D<sub>2</sub>O, pD ~3): δ 5.86 (d, 1H, J = 3.4 Hz),  
 15 5.17 (d, 1H, J = 3.8 Hz), 4.56 (dd, 1H, J = 4.4, 7.8 Hz), 4.25 (dt, 1H, 4.0, 12.5), 4.16 (t, 1H, J = 10.1 Hz), 4.13 (t, 1H, J = 10.0 Hz), 4.05 (m, 1H), 3.97 (dd, 1H, J = 1.9, 8.9 Hz), 3.94 (dd, 1H, J = 1.8, 9.6 Hz), 3.88 (dd, 1H, J = 3.1, 8.9 Hz), 3.77 - 3.84 (m, 3H), 3.72 (t, 1H, J = 10.1 Hz), 3.60 - 3.64 (m, 1H),  
 20 3.49 (t, 1H, J = 10.5 Hz), 3.37 - 3.45 (m, 2H), 3.33 (dd, 1H, J = 2.1, 8.0 Hz), 3.27 (dd, 1H, J = 1.9, 6.5 Hz), 3.16 (dd, 1H, J = 6.9, 13.4 Hz), 2.07 - 2.13 (m, 2H), 1.92 - 1.98 (m, 1H), 1.60 - 1.66 (m, 1H).

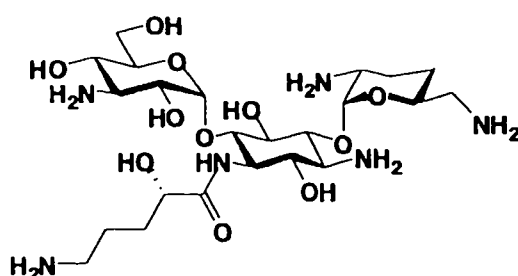
[0334] <sup>13</sup>C-NMR (DCl-D<sub>2</sub>O, pD ~3): δ 174.06, 98.72,  
 25 95.19, 78.33, 74.95, 74.57, 72.41, 68.23, 68.06, 67.55, 66.38, 65.89, 60.10, 55.83, 55.50, 55.19, 49.07, 42.92, 42.22, 25.65, 20.84

Calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>42</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>·1.5H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·0.75H<sub>2</sub>O: C, 40.87; H, 7.09; N, 12.71. Found. C, 40.99; H, 7.07; N, 12.65.

30 [0335] Example 6

1-N-[(S)-5-Amino-2-hydroxypentanoyl]-2-hydroxydibekacin

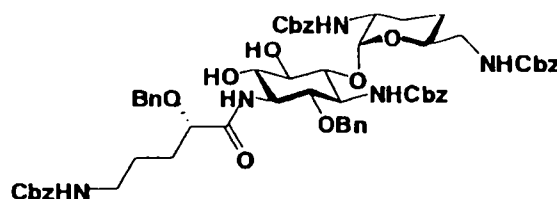
[Chemical formula 82]



[0336] Production step 6-1

1 1-N-[(S)-5-Amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylpentanoic acid]-2-benzyloxy-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxyneamine

[Chemical formula 83]



[0337]

10 (S)-5-Amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylpentanoic acid (10 mg) produced in Reference Example 3 and 22 mg of 2-benzyloxy-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxy-2-hydroxyneamine produced in production step 3-6 of Example 3 were dissolved in 0.33 mL of tetrahydrofuran. 2-Propanol (0.70 mL, water 40  $\mu$ L) and 9 mg of 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chloride (DMT-MM) were added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. The reaction solution was concentrated under the reduced pressure. Chloroform (20 mL) was added to the residue, and the solution was washed once with 10 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and three times with 10 mL of water, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (5 g, chloroform  $\rightarrow$  chloroform : methanol = 99 : 1  $\rightarrow$  97 : 3  $\rightarrow$  10 : 1) to give the title compound (22 mg, yield 72%).

[0338] Rf value: 0.60 (chloroform : methanol = 10 : 1)

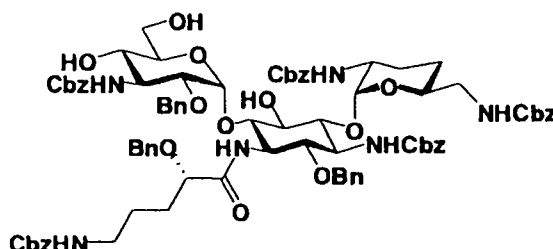
ESIMS:  $m/z$  1160  $[M + Na]^+$

$^1H$ -NMR (pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  8.66 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz), 8.43 (d, 1H,  $J = 7.2$  Hz), 8.11 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz), 7.87 (br, 1H), 7.70 (br, 1H), 7.60 (d, 2H,  $J = 7.4$  Hz), 7.39 - 7.51 (m, 8H), 7.21 - 7.31 (m, 20H), 5.79 (d, 1H,  $J = 5.8$  Hz), 5.41 (d, 1H,  $J = 12.5$  Hz), 5.38 (d, 1H,  $J = 9.9$  Hz), 5.31 - 5.35 (m, 2H), 5.28 (br, 2H), 5.21 (d, 1H,  $J = 12.5$  Hz), 5.03 - 5.19 (m, 4H), 4.78 (d, 1H,  $J = 11.8$  Hz), 4.65 (q, 1H,  $J = 9.4$  Hz), 4.52 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz), 4.49 (d, 1H,  $J = 11.8$  Hz), 4.37 (br, 2H), 4.19 - 4.22 (m, 1H), 4.17 (t, 1H,  $J = 7.3$  Hz), 4.10 (t, 1H,  $J = 7.7$  Hz), 4.06 (dd, 1H,  $J = 7.7, 9.6$  Hz), 3.60 - 3.67 (m, 1H), 3.52 - 3.55 (m, 1H), 3.34 (m, 2H), 2.13 (br, 2H), 1.99 - 2.09 (m, 3H), 1.90 (dt, 1H,  $J = 5.9, 8.0$  Hz), 1.62 (br, 2H).

[0339] Production step 6-2

15 1-N-[(S)-5-Amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylpentanoyl]-2,2''-di-O-benzyl-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxydibekacin

[Chemical formula 84]



20 [0340] The compound (350 mg) produced in production step 6-1 was dissolved in 8.8 mL of methylene chloride. The compound (364 mg) produced in production step 4-3 of Example 4 and 1000 mg of a molecular sieves 4A powder were added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for one hr. The reaction solution was cooled to -20°C, 350 mg of N-iodosuccinimide and 8.1  $\mu$ L of trifluoromethanesulfonic acid were added to the cooled solution, and the mixture was stirred under light shielded conditions at room temperature for 5 hr. Triethylamine (81  $\mu$ L) was added thereto under ice cooling, and the reaction mixture was filtered through Celite. The insolubles were washed with 20 mL of

chloroform. The solution thus obtained was washed once with 15 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and twice with 15 mL of a 10% aqueous sodium thiosulfate solution, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness.

- 5 The residue was purified by column chromatography on silica gel (25 g, chloroform : ethyl acetate = 4 : 1 → chloroform : methanol = 20 : 1 → 10 : 1) to give a 467 mg of a crude product containing 4'',6''-di-O-acetyl-1-N-[(S)-5-amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylpentanoyl]-2,2''-di-O-benzyl-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxydibekacin as a contemplated product.

Rf value: 0.51 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3): contemplated product

ESIMS: m/z 1630 [M + Na]<sup>+</sup>: contemplated product

- 15 [0341] The crude product (467 mg) was dissolved in 9.3 mL of methanol, 20 mg of sodium borohydride was added under ice cooling at room temperature for 1.5 hr. Acetone (1.0 mL) was added thereto under ice cooling, the mixture was stirred at room temperature for 15 min, and the mixture was diluted with 20 50 mL of chloroform. Water (25 mL) was added thereto followed by separation. The organic layer was dried over a Glauber's salt and was then concentrated to dryness to give 381 mg of a crude product (4'',6''-di-O-acetyl-1-N-[(S)-5-amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylpentanoyl]-2,2''-di-O-benzyl-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxydibekacin).

Rf value: 0.51 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3)

ESIMS: m/z 1630 [M + Na]<sup>+</sup>

- [0342] The crude product (381 mg) was dissolved in 7.6 30 mL of chloroform and 3.8 mL of methanol. A 28% solution (13 μL) of sodium methoxide in methanol was added to the solution under ice cooling, and the reaction was allowed to react at room temperature for 2 hr. Acetic acid (0.1 mL) was added thereto under ice cooling, and the mixture was diluted with 25 mL of 35 chloroform. Thereafter, the diluted solution was washed with 15 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, was



dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (30 g, chloroform → chloroform : methanol = 99 : 1 → 97 : 3) to give the title compound 229 mg (yield 49%).

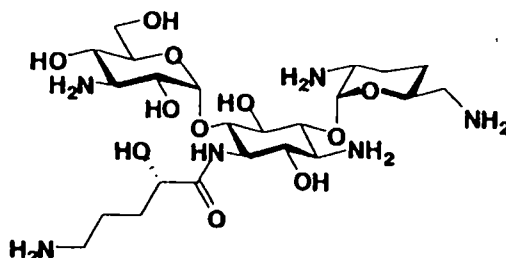
5 [0343] Rf value: 0.22 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3)  
ESIMS: m/z 1545 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (pyridine-d<sub>5</sub>): δ 8.69 (br, 1H), 8.38 (d, 1H, J = 7.9 Hz), 7.65 - 7.72 (m, 2H), 7.60 (br, 4H), 7.20 - 7.52 (m, 38H), 5.78 (br, 1H), 5.72 (d, 1H, J = 6.1 Hz), 5.20 - 5.39 (m, 10 13H), 5.09 - 5.11 (m, 1H), 5.05 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 5.01 (t, 1H, J = 8.0 Hz), 4.89 (d, 1H, J = 12.1 Hz), 4.68 - 4.80 (m, 6H), 4.48 (d, 1H, J = 12.1 Hz), 4.15 - 4.34 (m, 5H), 4.06 (br, 2H), 3.93 (br, 1H), 3.88 (t, 1H, J = 8.1 Hz), 3.52 - 3.59 (m, 1H), 3.31 - 3.37 (m, 1H), 1.87 - 2.20 (m, 5H), 1.78 (br, 1H), 1.62 15 (br, 2H).

[0344] Production step 6-3

1-N-[(S)-5-Amino-2-hydroxypentanoyl]-2-hydroxydibekacin

[Chemical formula 85]



20

[0345] The compound (229 mg) produced in production step 6-2 was dissolved in 9.2 mL of 1,4-dioxane : water : 1 N hydrochloric acid (40 : 19 : 1), and six drops of palladium black/water were added as a catalyst. The mixture was 25 vigorously stirred at room temperature under a hydrogen gas atmosphere for 14 hr. In this case, the catalyst was replaced once in the 14-hr period. Since the progress of the reaction stopped, the reaction solution was filtered through a cotton, 6 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution was 30 added followed by separation with 9 mL of ethyl acetate. The water layer was again extracted with 9 mL of ethyl acetate.

The organic layers were combined, were dried over a Glauber's salt and were concentrated to dryness. The residue (161 mg) was dissolved in 8 mL of tetrahydrofuran : water : acetic acid (4 : 1 : 1). Palladium black/water (nine drops) was added as a catalyst, and the mixture was vigorously stirred under a hydrogen gas atmosphere at room temperature for 19 hr. In this case, the catalyst was replaced three times in the 19-hr period. The reaction solution was filtered through a cotton, and the mother liquor was concentrated under the reduced pressure. Thereafter, water was again added, and the mixture was again concentrated under the reduced pressure. The residue was dissolved in 5 mL of water. The solution was neutralized with 0.1 M aqueous ammonia and was charged into an Amberlite CG-50 column (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia, 5 mL), and the column was washed with 0.005 M aqueous ammonia (5 mL). Elution was carried out with 0.10 M → 0.25 M → 0.50 M → 0.75 M aqueous ammonia (each 10 mL). The corresponding fractions were concentrated to dryness to give 48 mg (41%) of the title compound (2.25 carbonate 2.75 hydrate).

[0346] Rf value: 0.20 (chloroform : methanol : 28% aqueous ammonia : ethanol = 4 : 6 : 7 : 2)

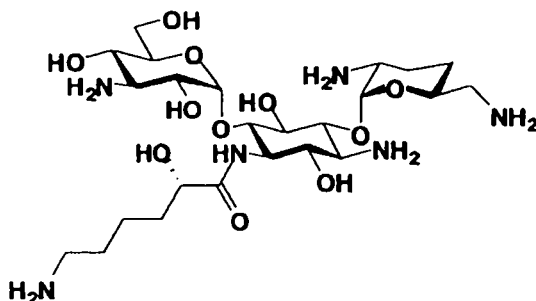
<sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 5.05 (d, 1H, J = 3.3 Hz), 4.95 (d, 1H, J = 3.7 Hz), 4.02 (dd, 1H, J = 3.3, 8.0 Hz), 3.89 (dt, 1H, 2.0, 8.1), 3.81 (t, 1H, J = 10.1 Hz), 3.75 - 3.79 (m, 1H), 3.61 - 3.70 (m, 4H), 3.29 (t, 1H, J = 10.2 Hz), 3.24 (t, 1H, J = 10.2 Hz), 3.21 (t, 1H, J = 10.4 Hz), 3.17 (t, 1H, J = 9.8 Hz), 2.88 (t, 1H, J = 10.0 Hz), 2.78 (t, 1H, J = 10.0 Hz), 2.75 (dt, 1H, J = 1.7, 12.0 Hz), 2.51 - 2.59 (m, 4H), 1.70 - 1.79 (m, 1H), 1.59 - 1.66 (m, 2H), 1.42 - 1.57 (m, 4H), 1.25 - 1.32 (m, 1H).

[0347] <sup>13</sup>C-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 178.16, 102.70, 99.16, 83.44, 78.36, 75.58, 72.92, 72.59, 72.26, 72.11, 71.48, 70.07, 61.08, 57.19, 56.63, 56.27, 54.97, 50.89, 45.99, 41.06, 32.03, 28.42, 26.94

35 Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>·2.25H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·2.75H<sub>2</sub>O: C, 39.30; H, 7.31; N, 10.89. Found. C, 39.08; H, 7.14; N, 11.05.

[0348]            Example 7  
1-N-[(S)-6-Amino-2-hydroxyhexanoyl]-2-hydroxydibekaci  
n

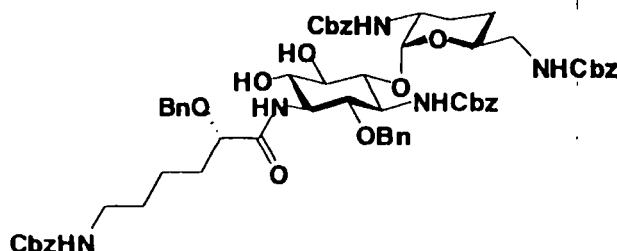
[Chemical formula 86]



5

[0349]            Production step 7-1  
1-N-[(S)-6-Amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylhexa  
noyl]-2-benzyloxy-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxy  
neamine

10            [Chemical formula 87]



[0350]

(S)-6-Amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylhexanoic acid (160 mg) produced in Reference Example 4 and 344 mg of 2-benzyloxy-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxy-2-hydroxyneamine produced in production step 3-6 of Example 3 were dissolved in 5.2 mL of tetrahydrofuran. 2-Propanol (10.3 mL), 0.7 mL of water, and 155 mg of 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chloride (DMT-MM) were added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. The reaction solution was concentrated under the reduced pressure. Chloroform (50 mL) was added to the residue, and the mixture was washed once with 25 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and three times with 20 mL of water, was

15

20

25

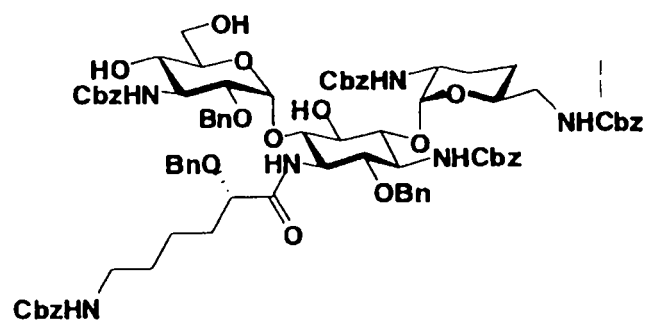
dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (25 g, hexane : ethyl acetate = 3 : 1) to give the title compound (355 mg, yield 72%).

5 Rf value: 0.62 (chloroform : methanol = 10 : 1)  
ESIMS: m/z 1174 [M + Na]<sup>+</sup>

[0351] Production step 7-2

1-N-[(S)-6-Amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylhexa  
noyl]-2,2''-O-benzyl-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbonyl-2-hydr  
10 oxydibekacin

[Chemical formula 88]



[0352] The compound (350 mg) produced in production step 7-1 was dissolved in 8.8 mL of methylene chloride. The compound (352 mg) produced in production step 4-3 of Example 4 and 1000 mg of a molecular sieves 4A powder were added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for one hr. The reaction solution was cooled to -20°C. N-Iodosuccinimide (341 mg) and 7.9 µL of trifluoromethanesulfonic acid were added to the cooled solution. The mixture was stirred under light shielded conditions at room temperature for 3 hr. Triethylamine (79 µL) was added thereto under ice cooling. The reaction mixture was filtered through Celite, and the insolubles were washed with 20 mL of chloroform. The solution thus obtained was washed once with 15 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and twice with 15 mL of a 10% aqueous sodium thiosulfate solution, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (25 mg, chloroform : ethyl acetate = 4 : 1 → chloroform :

15

20

25

30

methanol = 20 : 1 → 10 : 1) to give 433 mg of a crude product containing

4'',6''-O-acetyl-1-N-[(S)-6-amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylhexanoyl]-2,2''-O-benzyl-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxydibekacin as a contemplated product.

5

Rf value: 0.51 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3):  
contemplated product

ESIMS: m/z 1643 [M + Na]<sup>+</sup>: contemplated product

[0353] The crude product (433 mg) was dissolved in 8.7  
10 mL of methanol. Sodium borohydride (19 mg) was added to  
the solution under ice cooling, and the mixture was stirred at  
room temperature for 1.5 hr. Acetone (1.0 mL) was added  
thereto under ice cooling, and the mixture was stirred at room  
temperature for 15 min. Thereafter, the reaction mixture was  
15 diluted with 50 mL of chloroform. Water (25 mL) was added  
thereto followed by separation. The organic layer was dried  
over a Glauber's salt and was then concentrated to dryness to  
give 357 mg of a crude product  
(4'',6''-O-acetyl-1-N-[(S)-6-amino-2-benzyloxy-N-benzyloxy-car  
20 bonylhexanoyl]-2,2''-O-benzyl-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbo  
nyl-2-hydroxydibekacin).

ESIMS: m/z 1643 [M + Na]<sup>+</sup>

[0354] The crude product (357 mg) was dissolved in 7.2  
mL of chloroform and 3.6 mL of methanol. A 28% sodium  
25 methoxide-methanol solution (13 μL) was added to the solution  
under ice cooling, and the mixture was stirred at room  
temperature for 2 hr. Acetic acid (0.5 mL) was added thereto  
under ice cooling, and the mixture was diluted with 25 mL of  
chloroform. The diluted solution was washed with 15 mL of a  
30 saturated aqueous sodium bicarbonate solution and was dried  
over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The  
residue was purified by column chromatography on silica gel (28  
g, chloroform → chloroform : methanol = 99 : 1 → 97 : 3) to  
give the title compound (207 mg, yield 44%).

35 [0355] Rf value: 0.22 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3)

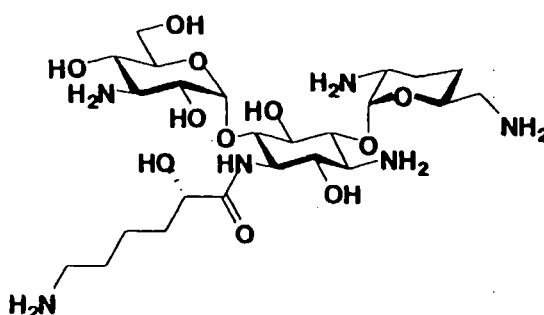
ESIMS: m/z 1560 [M + Na]<sup>+</sup>

$^1\text{H-NMR}$  (pyridine- $d_5$ ) :  $\delta$  8.39 (d, 1H,  $J = 7.9$  Hz), 7.76 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz), 7.63 (br, 2H), 7.21 - 7.55 (m, 42H), 5.81 (br, 1H), 5.74 (br, 1H), 5.40 (br, 1H), 5.33 - 5.38 (m, 3H), 5.36 (t, 1H,  $J = 6.4$  Hz), 5.21 - 5.27 (m, 3H), 5.19 (d, 1H,  $J = 11.9$  Hz),  
 5 4.79 - 5.08 (m, 8H), 4.75 (d, 1H,  $J = 11.9$  Hz), 4.69 (d, 1H,  $J = 11.9$  Hz), 4.22 - 4.51 (m, 8H), 3.95 - 4.13 (m, 4H), 3.50 - 3.61 (m, 2H), 3.27 (br, 2H), 2.02 (br, 2H), 1.94 (br, 2H), 1.42 - 1.64 (m, 6H).

[0356] Production step 7-3

10 1-N-[(S)-6-Amino-2-hydroxyhexanoyl]-2-hydroxydibekaci  
n

[Chemical formula 89]



[0357] The compound (180 mg) produced in production  
 15 step 7-2 was dissolved in 9.0 mL of tetrahydrofuran : water :  
 acetic acid (4 : 1 : 1). Palladium black/water (nine drops) was  
 added as a catalyst to the solution, and the mixture was  
 vigorously stirred under a hydrogen gas atmosphere at room  
 temperature for 33 hr. In this case, the catalyst was replaced  
 20 six times in the 33-hr period. The reaction solution was filtered  
 through a cotton, and the mother liquor was concentrated under  
 the reduced pressure. Thereafter, water was again added to  
 the residue, and the solution was again concentrated under the  
 reduced pressure. The residue was dissolved in 5 mL of water.  
 25 The solution was neutralized with 0.1 M aqueous ammonia and  
 was charged into an Amberlite CG-50 column (equilibrated with  
 0.005 M aqueous ammonia, 5 mL), and the column was washed  
 with 0.005 M aqueous ammonia (5 mL). Elution was carried  
 out with 0.10 M  $\rightarrow$  0.25 M  $\rightarrow$  0.50 M  $\rightarrow$  0.75 M aqueous  
 30 ammonia (each 10 mL), and the corresponding fractions were

concentrated to dryness to give the title compound (1.5 carbonate trihydrate, 52 mg, yield 60%).

[0358]  $^1\text{H-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ) :  $\delta$  5.16 (d, 1H,  $J = 3.2$  Hz), 5.05 (d, 1H,  $J = 3.3$  Hz), 4.05 (dd, 1H,  $J = 3.5, 8.8$  Hz),  
 5 4.00 (d, 1H, 9.8), 3.90 (t, 1H,  $J = 9.8$  Hz), 3.82 - 3.87 (m, 1H),  
 3.69 - 3.79 (m, 4H), 3.40 (t, 1H,  $J = 9.2$  Hz), 3.29 - 3.37 (m,  
 2H), 3.27 (t, 1H,  $J = 9.8$  Hz), 2.98 (t, 1H,  $J = 10.0$  Hz), 2.88 (t,  
 1H,  $J = 9.8$  Hz), 2.85 (dt, 1H,  $J = 4.0, 12.1$  Hz), 2.61 - 2.70 (m,  
 4H), 1.71 - 1.83 (m, 3H), 1.59 - 1.69 (m, 2H), 1.33 - 1.56 (m,  
 10 5H).

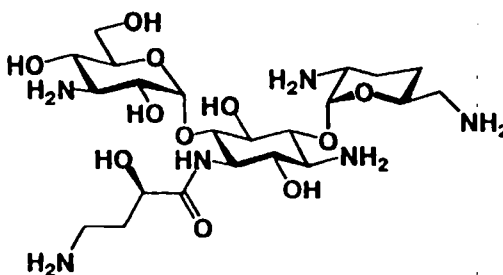
[0359]  $^{13}\text{C-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ) :  $\delta$  178.24, 102.02, 99.07, 83.37, 78.30, 76.65, 75.43, 73.62, 72.90, 72.39, 72.07, 71.41, 70.04, 61.06, 56.65, 56.16, 54.96, 50.76, 45.95, 41.06, 34.20, 28.40, 26.98, 23.09

15 Calcd. for  $\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_{11} \cdot 1.5\text{H}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ : C, 41.18; H, 7.72; N, 11.30.

Found. C, 41.20; H, 7.73; N, 11.43.

[0360] Example 8

20 1-N-[(R)-4-Amino-2-hydroxybutyryl]-2-hydroxydibekacin  
 [Chemical formula 90]

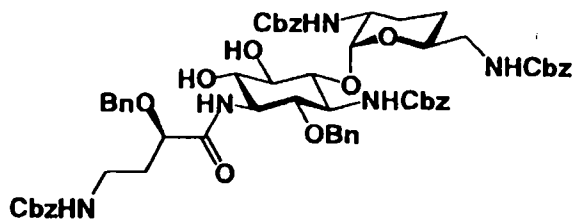


[0361] Production step 8-1

25 2-O-Benzyl-1-N-[2-(R)-O-benzyl-4-benzyloxycarbonylamino-  
 butyryl]-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxy-2-hydroxyneamine

172

[Chemical formula 91]



[0362]

2-Benzyloxy-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxy  
 5 -2-hydroxyneamine (420 mg) produced in production step 3-6  
 of Example 3 and 216 mg of  
 (R)-2-benzyloxy-4-benzyloxycarbonylaminobutyric acid  
 produced in Reference Example 5 were dissolved in 18 mL of a  
 solvent (2-propanol : tetrahydrofuran : water = 30 : 10 : 3).  
 10 4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium  
 chloride (hereinafter referred to as "DMT-MM") (218 mg) was  
 added to the solution, and the mixture was stirred at room  
 temperature. DMT-MM (146 mg) was added two hr after the  
 start of stirring, and the mixture was stirred, and, after 3.5 hr,  
 15 the reaction mixture was concentrated to dryness. Chloroform  
 (50 mL) was added to the residue, and the solution was washed  
 once with 25 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate  
 solution and twice with water. The washed solution was dried  
 over magnesium sulfate and was concentrated to dryness to  
 20 give 686 mg of a crude product. The crude product was  
 purified by column chromatography on silica gel (50 g,  
 chloroform → chloroform : methanol = 99 : 1 → 97 : 3 → 95 : 5  
 → 10 : 1) to give the title compound (528 mg, 85%).

[0363] R<sub>f</sub> value: 0.71 (chloroform : methanol = 10 : 1)25 ESIMS: m/z 1146 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (pyridine-d<sub>5</sub> at 80°C): δ 8.04 (d, 1H, J = 7 Hz),  
 7.55 (br. d, 1H, J = 6 Hz), 7.12 - 7.50 (31H), 7.00 (br. s, 1H),  
 6.82 (br. s, 1H), 5.64 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.29 (s, 2H), 5.10 -  
 5.27 (4H), 4.95 (s, 2H), 4.50 - 4.80 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 11.5 Hz),  
 30 4.36 (t, 1H, J = 8, 8 Hz), 4.28 (m, 1H), 4.20 - 4.25 (3H), 4.16  
 (t, 1H, J = 9, 9 Hz), 4.08 (t, 1H, J = 9, 9 Hz), 3.98 (m, 1H),  
 3.91 (t, 1H, J = 11, 11 Hz), 3.37 - 3.60 (m, 4H), 2.12 - 2.30

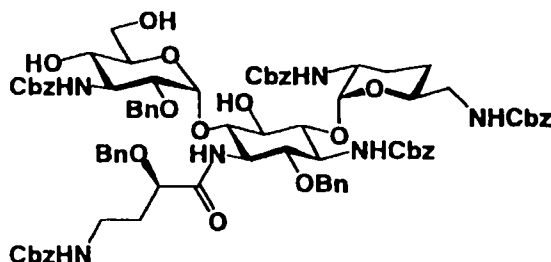


(m, 2H), 1.85 - 2.00 (m, 2H), 1.43 - 1.68 (m, 2H).

[0364] Production step 8-2

2,2''-Di-O-benzyl-1-N-[2-(R)-O-benzyl-4-benzyloxycarbonylaminobutyryl]-3,2',6',3''-tetra-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxydibekacin

[Chemical formula 92]



[0365] The compound (497 mg) produced in production step 4-3 of Example 4 and 482 mg of the compound produced in production step 8-1 were dissolved in 20 mL of methylene chloride. A molecular sieves 4A powder (1.445 g) was added to the solution, and the mixture was stirred under an argon atmosphere at room temperature for 2 hr. N-Iodosuccinimide (482 mg) and 7.6  $\mu$ L of trifluoromethanesulfonic acid were added to the stirred solution at -20°C with stirring. The reaction mixture was returned to room temperature and was stirred under light shielded conditions for 2 hr. The compound (248 mg) produced in production step 4-3 of Example 4, 241 mg of N-iodosuccinimide, and 3.8  $\mu$ L of trifluoromethanesulfonic acid were added to the reaction solution three hr after the start of stirring, and, after 4 hr, 27  $\mu$ L of triethylamine was added thereto under ice cooling. The mixture was filtered through Celite to remove the insolubles. The insolubles were washed with 40 mL of chloroform. The combined organic layers were washed once with 50 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, three times with 50 mL of a 10% aqueous sodium thiosulfate solution and twice with 50 mL of water, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (130 g, chloroform : acetone = 10 : 1  $\rightarrow$  7 : 1  $\rightarrow$  3 : 1) to give 530 mg of a crude product containing

4",6"-di-O-acetyl-2,2"-di-O-benzyl-1-N-[2-(R)-O-benzyl-4-benz  
yloxycarbonylaminobutyryl]-3,2',6',3"-tetra-N-benzyloxycarbony  
l-2-hydroxydibekacin as a contemplated product.

Rf value: 0.42 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3):

5 contemplated product

ESIMS: m/z 1615 [M + Na]<sup>+</sup>: contemplated product

[0366] The crude product (527 mg) was dissolved in 10.5  
mL of methanol. Sodium borohydride (24.2 mg) was added to  
the solution with stirring under ice cooling, and the mixture was  
10 stirred at room temperature for one hr. Acetone (0.38 mL) was  
added thereto under ice cooling, and the mixture was stirred at  
room temperature for 30 min. The reaction mixture was  
concentrated under the reduced pressure. The residue was  
dissolved in 50 mL of chloroform, and the solution was washed  
15 three times with 25 mL of water, was dried over magnesium  
sulfate and was concentrated to dryness to give 524 mg of a  
crude product  
(4",6"-di-O-acetyl-2,2"-di-O-benzyl-1-N-[2-(R)-O-benzyl-4-benz  
yloxycarbonylaminobutyryl]-3,2',6',3"-tetra-N-benzyloxycarbony  
20 l-2-hydroxydibekacin).

Rf value: 0.42 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3)

ESIMS: m/z 1615 [M + Na]<sup>+</sup>

[0367] Chloroform (10.5 mL), 5 mL of methanol, and a  
28% sodium methoxide-methanol (21.2 mg)/methanol (0.24  
25 mL) solution were added to the crude product, and the mixture  
was stirred at room temperature. Acetic acid (6.3  $\mu$ L) was  
added thereto 2.5 hr after the start of stirring, and the mixture  
was washed with 30 mL of a saturated aqueous sodium  
bicarbonate solution. The water layer was again extracted with  
30 30 mL of chloroform. The combined organic layers were dried  
over magnesium sulfate and was concentrated to dryness. The  
residue was purified by column chromatography on silica gel (50  
g, chloroform : methanol = 30 : 1) to give the title compound  
(337.5 mg, yield 50%).

35 [0368] Rf value: 0.56 (chloroform : methanol = 10 : 1)

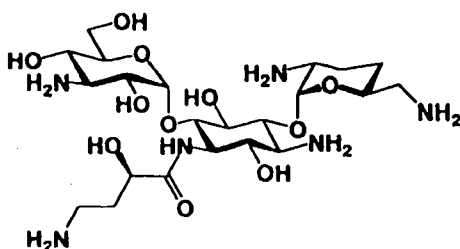
ESIMS: m/z 1531 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (pyridine-d<sub>5</sub> at 80°C): δ 8.01 (d, 1H, J = 8 Hz), 7.57 (br. s, 1H), 7.55 (br. s, 1H), 7.31 - 7.49 (m, 16H), 7.13 - 7.31 (m, 24H), 6.98 (br. s, 1H), 6.86 (br. s, 1H), 6.80 (br. s, 1H), 5.68 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.54 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 5.12 - 5.32 (m, 10H), 4.90 (s, 2H), 4.71 - 4.95 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 4.57 - 4.70 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 4.58 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.47 (t, 1H, J = 9, 9 Hz), 4.43 - 4.59 (m, 2H), 4.31 (m, 1H), 4.27 (dd, 1H, J = 6, 7 Hz), 4.24 - 4.37 (m, 2H), 3.87 - 4.14 (m, 6H), 3.54 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.30 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 1.84 - 1.96 (m, 2H), 1.44 - 1.63 (m, 2H).

[0369] Production step 8-3

1-N-[(R)-4-Amino-2-hydroxybutyryl]-2-hydroxydibekacin

[Chemical formula 93]



[0370] The compound (310 mg) produced in production step 8-2 was dissolved in 21.6 mL of tetrahydrofuran-acetic acid-water (4 : 1 : 1). Palladium black (20 drops) suspended in water was added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for 6.5 hr while blowing hydrogen into the system. The catalyst was removed by filtration, palladium black (20 drops) newly suspended in water was added thereto, and the mixture was stirred at room temperature for 12 hr while blowing hydrogen into the system. The catalyst was removed by filtration, palladium black (ten drops) newly suspended in water was added thereto, and the mixture was stirred at room temperature for 14.5 hr while blowing hydrogen into the system. The catalyst was removed by filtration and was washed with water. The filtrate and the wash liquid were combined and were concentrated to dryness. The residue was dissolved in 30 mL of water. The solution was charged into an Amberlite CG-50 column (equilibrated with 0.005 M aqueous

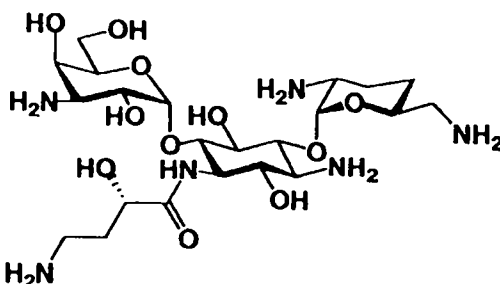
ammonia, 15 mL), and the column was washed with 30 mL of 0.005 M aqueous ammonia. Elution was carried out with 0.1 M (30 mL) → 0.25 M (30 mL) → 0.5 M (30 mL) → 0.75 M (30 mL) → 1.0 M aqueous ammonia (60 mL), and the corresponding fractions were concentrated to dryness to give the title compound (112 mg, 0.5 carbonate dihydrate, 86%).

[0371] R<sub>f</sub> value: 0.13 (chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) : ethanol = 4 : 6 : 7 : 2)

10 <sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 5.16 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 5.01 (d, 1H, J = 4 Hz), 4.21 (dd, 1H, J = 3.5, 9 Hz), 3.98 (m, 1H), 3.93 (t, 1H, J = 10.5, 10.5 Hz), 3.87 (m, 1H), 3.75 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.72 - 3.80 (m, 2H), 3.69 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.40 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.35 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.32 (dd, 1H, J = 4, 10.5 Hz), 3.28 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.96 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.88 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.84 (dt, 1H, J = 4, 4, 13 Hz), 2.76 (m, 2H), 2.66 (dd, 1H, J = 5, 13.5 Hz), 2.64 (dd, 1H, J = 7.5, 13.5 Hz), 1.92 (m, 1H), 1.70 - 1.84 (m, 3H), 1.64 (dq, 1H, J = 3.5, 13, 13, 13 Hz), 1.39 (m, 1H).

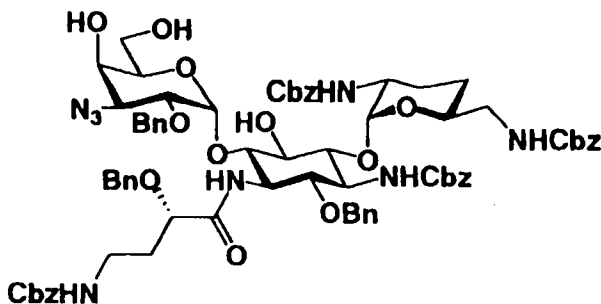
20 <sup>13</sup>C-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 178.39, 102.05, 99.61, 83.52, 79.21, 75.49, 72.90, 72.38, 71.72, 71.47, 70.78, 70.02, 60.97, 56.33, 56.27, 54.97, 50.78, 45.98, 37.96, 37.08, 28.41, 26.94. Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>·0.5H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O. C, 42.51; H, 7.77; N, 13.22. Found, C, 42.51; H, 7.74; N, 13.26.

25 [0372] Example 9  
Production of 4''-epi-2-hydroxyarbakacin  
[Chemical formula 94]



[0373] Production step 9-1  
3''-Azido-3,2',6',4'''-tetra-N-benzylloxycarbonyl-2,2'',2'''-tri

-O-benzyl-3''-deoxy-4''-epi-2-hydroxyarbakacin  
[Chemical formula 95]



[0374]

5            2-O-Benzyl-1-N-[2-(S)-O-benzyl-4-benzyloxycarbonylami  
nobutyryl]-3,2',6'-tri-N-benzyloxycarbonyl-3',4'-dideoxy-2-hydro  
xyneamine (39 mg) produced in production step 3-6 of Example  
3 was dissolved in 1.2 mL of methylene chloride. The  
compound (50.3 mg) produced in production step 10-5b of  
10 Example 10 and 117 mg of a molecular sieves 4A powder were  
added to the solution, and the mixture was stirred at room  
temperature for 30 min. N-Iodosuccinimide (39 mg) and 0.91  
μL of trifluoromethanesulfonic acid were added thereto at -20°C  
with stirring, and the mixture was stirred under light shielded  
15 conditions at -20°C for 3 hr. Triethylamine (1.9 μL) was added  
thereto at -20°C, and the reaction mixture was filtered through  
Celite. The insolubles were washed with 10 mL of chloroform.  
The combined organic layers were washed once with 3 mL of a  
saturated aqueous sodium bicarbonate solution and twice with 3  
20 mL of a 10% aqueous sodium thiosulfate solution, was dried  
over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The  
residue was purified by column chromatography on silica gel (4  
g, chloroform : ethyl acetate = 30 : 1 → 20 : 1, chloroform :  
methanol = 20 : 1 → 10 : 1) to give 41 mg of a crude product.

25            Rf value: 0.65 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3)

[0375]            The crude product (41 mg) was dissolved in 1.2  
mL of a mixed liquid composed of methylene chloride and a  
0.1% solution of sodium methoxide in methanol (methylene  
chloride : solution = 2 : 1) under ice cooling, and the solution  
30 was returned to room temperature, and a reaction was allowed

178

to proceed for 2 hr. A 50% aqueous acetic acid solution (0.8 mL) was added thereto under ice cooling. The mixture was diluted with 10 mL of chloroform, and the diluted solution was washed with 3 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (4 g, chloroform  $\rightarrow$  chloroform : methanol = 99 : 1  $\rightarrow$  97 : 3) to give the title compound (24.1 mg, yield 51%).

10 [0376] R<sub>f</sub> value: 0.24 (chloroform : ethyl acetate = 2 : 3)

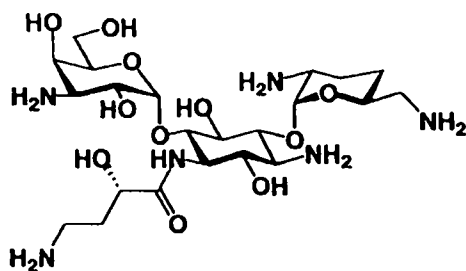
ESIMS: m/z 1423 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (pyridine-d<sub>5</sub>):  $\delta$  8.79 (d, 1H, J = 7 Hz), 8.43 (d, 1H, J = 9 Hz), 7.90 (t, 1H, J = 6, 6 Hz), 7.76 (m, 1H), 7.18 - 7.71 (m, 35H), 7.04 (br. s, 1H), 6.59 (br. s, 1H), 6.07 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 5.74 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.06 - 5.44 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 5.24 - 5.41 (m, 4H), 5.04 (br. s, 1H), 4.70 - 4.80 (m, 3H), 4.57 (dd, 1H, J = 4, 10 Hz), 4.36 - 4.51 (m, 4H), 4.18 - 4.35 (m, 2H), 4.00 - 4.15 (m, 2H), 3.68 (m, 1H), 3.60 (m, 2H), 3.51 (m, 1H), 2.48 (m, 1H), 2.34 (m, 1H), 1.95 (m, 2H), 1.61 (m, 2H).

[0377] Production step 9-2

4''-Epi-2-hydroxyarbekacin

[Chemical formula 96]



25 [0378] Liquid ammonia (about 5 mL) was reservoiried at -50°C in an egg-plant type flask containing 24 mg of the compound produced in production step 9-1. Metallic sodium (31 mg) was added thereto at -50°C, and the mixture was vigorously stirred with a glass stirrer bar for 2 hr. Solid ammonium chloride was gradually added until the color of radicals disappeared. The system was returned to room

30

temperature to evaporate ammonia. Finally, the contents of the flask were concentrated to dryness by an evaporator. Water (2.4 mL) was added to the residue, and the solution was adjusted to pH 7 by the addition of 1 M aqueous ammonia.

- 5 The neutralized solution was charged into an Amberlite CG-50 column (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia, 3 mL), and the column was washed with 0.005 M aqueous ammonia (6 mL). Elution was carried out with 0.1 M → 0.2 M → 0.3 M → 0.5 M → 0.8 M aqueous ammonia (each 6 mL). The  
10 corresponding fractions were concentrated to dryness to give 7.3 mg of the title compound (yield 53%, 2.5 carbonate 4.5 hydrate).

[0379] R<sub>f</sub> value: 0.16 (chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) : ethanol  
15 = 4 : 6 : 7 : 2)

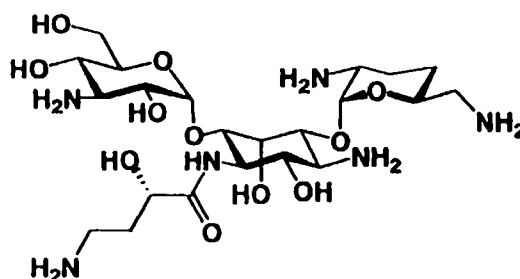
<sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 5.08 (br. s, 1H), 5.00 (br. s, 1H), 4.13 (m, 2H), 3.75 - 3.90 (m, 3H), 3.50 - 3.75 (m, 4H), 3.47 (br. d, 1H, J = 10 Hz), 3.20 - 3.40 (m, 2H), 2.72 - 2.86 (m, 3H), 2.68 (m, 2H), 2.58 (br. s, 2H), 1.83 (m, 1H), 1.48 - 1.75  
20 (m, 3H), 1.31 (m, 1H).

Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>·2.5H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·4.5H<sub>2</sub>O. C, 36.57; H, 7.26; N, 10.44. Found, C, 36.65; H, 7.01; N, 10.57.

[0380] Example 10

5-Epi-2-hydroxyarbekacin

25 [Chemical formula 97]



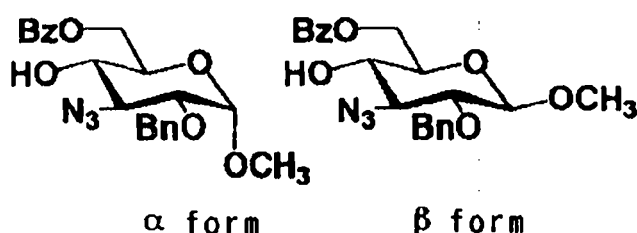
[0381] Production step 10-1

Methyl

3-azido-6-O-benzoyl-2-O-benzyl-3-deoxy-D-glucopyranoside

30

[Chemical formula 98]



[0382]            Methyl

3-azido-2-O-benzyl-3-deoxy-D-glucopyranoside (93 mg) was dissolved in 0.84 mL of pyridine. Benzoyl chloride (45  $\mu$ L) was added to the solution at  $-20^{\circ}\text{C}$  with stirring, and the mixture was stirred at  $-20^{\circ}\text{C}$  for one hr. Water (14  $\mu$ L) was added thereto, and the mixture was stirred at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 30 min. The contents were concentrated to dryness. Chloroform (10 mL) was added thereto, and the mixture was washed three times with 5 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, three times with 5 mL of a 5% aqueous potassium bisulfate solution and three times with 5 mL of water, was dried over a Glauber's salt and was concentrated under the reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (25 g, hexane : ethyl acetate = 3 : 1) to give the title compound (97 mg, yield 78%).

Rf value: 0.72 (chloroform : methanol = 20 : 1)

[0383]             $\alpha$  Form

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 8.10 (m, 10H), 4.62 - 4.79 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.73 (dd, 1H,  $J = 4, 12$  Hz), 4.60 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.45 (dd, 1H,  $J = 3, 12$  Hz), 3.87 (ddd, 1H,  $J = 3, 4, 10$  Hz), 3.85 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.39 (s, 3H), 3.38 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.31 (dt, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 2.95 (d,  $J = 4$  Hz).

25 [0384]             $\beta$  Form

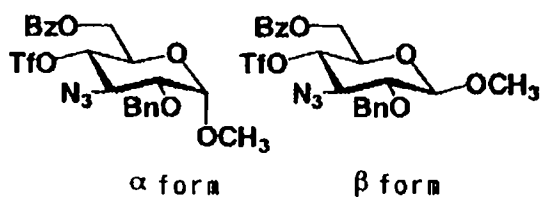
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 8.10 (m, 10H), 4.70 - 4.91 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.74 (dd, 1H,  $J = 4, 12$  Hz), 4.53 (dd, 1H,  $J = 4, 12$  Hz), 4.38 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 3.59 (s, 3H), 3.57 (dt, 1H,  $J = 4, 4, 12$  Hz), 3.50 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.37 (dt, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.26 (dd, 1H,  $J = 8, 10$  Hz).

[0385]            Production step 10-2



Methyl3-azido-6-O-benzoyl-2-O-benzyl-3-deoxy-4-O-trifluoromethanesulfonyl-D-glucopyranoside

[Chemical formula 099]



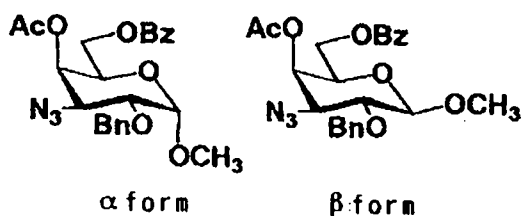
5

[0386] The compound (3.30 g) produced in production step 10-1 was dissolved in 40 mL of methylene chloride. Pyridine (4.8 mL) was added to the solution, 3.4 mL of anhydrous trifluoromethanesulfonic acid was added thereto at -20°C with stirring, and the mixture was stirred at -20°C for one hr. Methanol (0.81 mL) was added, and the mixture was stirred at -20°C for 20 min. Chloroform (300 mL) was added thereto, and the mixture was washed three times with 170 mL of an ice cooled saturated aqueous sodium bicarbonate solution, three times with 170 mL of an ice cooled 5% aqueous potassium bisulfate solution and three times with 170 mL of ice cooled semisaturated brine. The washed solution was dried over a Glauber's salt under ice cooling and was concentrated to dryness under ice cooling to give the title compound (3.60 g, 99%). This compound was unstable and hence was immediately used in the next reaction.

Rf value: 0.45 (hexane : ethyl acetate = 3 : 1)

[0387] Production step 10-3Methyl25 3-azido-4-O-acetyl-6-O-benzoyl-2-O-benzyl-3-deoxy-D-galactopyranoside

[Chemical formula 100]



[0388] The compound (3.60 g) produced in production step 10-2 was dissolved in 33 mL of N,N-dimethylformamide. Cesium acetate (7.66 g) was added to the solution, and the mixture was allowed to react at room temperature for one hr.

5 Ethyl acetate (330 mL) was added thereto, and the mixture was washed twice with 180 mL of water, twice with 180 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and twice with semisaturated brine, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness to give the title compound (3.72 g, yield 99%).

Rf value: 0.40 (hexane : ethyl acetate = 3 : 1)

[0389]  $\alpha$  Form

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.20 - 8.10 (m, 10H), 5.47 (d, 1H,  $J$  = 4 Hz), 4.72 - 4.95 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}}$  = 12 Hz), 4.25 (dd, 1H,  $J$  = 7, 11 Hz), 4.69 (d, 1H,  $J$  = 4 Hz), 4.38 (ddd, 1H), 4.21 (dd, 1H,  $J$  = 3, 7 Hz), 3.82 (dd, 1H,  $J$  = 4, 11 Hz), 4.01 (dd, 1H,  $J$  = 5, 11 Hz), 3.65 (s, 3H), 2.38 (s, 3H).

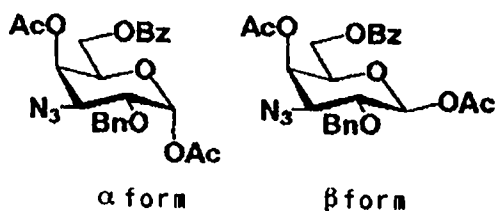
[0390]  $\beta$  Form

20  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.20 - 8.10 (m, 10H), 5.45 (d, 1H,  $J$  = 4 Hz), 4.62 - 4.82 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}}$  = 12 Hz), 4.50 (dd, 1H,  $J$  = 7, 12 Hz), 4.39 (d, 1H,  $J$  = 8 Hz), 4.21 (ddd, 1H), 3.94 (t, 1H,  $J$  = 7, 7 Hz), 3.64 (dd, 1H,  $J$  = 8, 10 Hz), 3.61 (dd, 1H,  $J$  = 4, 10 Hz), 3.39 (s, 3H), 2.16 (s, 3H).

[0391] Production step 10-4

25 3-Azido-1,4-di-O-acetyl-6-O-benzoyl-2-O-benzyl-3-deoxy-D-galactopyranose

[Chemical formula 101]



[0392] The compound (3.72 g) produced in production step 10-3 was dissolved in 74 mL of acetic acid : acetic anhydride : sulfuric acid (25 : 25 : 1), and the solution was stirred at room temperature for 3 hr. Chloroform (740 mL) was

added thereto, and the mixture was washed three times with 350 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and three times with 350 mL of water, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness to give the title compound

5 (3.66 g, yield 93%).

Rf value: 0.32 (hexane : ethyl acetate = 3 : 1)

[0393]  $\alpha$  Form

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 8.10 (m, 10H), 6.46 (d, 1H, J = 4 Hz), 5.55 (dd, 1H), 4.64 - 4.73 (ABq, 2H, Jgem = 12 Hz),  
10 4.40 (dd, 1H, J = 7, 11 Hz), 4.35 (m, 1H), 4.19 (dd, 1H, J = 6, 11 Hz), 3.96 (m, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.14 (s, 3H).

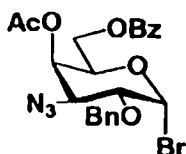
[0394]  $\beta$  Form

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 8.10 (m, 10H), 5.69 (d, J = 8 Hz), 5.51 (dd, 1H), 4.74 - 4.86 (ABq, 2H, Jgem = 12 Hz), 4.42  
15 (m, 1H, J = 7, 11 Hz), 4.25 (dd, 1H, J = 7, 11 Hz), 4.11 (m, 1H), 3.79 (dd, 1H, J = 8, 10 Hz), 3.72 (dd, 1H, J = 3, 10 Hz), 2.19 (s, 3H), 2.09 (s, 3H).

[0395] Production step 10-5a

20 3-Azido-4-O-acetyl-6-O-benzoyl-2-O-benzyl-1-bromo-3-deoxy- $\alpha$ -D-galactopyranose

[Chemical formula 102]



[0396] The compound (25 mg) produced in production step 10-4  
25 was dissolved in 0.5 mL of a solvent (methylene chloride : ethyl acetate = 9 : 1). Titanium tetrabromide (29 mg) was added under ice cooling with stirring. The mixture was returned to room temperature and was stirred for one hr. The reaction solution was ice cooled. Ice cooled methylene chloride (2 mL)  
30 was added to the cooled solution, and the mixture was washed six times with 2 mL of ice cooled water, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness to give the title compound (27 mg, yield 83%). This compound was unstable

and, hence, was immediately used in the next reaction.

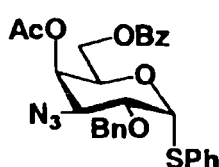
Rf value: 0.82 (hexane : ethyl acetate = 3 : 2)

[0397]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.15 - 8.10 (m, 10H), 6.49 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 5.54 (dd, 1H,  $J = 2, 4$  Hz), 4.45 (dd, 1H,  $J = 7, 11$  Hz), 4.39 - 4.43 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 7$  Hz), 4.33 (ddd, 1H), 4.27 (dd, 1H,  $J = 6, 11$  Hz), 4.06 (dd, 1H,  $J = 4, 11$  Hz), 3.74 (dd, 1H,  $J = 4, 11$  Hz), 2.16 (s, 3H).

[0398] Production step 10-5b

10 3-Azido-4-O-acetyl-6-O-benzoyl-2-O-benzyl-1,3-dideoxy-1-thiophenyl- $\alpha$ -D-galactopyranose

[Chemical formula 103]



[0399] The compound (300 mg) produced in production step 10-4 was dissolved in 5 mL of methylene chloride. Phenylthiotrimethylsilane (353  $\mu\text{L}$ ) and 135  $\mu\text{L}$  of trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate were added to the solution, and the mixture was refluxed with stirring. The reaction solution was ice cooled six hr after the start of the reflux. Ice cooled methylene chloride (24 mL) was added to the cooled solution, and the mixture was washed twice with 10 mL of an ice cooled 5% aqueous sodium hydroxide solution and twice with 10 mL of ice cooled water, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness, followed by recrystallization with ethyl acetate/hexane to give the title compound (204 mg, yield 62%).

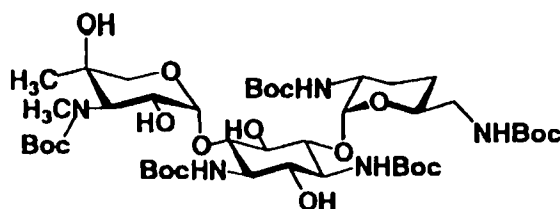
[0400] Rf value: 0.33 (hexane : ethyl acetate = 4 : 1)

30  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.0 - 8.0 (m, 15H), 5.76 (d, 1H,  $J = 5.5$  Hz), 5.52 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 4.82 (br. t, 1H,  $J = 6.5, 6.5$  Hz), 4.69 - 4.80 (ABq, 2H,  $J = 11$  Hz), 4.36 (dd, 1H,  $J = 7.5, 11.5$  Hz), 4.25 (dd, 1H,  $J = 5, 11.5$  Hz), 4.17 (dd, 1H,  $J = 5.5, 10.5$  Hz), 3.92 (dd, 1H,  $J = 3, 10.5$  Hz), 2.16 (s, 3H).

[0401] Production step 10-6

1,3,2',6',3''-Penta-N-tert-butoxycarbonyl-2-hydroxygentamicin C1a

[Chemical formula 104]



- 5 [0402] 2-Hydroxygentamicin C1a (10.0 g) (2.5 sulfate) was dissolved in 140 mL of water. Triethylamine (30 mL) was added to the solution. A solution (180 mL) of 28.1 g of di-tert-butyl dicarbonate in 1,4-dioxane was added, and the mixture was stirred at 60°C for 2 hr. Concentrated aqueous ammonia (17 mL) was added thereto, and the mixture was stirred at 60°C for 30 min. The reaction mixture was returned to room temperature and was concentrated to dryness. Water (1 L) was added to the residue, and the solution was stirred overnight. The resultant precipitate was collected by filtration, was washed with water, and was dried under the reduced pressure to give the title compound (12.4 g, yield 91%).

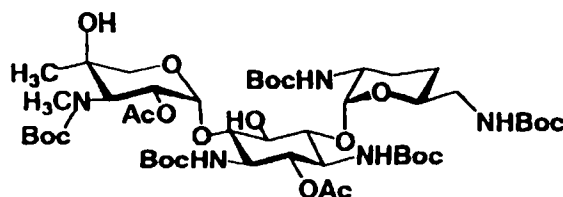
R<sub>f</sub> value: 0.73 (lower layer part of chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) = 1 : 1 : 1 was used)

20 ESIMS: m/z 988 [M + Na]<sup>+</sup>

[0403] Production step 10-7

2,2''-Di-O-acetyl-1,3,2',6',3''-penta-N-tert-butoxycarbonyl-2-hydroxygentamicin C1a

[Chemical formula 105]



25

[0404] The compound (12.4 g) produced in production step 10-6 was dissolved in 250 mL of pyridine. Acetic anhydride (36.3 mL) was added to the solution under ice

cooling, and the mixture was returned to room temperature and was allowed to react. After the elapse of 88 hr from the start of the reaction, 31.3 mL of methanol was added to the reaction mixture under ice cooling, and the mixture was stirred under ice cooling for 30 min. The reaction mixture was concentrated to dryness. Chloroform (1.2 L) was added to the residue, and the solution was washed three times with 600 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, three times with 600 mL of a 5% aqueous potassium bisulfate solution and once with 600 mL of water, was dried over a Glauber's salt and was concentrated under the reduced pressure to give the title compound (13.8 g, quantitative).

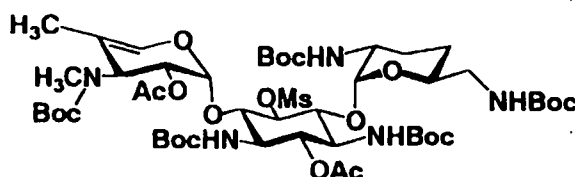
[0405] Rf value: 0.81 (chloroform : methanol = 10 : 1)

ESIMS: m/z 1072 [M + Na]<sup>+</sup>

15 [0406] Production step 10-8

2,2''-Di-O-acetyl-1,3,2',6',3''-penta-N-tert-butoxycarbonyl-4''-eno-5-O-methanesulfonyl-2-hydroxygentamicin C1a

[Chemical formula 106]



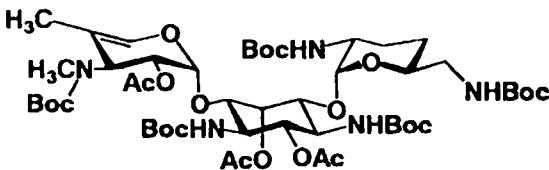
20 [0407] The compound (13.5 g) produced in production step 10-7 was dissolved in 270 mL of methylene chloride. 4-Dimethylaminopyridine (23.6 g) and 10.9 mL of methanesulfonyl chloride were added to the solution under ice cooling, and the mixture was returned to room temperature and was stirred for 45 hr. The reaction mixture was diluted with 1 L of chloroform, and the diluted solution was washed three times with 600 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, three times with 600 mL of a 5% aqueous potassium bisulfate solution and twice with 600 mL of water, was dried over a Glauber's salt and was then concentrated under the reduced pressure to give 19.3 g of a crude product. The crude product was purified by column chromatography on silica gel

(200 g, chloroform → chloroform : methanol = 50 : 1) to give the title compound (10.8 g, yield 76%).

R<sub>f</sub> value: 0.44 (chloroform : methanol = 30 : 1)

ESIMS: m/z 1132 [M + Na]<sup>+</sup>

- 5 [0408]      Production step 10-9  
2,5,2''-Tri-O-acetyl-1,3,2',6',3''-penta-N-tert-butoxycarbonyl-4''-eno-5-epi-2-hydroxygentamicin C1a  
 [Chemical formula 107]

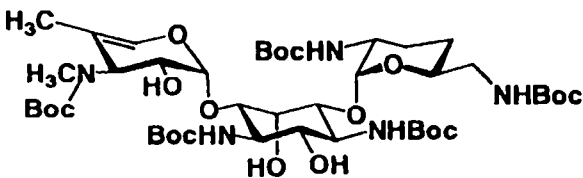


- 10 [0409]      The compound (10.5 g) produced in production step 10-8 was dissolved in 105 mL of N,N-dimethylformamide. Cesium acetate (16.8 g, dried at 120°C for 6 hr) was added to the solution, and the mixture was stirred at 100°C for 16 hr. The reaction mixture was diluted with 1.1 L of ethyl acetate,  
 15 was washed once with 300 mL of water, twice with 300 mL of saturated brine, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness to give the title compound (10.1 g, yield 99%).

R<sub>f</sub> value: 0.36 (chloroform : methanol = 30 : 1)

- 20 ESIMS: m/z 1096 [M + Na]<sup>+</sup>

- [0410]      Production step 10-10  
1,3,2',6',3''-Penta-N-tert-butoxycarbonyl-4''-eno-5-epi-2-hydroxygentamicin C1a  
 [Chemical formula 108]



- 25 [0411]      A 1 % solution (240 mL) of sodium methoxide in methanol was added to the compound (10.1 g) produced in production step 10-9, and the mixture was allowed to react at

room temperature for 41 hr. The reaction mixture was neutralized with Dowex 50 W x 2 (H<sup>+</sup> form, substituted with methanol). The resin was removed by filtration, and the filtrate was concentrated to dryness to give the title compound (8.2 g, yield 92%).

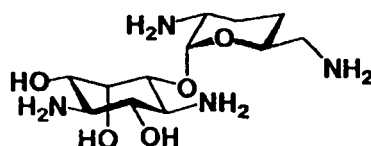
Rf value: 0.24 (chloroform : methanol = 30 : 1)

ESIMS: m/z 970 [M + Na]<sup>+</sup>

[0412] Production step 10-11

3',4'-Dideoxy-5-epi-2-hydroxyneamine

[Chemical formula 109]



[0413] 6 M hydrochloric acid-methanol (1 : 1) (164 mL) was added to the compound (8.2 g) produced in production step 10-10, and the mixture was allowed to react at room temperature for 7 hr. The reaction mixture was further allowed to react at 70°C for 14 hr. The reaction solution was adjusted to pH 6.6 by the addition of 4 M sodium hydroxide under ice cooling. The solution was then diluted with 1.3 L of water, and the diluted solution was charged into an Amberlite CG-50 (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia) column (900 mL), and elution was successively carried out with 0.005 M → 0.1 M → 0.2 M → 0.3 M → 0.4 M → 0.5 M aqueous ammonia to give the title compound (1.54 g, 41% as dicarbonate).

[0414] Rf value: 0.16 (chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) : water = 1 : 4 : 1 : 1).

<sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 4.90 (d, 1H, J = 3 Hz), 4.16 (s, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.43 (d, 1H, J = 10 Hz), 3.29 (d, 1H, J = 10 Hz), 3.04 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.00 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.90 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.76 (m, 1H), 2.61 (dd, 1H, J = 4.5, 13.5 Hz), 2.57 (dd, 1H, J = 7, 13.5 Hz), 1.6 - 1.75 (m, 3H), 1.35 (m, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 96.51, 75.99, 75.31, 72.47,

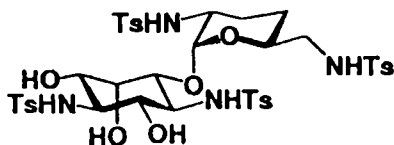


71.09, 68.40, 54.32, 53.38, 50.32, 45.84, 28.35, 27.01.

[0415] Production step 10-12

3',4'-Dideoxy-5-epi-1,3,2',6'-tetra-N-tosyl-2-hydroxynea  
mine

5 [Chemical formula 110]



[0416] The compound (202 mg, 0.470 mmol, calculated as dicarbonate) produced in production step 10-11 was dissolved in 2.0 mL of water. Sodium carbonate (421 mg) was added to the solution under ice cooling. 1,4-Dioxane (4.0 mL) and 541 mg of tosyl chloride were added thereto, and the mixture was returned to room temperature and was allowed to react. After the elapse of 2 hr from the start of the reaction, 20 mL of water was added to the reaction mixture. The mixture was extracted three times with 10 mL of chloroform, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (10 g, chloroform : methanol = 29 : 1) to give the title compound (383 mg, 88%).

20 [0417] R<sub>f</sub> value: 0.43 (chloroform : methanol = 10 : 1)

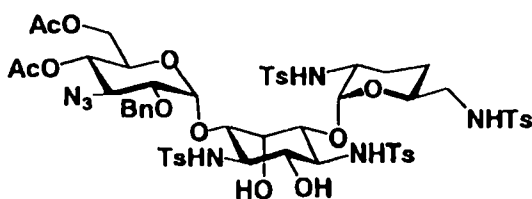
ESIMS: m/z 945 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (pyridine-d<sub>5</sub>): δ 9.41 (d, 1H, J = 7 Hz), 8.88 (d, 1H, J = 9 Hz), 8.57 (t, 1H, J = 6, 6 Hz), 8.31 (br., 1H), 7.89 - 8.15 (m, 8H), 6.96 - 7.25 (m, 8H), 5.22 (d, 1H, J = 3 Hz), 4.86 (m, 1H), 4.73 (q, 1H, J = 10, 10, 10 Hz), 4.60 (br. s, 1H), 4.43 (dt, 1H, J = 7, 10, 10 Hz), 4.00 (dd, 1H, J = 2, 10.5 Hz), 3.86 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.77 (dd, 1H, J = 2, 10.5 Hz), 3.72 (m, 1H), 3.15 - 3.32 (m, 2H), 2.26 (m, 1H), 2.09, 2.13, 2.19, 2.21 (each s, each 3H), 1.51 - 1.69 (m, 3H).

30 [0418] Production step 10-13

4'',6''-Di-O-acetyl-3''-azido-2''-O-benzyl-3''-deoxy-5-epi-1,  
3,2',6'-tetra-N-tosyl-2-hydroxydibekacin

[Chemical formula 111]



[0419] Process A: A solution of the compound (372 mg) produced in production step 1-5a of Example 1 in 21 mL of methylene chloride was added to the compound (711 mg) produced in production step 10-12. Drierite (2.16 g) was added thereto, and the mixture was stirred at room temperature for 3 hr. Mercuric cyanide (795 mg) was added thereto, and the mixture was stirred under light shielded conditions at room temperature for 104 hr. The reaction mixture was filtered through Celite to remove the insolubles. The insolubles were washed with 50 mL of chloroform. The combined organic layers were washed twice with 35 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, twice with 35 mL of a 10% aqueous sodium iodide solution and once with 35 mL of water, were dried over a Glauber's salt and were then concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (10 g, chloroform  $\rightarrow$  chloroform : ethyl acetate = 9 : 1  $\rightarrow$  1 : 1  $\rightarrow$  2 : 3) to give the title compound (426 mg, yield 44%). In this case, 385 mg (54%) of the starting compound was recovered.

[0420] Process B: The compound (20.5 mg) produced in production step 10-12 and 11.4 mg of the compound produced in production step 1-5b of Example 1 were dissolved in 0.4 mL of methylene chloride. A molecular sieves 4A powder (63 mg) was added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for one hr. N-Iodosuccinimide (5.9 mg) and a solution of 0.6  $\mu$ L of trifluoromethanesulfonic acid in 0.1 mL of methylene chloride were added thereto at  $-20^{\circ}\text{C}$  with stirring, followed by stirring at  $-20^{\circ}\text{C}$  under light shielded conditions for 15 hr. The reaction mixture was filtered through Celite to remove the insolubles. The insolubles were washed with 2 mL

of chloroform. The combined organic layers were washed twice with 2 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, twice with 2 mL of a 10% aqueous sodium thiosulfate solution and twice with 2 mL of water, were dried over a Glauber's salt and were then concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (10 g, chloroform → chloroform : ethyl acetate = 19 : 1 → 9 : 1 → 1 : 1 → 2 : 3) to give the title compound (7.7 mg, yield 27%). In this case, 7.9 mg (38%) of the starting compound was recovered.

[0421] R<sub>f</sub> value: 0.19 (chloroform : ethyl acetate = 5 : 2)

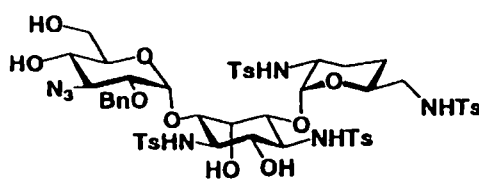
ESIMS: m/z 1306 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (pyridine-d<sub>5</sub>): δ 8.99 (d, 1H, J = 9 Hz), 8.72 (m, 1H), 8.57 (t, 1H, J = 6, 6 Hz), 8.53 (m, 1H), 7.05 - 8.05 (m, 21H), 5.70 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 5.49 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.29 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.84 - 5.20 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 5.13 (br. s, 1H), 4.86 (m, 1H), 4.73 (m, 1H), 4.65 - 4.77 (m, 3H), 4.55 (dd, 1H, J = 4, 13.5 Hz), 4.12 - 4.21 (m, 2H), 4.16 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.92 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.79 (dd, 1H, J = 3.5, 10 Hz), 3.63 (m, 1H), 3.27 (m, 2H), 2.20 (m, 1H), 2.14, 2.17, 2.21, 2.23 (each s, each 3H), 2.00, 2.05 (each s, each 3H), 1.49 - 1.57 (m, 3H).

[0422] Production step 10-14

3''-Azido-2''-O-benzyl-3''-deoxy-5-epi-1,3,2',6'-tetra-N-tosyl-2-hydroxydibekacin

[Chemical formula 112]



[0423] A 0.5% solution (13.4 mL) of sodium methoxide in methanol was added to the compound (673 mg) produced in production step 10-13, and the mixture was allowed to react at room temperature for one hr. The reaction mixture was neutralized with Dowex 50 W × 2 (H<sup>+</sup> form, substituted with

methanol). The resin was removed by filtration, and the filtrate was concentrated to dryness to give the title compound (593 mg, 94%).

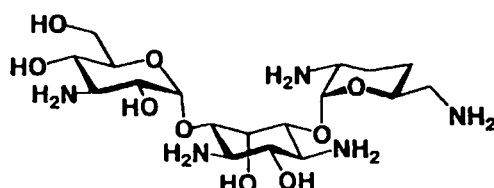
Rf value: 0.21 (chloroform : ethyl acetate = 1 : 1)

5 ESIMS:  $m/z$  1222  $[M + Na]^+$

[0424] Production step 10-15

5-Epi-hydroxydibekacin

[Chemical formula 113]



- 10 [0425] Liquid ammonia (120 mL) was reservoiried at -50°C in an egg-plant type flask containing 593 mg of the compound produced in production step 10-14. Metallic sodium (980 mg) was added at -50°C, and the mixture was vigorously stirred with a glass stirrer bar for 2 hr. Methanol was gradually
- 15 added until the color of radicals disappeared. The mixture was returned to room temperature to evaporate ammonia and was finally concentrated to dryness by an evaporator. Water (43 mL) was added to the residue, and the solution was adjusted to pH 4 to 5 with Dowex 50 W  $\times$  2 ( $H^+$  form). The contents of the
- 20 flask including the resin as such were added to a column packed with 15 mL of the same resin. The column was washed with 160 mL of water, and elution was carried out with 1 M aqueous ammonia (cut 80 mL). A ninhydrin-positive fraction (Fr 2) was concentrated to dryness to give 299 mg of a crude product.
- 25 The crude product was brought to an aqueous solution (60 mL). The aqueous solution was charged into a CM-Sephadex C-25 column (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia, 60 mL), and the column was washed with water (120 mL). Elution was carried out with 0.05 M (300 mL)  $\rightarrow$  0.2 M aqueous ammonia
- 30 (675 mL, cut 12 mL). The corresponding fraction (Fr 38 - 50) was concentrated to dryness to give the title compound (183 mg, yield 67.5%, as monocarbonate-monohydrate).

[0426] Rf value: 0.29 (1-butanol : ethanol : chloroform : 17% aqueous ammonia = 4 : 7 : 2 : 7)

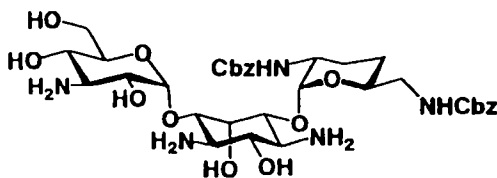
<sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 4.99 (d, 1H, J = 4 Hz), 4.92 (d, 1H, J = 3 Hz), 4.47 (br. s, 1H), 3.84 (br. d, 1H, J = 12 Hz), 3.83 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.62 (dd, 1H, J = 7.5, 12.5 Hz), 3.49 (dd, 1H, J = 2, 10 Hz), 3.42 (dd, 1H, J = 4, 10.5 Hz), 3.37 (dd, 1H, J = 2, 10 Hz), 3.17 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.15 (t, 1H, J = 11, 11 Hz), 3.12 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.10 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.06 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.79 (m, 1H), 2.65 (dd, 1H, J = 4.5, 13.5 Hz), 2.60 (dd, 1H, J = 7.5, 13.5 Hz), 1.64 - 1.78 (m, 3H), 1.37 (m, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 102.43, 96.75, 83.11, 76.41, 75.21, 74.00, 72.95, 71.40, 71.06, 68.07, 62.13, 55.39, 54.37, 53.69, 50.84, 46.49, 28.92, 27.62.

15 [0427] Production step 10-16

2',6'-Di-N-benzyloxycarbonyl-5-epi-2-hydroxydibekacin

[Chemical formula 114]



[0428] Nickel acetate tetrahydrate (478 mg) was added to 20 224 mg (calculated as monocarbonate monohydrate) of the compound produced in production step 10-15. Methanol (9.0 mL) was added thereto, and the mixture was brought to a homogeneous solution with an ultrasonic cleaner (2 to 3 min, green color). N-Benzyloxycarbonyloxysuccinimide (263 mg) 25 was added by portions under ice cooling over a period of 2 min. The mixture was stirred under ice cooling for one hr. The mixture was returned to room temperature and was further stirred for 2.5 hr. The reaction mixture was concentrated to dryness. A sodium chloride saturated concentrated aqueous 30 ammonia (15 mL) was added to the residue, and the mixture was extracted five times with 10 mL of 1-butanol. The extracted butanol layer was concentrated to dryness. N,N-Dimethylformamide was added to 1594 mg of the residue,

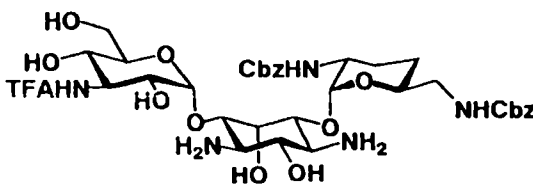
and the mixture was filtered through Celite. The substance on the Celite was washed with N,N-dimethylformamide (4 mL  $\times$  6). The filtrate and the wash liquid were concentrated to dryness to give 512 mg of a crude product.

- 5 Rf value: 0.41 (lower layer part of chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) = 1 : 1 : 1 was used)

[0429] Production step 10-17

- 10 2',6'-Di-N-benzyloxycarbonyl-5-epi-2-hydroxy-3''-N-trifluoroacetyldibekacin

[Chemical formula 115]



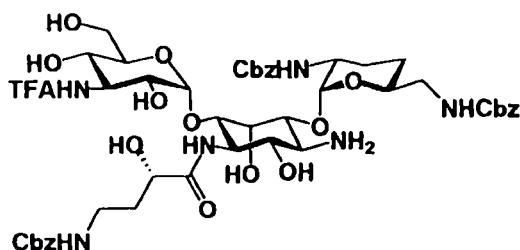
- [0430] The crude product (512 mg) produced in production step 10-16 was dissolved in 7.1 mL of anhydrous N,N-dimethylformamide. Ethyl trifluoroacetate (74  $\mu$ L) was added to the solution under ice cooling with stirring. The mixture was returned to room temperature and was stirred for 16.5 hr. The reaction solution was concentrated to dryness to give 609 mg of a product.

- 20 Rf value: 0.49 (lower layer part of chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) = 1 : 1 : 1 was used)

[0431] Production step 10-18

- 25 1-N-(4-Benzyloxycarbonylamino-2-(S)-hydroxybutyryl)-2',6'-di-N-benzyloxycarbonyl-5-epi-2-hydroxy-3''-N-trifluoroacetyldibekacin

[Chemical formula 116]



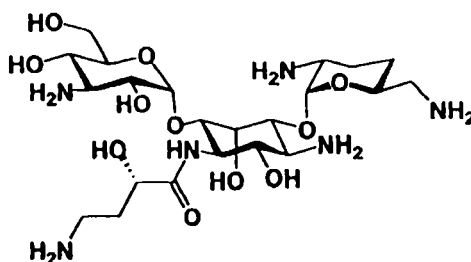
[0432] The crude product (609 mg) produced in production step 10-17 was dissolved in 12 mL of anhydrous tetrahydrofuran. Next, a solution (6 mL) of 219 mg of N-benzyloxycarbonyl-4-amino-2-(S)-hydroxybutyric acid succinimide ester in tetrahydrofuran synthesized according to the report of Kawaguchi et al. (Journal of Antibiotics, Vol. 25, pp. 695 - 708 (1972)) was added dropwise to the solution over a period of 3 min under ice cooling with stirring. The mixture was returned to room temperature and was stirred. After the elapse of 3.5 hr from the start of stirring, a solution (0.92 mL) of 34 mg of N-benzyloxycarbonyl-4-amino-2-(S)-hydroxybutyric acid succinimide ester in tetrahydrofuran was added to the reaction solution under ice cooling with stirring, and the mixture was returned to room temperature and was stirred. After the elapse of 18.5 hr from the start of stirring, the reaction solution was concentrated to dryness. Ethyl acetate (150 mL) was added to the residue, and the mixture was washed twice with 30 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and twice with 30 mL of water and was concentrated to dryness to give 604 mg of the reaction mixture.

Rf value: 0.67 (lower layer part of chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) = 1 : 1 : 1 was used).

[0433] Production step 10-19

5-Epi-2-hydroxyarbekacin

[Chemical formula 117]



- [0434] Tetrahydrofuran (20.5 mL) and 15.4 mL of 3.5 M aqueous ammonia were added to the reaction mixture (604 mg) produced in production step 10-18, and the mixture was stirred at room temperature for 44 hr. The reaction solution was concentrated to dryness. Tetrahydrofuran-acetic acid-water (4 : 1 : 1) (33 mL) was added to 656 mg of the residue. Further, 10 drops of a suspension of palladium black in water were added thereto, and the mixture was stirred at the atmospheric pressure for 5 hr while blowing hydrogen into the system. Next, palladium black was removed from the reaction solution by filtration. The palladium black was washed with water, and the filtrate and the wash liquid were combined and were concentrated to dryness. 2 M aqueous ammonia was added to the residue, and the mixture was allowed to stand at room temperature overnight. The insolubles were removed by filtration through a cotton stopper and were concentrated to dryness to give 466 mg of a crude product. This crude product was dissolved in 60 mL of water to give an aqueous solution. The aqueous solution was added to a CM-Sephadex C-25 column (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia, 60 mL). The column was washed with 120 mL of 0.005 M aqueous ammonia. Elution was carried out with aqueous ammonia with the concentration being varied from 0.05 M (300 mL) to 0.5 M (600 mL), and 0.75 M (600 mL) aqueous ammonia. The corresponding fractions were concentrated to give the title compound: 5-epi-2-hydroxyarabekacin (65 mg, 2.5 carbonate trihydrate, 20% in four steps).
- [0435] R<sub>f</sub> value: 0.11 (1-butanol : ethanol : chloroform : 17% aqueous ammonia = 4 : 7 : 2 : 7)



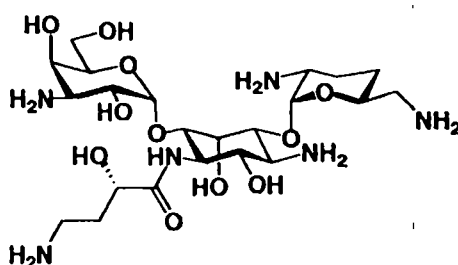
$^1\text{H-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  4.95 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.92 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 4.44 (t, 1H,  $J = 2, 2$  Hz), 4.17 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.16 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.85 (dd, 1H,  $J = 2, 12$  Hz), 3.79 (dd, 1H,  $J = 2, 10.5$  Hz), 3.78 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.60 (dd, 1H,  $J = 7, 12$  Hz), 3.51 (dd, 1H,  $J = 2, 10.5$  Hz), 3.34 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.12 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.21 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.14 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.02 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.80 (m, 1H), 2.70 - 2.80 (m, 2H), 2.66 (dd, 1H,  $J = 5, 13.5$  Hz), 2.61 (dd, 1H,  $J = 7.5, 13.5$  Hz), 1.91 (m, 1H), 1.64 - 1.80 (m, 4H), 1.37 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  178.69, 101.16, 96.93, 78.02, 76.08, 74.06, 73.28, 72.82, 71.34, 70.92, 68.35, 62.01, 55.40, 54.18, 53.77, 50.69, 46.29, 38.64, 37.58, 28.74, 27.43.

[0436] Example 11

15 5,4''-Diepi-2-hydroxyarbakacin

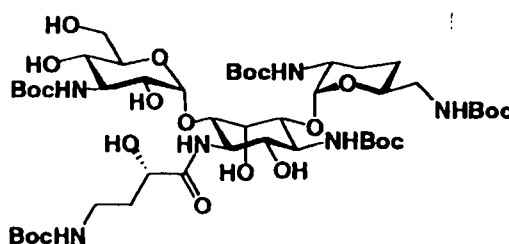
[Chemical formula 118]



[0437] Production step 11-1

20 3,2',6',3'',4'''-Penta-N-tert-butoxycarbonyl-5-epi-2-hydroxyarbakacin

[Chemical formula 119]



[0438] The compound (65 mg) produced in production step 10-19 of Example 10 was dissolved in 0.91 mL of water. Triethylamine (0.16 mL) was added to the solution, a solution of 175 mg of di-tert-butyl dicarbonate in 1,4-dioxane (1.17 mL)

was added thereto, and the mixture was stirred at 60°C for 1.5 hr. Concentrated aqueous ammonia (0.11 mL) was added thereto, and the mixture was stirred at 60°C for 30 min. The reaction mixture was returned to room temperature and was concentrated to dryness. The residue was subjected to azeotropic distillation twice with methanol to give the title compound (103 mg, quantitative).

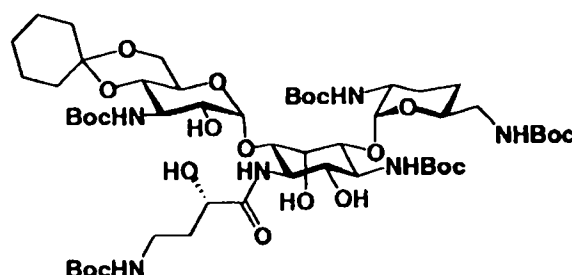
Rf value: 0.53 (chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) = 5 : 1 : 0.1)

ESIMS: m/z 1091 [M + Na]<sup>+</sup>

[0439] Production step 11-2

3,2',6',3'',4'''-Penta-N-tert-butoxycarbonyl-4'',6''-O-cyclohexylidene-5-epi-2-hydroxyarbekacin

[Chemical formula 120]



[0440] The compound (103 mg) produced in production step 11-1 was dissolved in 2.0 mL of N,N-dimethylformamide. Cyclohexanone di-i-propyl acetal (58 µL) and 12.4 mg of p-toluenesulfonic acid were added to the solution, and the mixture was allowed to react at room temperature for one hr. A saturated aqueous sodium bicarbonate solution (20 mL) was added thereto, and the resultant precipitate was collected by filtration, was washed with water, and was dried under the reduced pressure to give the title compound (103 mg, 88%).

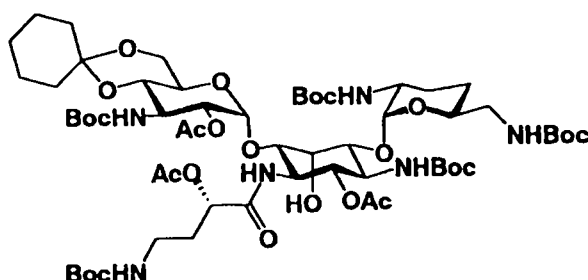
Rf value: 0.53 (chloroform : methanol = 10 : 1)

ESIMS: m/z 1171 [M + Na]<sup>+</sup>

[0441] Production step 11-3

2,2'',2'''-Tri-O-acetyl-3,2',6',3'',4'''-penta-N-tert-butoxycarbonyl-4'',6''-O-cyclohexylidene-5-epi-2-hydroxyarbekacin

[Chemical formula 121]



[0442] The compound (103 mg) produced in production step 11-2 was dissolved in 2.1 mL of pyridine. Acetic anhydride (0.13 mL) was added to the solution under ice cooling, and the mixture was returned to room temperature and was allowed to react. After the elapse of 18.5 hr from the start of the reaction, 0.11 mL of methanol was added thereto under ice cooling, and the mixture was allowed to stand at room temperature for 30 min and was concentrated to dryness. Chloroform (10 mL) was added to the residue. The solution was washed twice with 3 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, twice with 3 mL of a 5% aqueous potassium bisulfate solution and twice with 3 mL of water and was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness to give the title compound (117 mg, quantitative).

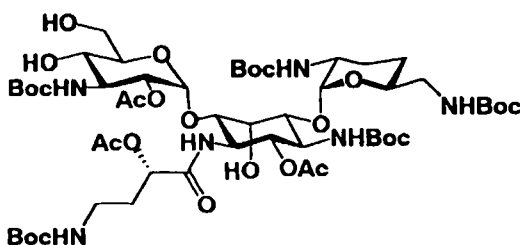
R<sub>f</sub> value: 0.39 (chloroform : methanol = 15 : 1)

ESIMS: m/z 1297 [M + Na]<sup>+</sup>

[0443] Production step 11-4

20 2,2'',2'''-Tri-O-acetyl-3,2',6',3'',4'''-penta-N-tert-butoxycarbonyl-5-epi-2-hydroxyarbekacin

[Chemical formula 122]



[0444] The compound (117 mg) produced in production step 11-3 was dissolved in 5.17 mL of chloroform methanol

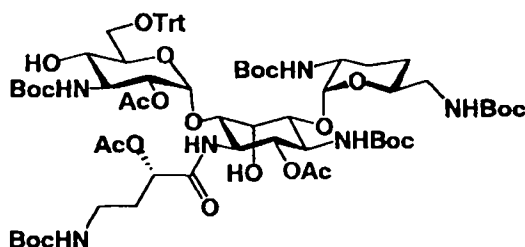
(10 : 1). A 90% aqueous trifluoroacetic acid solution (0.47 mL) was added to the solution under ice cooling with stirring, and the mixture was returned to room temperature and was stirred. After the elapse of 30 min from the start of stirring, 5.3 mL of chloroform was added. The mixture was washed once with 3 mL of water, twice with 3 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution and twice with 3mL of semisaturated brine and was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness to give the title compound (107 mg, quantitative).

Rf value: 0.46 (chloroform : methanol = 10 : 1)

ESIMS: m/z 1217 [M + Na]<sup>+</sup>

[0445] Production step 11-5

2,2'',2'''-Tri-O-acetyl-3,2',6',3'',4'''-penta-N-tert-butoxycarbonyl-5-epi-2-hydroxy-6''-O-tritylarbekacin  
[Chemical formula 123]



[0446] The compound (83 mg) produced in production step 11-4 was dissolved in 1.7 mL of pyridine. 4-Dimethylaminopyridine (25 mg) and 116 mg of trityl chloride were added to the solution, and the mixture was allowed to react at 65°C. After the elapse of 17 hr from the reaction, the mixture was returned to room temperature. Methanol (0.08 mL) was added thereto, and the mixture was allowed to stand for one hr. The mixture was then was concentrated to dryness. Chloroform (8 mL) was added to the residue. The solution was washed twice with 3 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution, three times with 3 mL of a 5% aqueous potassium bisulfate solution and three times with 3 mL of water, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica

gel (3.4 g, toluene : ethyl acetate : acetone = 6 : 1 : 1) to give the title compound (65 mg, 65%).

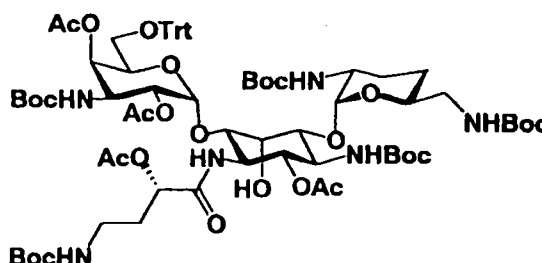
R<sub>f</sub> value: 0.57 (chloroform : methanol = 10 : 1)

ESIMS: m/z 1459 [M + Na]<sup>+</sup>

5 [0447] Production step 11-6

2,2'',4'',2'''-Tetra-O-acetyl-3,2',6',3'',4'''-penta-N-tert-butoxycarbonyl-5,4''-diepi-2-hydroxy-6''-O-tritylarbekacin

[Chemical formula 124]



- 10 [0448] The compound (112 mg) produced in production step 11-5 was dissolved in 2.3 mL of methylene chloride under a nitrogen atmosphere. Pyridine (0.13 mL) was added to the solution. Trifluoromethanesulfonic acid anhydride (66  $\mu$ L) was added thereto under a nitrogen atmosphere at -78°C with stirring. The mixture was stirred at -20°C under a nitrogen atmosphere for one hr. Methanol (79  $\mu$ L) was added thereto at -20°C, and 14 mL of ice cooled chloroform was immediately added thereto. The mixture was washed twice with 7 mL of an ice cooled 10% aqueous potassium bisulfate solution, twice with 15 7 mL of an ice cooled saturated aqueous sodium bicarbonate solution and twice with 7 mL of ice cooled water, followed by drying over a Glauber's salt under ice cooling for 10 min. The dried solution was concentrated under the reduced pressure under ice cooling. When the resolution became a syrup, the concentration was stopped.

- 25 [0449] The resultant syrup was dissolved in 1.1 mL of N,N-dimethylformamide. Cesium acetate (150 mg) (dried at 120°C for 6 hr) was added to the solution, and the mixture was stirred under a nitrogen atmosphere at room temperature for 18 hr. The reaction solution was diluted with 46 mL of ethyl acetate, and the diluted solution was washed once with 11 mL 30

of water and three times with 11 mL of semisaturated brine, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (12 g, toluene : ethyl acetate : acetone = 4 : 1 : 1) to give the title compound (75 mg, yield 65%).

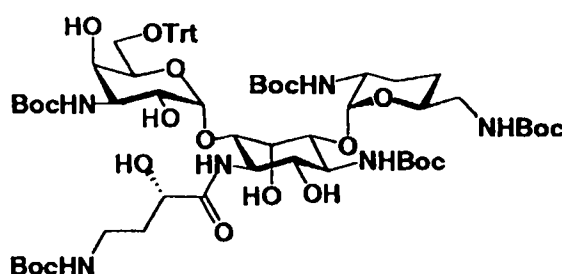
Rf value: 0.35 (toluene : ethyl acetate : acetone = 3 : 1 : 1)

ESIMS:  $m/z$  1501  $[M + Na]^+$

[0450] Production step 11-7

10 3,2',6',3'',4'''-Penta-N-tert-butoxycarbonyl-5,4''-diepi-2-hydroxy-6''-O-tritylarbekacin

[Chemical formula 125]



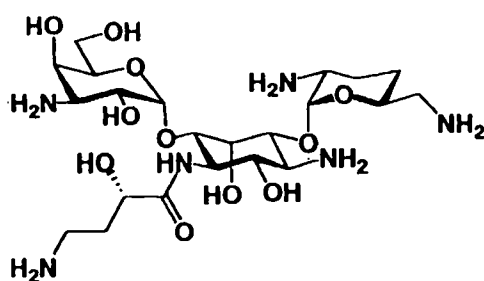
[0451] The compound (75 mg) produced in production step 11-6 was dissolved in 2.3 mL of a 0.5% solution of sodium methoxide in methanol, and the mixture was allowed to react at room temperature for one hr. The reaction mixture was neutralized with Dowex 50 W  $\times$  2 ( $H^+$  form, substituted with methanol), and the resin was removed by filtration. The filtrate was concentrated to dryness to give the title compound (64 mg, 96%).

Rf value: 0.60 (toluene : ethyl acetate : acetone = 1 : 1 : 1)

[0452] Production step 11-8

25 5,4''-Diepi-2-hydroxyarbekacin

[Chemical formula 126]



[0453] The compound (64 mg) produced in production step 11-7

5 was dissolved in 1.6 mL of a 90% aqueous trifluoroacetic acid solution under ice cooling. The solution was allowed to react under ice cooling for 2 hr. The reaction mixture was concentrated to dryness. Water (10 mL) was added to the residue, and the solution was washed three times with 3 mL of  
 10 diethyl ether. The water layer was concentrated to dryness. 0.005 M aqueous ammonia (10 mL) was added to the residue (pH 6 to 7), and the mixture was added to a CM-Sephadex C-25 column (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia, 10 mL). The column was washed with 30 mL of 0.005 M aqueous  
 15 ammonia, and elution was carried out with aqueous ammonia with the concentration being varied from 0.2 M (50 mL) to 0.5 M (200 mL). The corresponding fractions were concentrated to give 28.6 mg of the title compound: 5-epi-2-hydroxyarbekacin (73% as 2.5 carbonate trihydrate).

20 [0454] R<sub>f</sub> value: 0.09 (chloroform : methanol : 15 M aqueous ammonia (concentrated aqueous ammonia) : ethanol = 4 : 6 : 7 : 2)

<sup>1</sup>H-NMR (DCI-D<sub>2</sub>O, pD~3): δ 5.44 (1H, J = 3.5 Hz), 5.16 (d, 1H, J = 4 Hz), 4.77 (d, 1H, J = 3 Hz), 4.35 (dd, 1H, J = 4.5, 9 Hz), 4.31 (t, 1H, J = 11, 11 Hz), 4.17 (d, 1H, J = 3 Hz), 4.14 (m, 1H), 4.13 (d, 1H, J = 3, 11 Hz), 4.11 (m, 1H), 4.02 (dd, 1H, J = 3, 11 Hz), 3.98 (dd, J = 4, 11 Hz), 3.81 (t, 1H, J = 11, 11 Hz), 3.75 - 3.80 (m, 2H), 3.71 (t, 1H, J = 11, 11 Hz), 3.67 (dd, 1H, J = 3, 11 Hz), 3.63 (m, 1H), 3.28 (dd, 1H, J = 3.5, 13.5 Hz), 3.21 (t, 2H, J = 7, 7 Hz), 3.11 (dd, 1H, J = 7.5, 13.5 Hz),

25  
 30

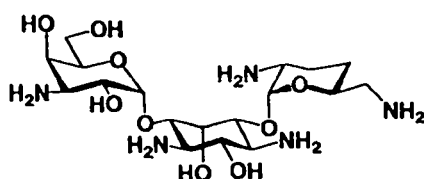
2.23 (m, 1H), 2.05 - 2.13 (m, 2H), 2.00 (m, 1H), 1.94 (m, 1H), 1.64 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$ -NMR (DCI- $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{pD} \sim 3$ ):  $\delta$  177.13, 100.42, 90.53, 76.63, 71.90, 70.56, 70.02, 68.33, 66.26, 66.20, 66.18, 65.57, 61.72, 53.73, 53.49, 52.59, 48.59, 42.96, 37.36, 31.34, 25.86, 21.32.

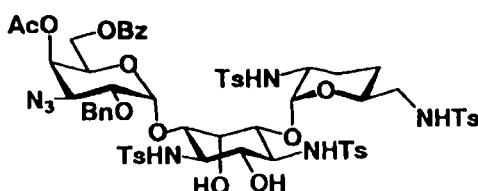
Calcd. for  $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_{11} \cdot 2.5\text{H}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . C, 37.84; H, 7.13; N, 10.81.

Found, C, 37.51; H, 7.49; N, 10.96.

- 10 [0455] Example 12  
5,4''-Diepi-2-hydroxydibekacin  
 [Chemical formula 127]



- 15 [0456] Production step 12-1  
4''-O-Acetyl-3''-azido-6''-O-benzoyl-2''-O-benzyl-3''-deoxy  
-5,4''-diepi-1,3,2',6'-tetra-N-tosyl-2-hydroxydibekacin  
 [Chemical formula 128]



- 20 [0457] A solution of 667 mg of the compound produced in production step 10-5a in 34 mL of methylene chloride was added to the compound (1.16 g) produced in production step 10-12. Drierite (3.43 g) was added thereto, and the mixture was stirred at room temperature for 3 hr. Mercuric cyanide (1.27 g) was added to the reaction solution, and the mixture was stirred under light shielded conditions at room temperature for 42 hr. The reaction solution was filtered through Celite to remove the insolubles. The insolubles were washed with 90 mL of chloroform. The combined organic layers were washed twice with 60 mL of a saturated aqueous sodium bicarbonate solution,
- 25



twice with 60 mL of a 10% aqueous sodium iodide solution and once with 60 mL of water, were dried over a Glauber's salt and were concentrated to dryness. The residue was purified by column chromatography on silica gel (40 g, chloroform → chloroform : ethyl acetate = 1 : 1 → ethyl acetate) to give the title compound (529 mg, 31%). In this case, 423 mg (36%) of the starting compound was recovered.

[0458] Rf value: 0.20 (chloroform : ethyl acetate = 5 : 2)

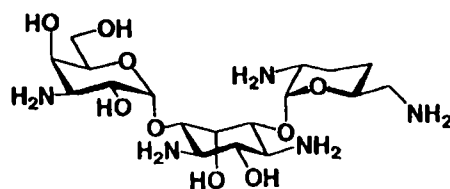
ESIMS:  $m/z$  1368  $[M + Na]^+$

$^1H$ -NMR (pyridine- $d_5$ ):  $\delta$  9.02 (d, 1H,  $J = 7$  Hz), 8.83 (d, 1H,  $J = 7$  Hz), 8.50 (m, 1H), 8.48 (t, 1H,  $J = 6, 6$  Hz), 7.03 - 8.28 (m, 26H), 6.00 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 5.85 (d, 1H,  $J = 2$  Hz), 5.58 (br. s, 1H), 4.81 - 5.26 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 12$  Hz), 5.20 (br. s, 1H), 5.07 (m, 1H), 4.80 - 4.95 (m, 4H), 4.77 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.72 (m, 1H), 4.68 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.35 (m, 1H), 4.26 (br. d, 1H,  $J = 11$  Hz), 4.23 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.90 (t,  $J = 10, 10$  Hz), 3.63 (m, 1H), 3.29 (m, 2H), 2.26 (m, 1H), 2.00, 2.07, 2.15, 2.18, 2.22 (each s, each 3H), 1.48 - 1.64 (m, 3H).

[0459] Production step 12-2

20 5,4''-Diepi-2-hydroxydibekacin

[Chemical formula 129]



[0460] A 0.5 M solution (12 mL) of sodium methoxide in methanol was added to the compound (529 mg) produced in production step 12-1, and the mixture was allowed to react at room temperature for 2 hr. The reaction mixture was neutralized with Dowex 50 W  $\times$  2 ( $H^+$  form, substituted with methanol). The resin was removed by filtration, and the filtrate was concentrated to dryness to give a crude product.

30 ESIMS:  $m/z$  1222  $[M + Na]^+$

Liquid ammonia (about 25 mL) was reservoiried at  $-50^\circ C$  in an egg-plant type flask containing the crude product,

and 732 mg of metallic sodium was added thereto at  $-50^{\circ}\text{C}$ . The mixture was vigorously stirred with a glass stirrer bar for 2 hr. Methanol was gradually added until the color of radicals disappeared. The mixture was returned to room temperature to evaporate ammonia and was finally concentrated to dryness by an evaporator. Water (32 mL) was added to the residue, and the solution was adjusted to pH 4 to 5 with Dowex 50 W  $\times$  2 ( $\text{H}^+$  form), and the contents of the flask including the resin as such were added to a column packed with 10 mL of the same resin. The column was washed with 120 mL of water, and elution was carried out with 1 M aqueous ammonia. A ninhydrin-positive fraction was concentrated to dryness to give a crude product. The crude product was brought to an aqueous solution (40 mL). The aqueous solution was charged into a CM-Sephadex C-25 column (equilibrated with 0.005 M aqueous ammonia, 20 mL), and the column was washed with water (40 mL). Elution was carried out with 0.05 M  $\rightarrow$  0.2 M  $\rightarrow$  0.5 M aqueous ammonia (each 40 mL), and the corresponding fraction was concentrated to dryness to give the title compound (104 mg, 43%, as monocarbonate monohydrate).

[0461]  $R_f$  value: 0.15 (1-butanol : ethanol : chloroform : 17% aqueous ammonia = 4 : 7 : 2 : 7).

ESIMS:  $m/z$  468  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 490  $[\text{M} + \text{Na}]^+$

$^1\text{H}$ -NMR (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  5.03, (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.92 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 4.51 (t, 1H,  $J = 2, 2$  Hz), 4.08 (m, 1H), 3.85 (d, 1H,  $J = 2$  Hz), 3.80 (m, 1H), 3.68 (d, 2H,  $J = 5.5$  Hz), 3.60 (dd, 1H,  $J = 4, 10.5$  Hz), 3.49 (dd, 1H,  $J = 2, 10$  Hz), 3.36 (dd, 1H,  $J = 2, 10$  Hz), 3.14 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.12 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.10 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.98 (dd, 1H,  $J = 3, 10.5$  Hz), 2.79 (m, 1H), 2.64 (dd, 1H,  $J = 4, 13.5$  Hz), 2.60 (dd, 1H,  $J = 7.5, 13.5$  Hz), 1.64 - 1.77 (m, 3H), 1.36 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$ -NMR (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  102.91, 96.82, 82.89, 76.46, 75.24, 73.81, 71.40, 71.07, 70.02, 68.09, 62.70, 54.36, 53.70, 52.49, 50.87, 46.51, 28.95, 27.61.

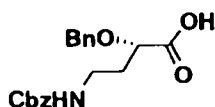
[0462] Reference Example 1

Synthesis

of

(S)-2-benzyloxy-4-benzyloxycarbonylaminobutyric acid

[Chemical formula 130]



- [0463] (S)-4-Benzyloxycarbonylamino-2-hydroxybutyric acid (5.25 g, 20.7 mmol) synthesized according to the report of Kawaguchi et al. (Journal of Antibiotics, Vol. 25, pp. 695 - 708 (1972)) was dissolved in 60 mL of N,N-dimethylformamide. Barium oxide (15.9 g, 103.7 mmol) was added under an ice bath. After the elapse of 2 min from the addition of barium oxide, barium hydroxide octahydrate (13.4 g, 42.5 mmol) was added thereto under an ice bath. After 10 min, benzyl bromide (7.5 mL, 63.1 mmol) was added thereto under an ice bath. After 5 min, the reaction solution was returned to room temperature and was vigorously stirred. After 1.5 hr, the completion of the reaction was confirmed by TLC (developing solvent system = chloroform : ethyl acetate : acetic acid = 10 : 5 : 1), and water (0.5 mL) was added thereto under an ice bath. The mixture was diluted with chloroform (165 mL), and 4 N HCl (70 mL) was added thereto. Further, water (25 mL) was added followed by separation. The water layer was extracted with chloroform (50 mL). The organic layer and the extracted organic layer were combined and were washed with a saturated aqueous NaCl solution. The washed solution was dried over magnesium sulfate. The solvent was removed by distillation under the reduced pressure, and the residue was purified by column chromatography on silica gel (silica gel 60, neutral spheres, 160g) (chloroform : ethyl acetate = 4 : 1 → chloroform : methanol = 10 : 1 → chloroform : methanol : acetic acid = 10 : 1 : 0.1 (600 mL)) to give (S)-2-benzyloxy-4-benzyloxycarbonylaminobutyric acid (2.86 g, 8.34 mmol).

[0464] LCMS:  $m/z$  344  $[M + H]^+$ 
 $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  12.8 (s, 1H), 7.25 - 7.35 (m, 10H), 7.26 (d, 1H,  $J = 4.2$  Hz), 5.01 (s, 2H), 4.49 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} =$

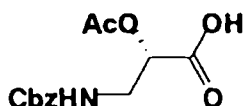
12 Hz), 3.97 (dd, 1H,  $J = 3.7, 8.8$  Hz), 3.08 - 3.18 (m, 2H), 1.67 - 1.93 (m, 2H).

[0465] Reference Example 2

(S)-2-Acetoxy-3-amino-N-benzyloxycarbonylpropanoic

5 acid

[Chemical formula 131]

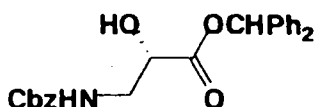


[0466] Step 1

(S)-3-Amino-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxypropanoic

10 acid diphenyl methyl ester

[Chemical formula 132]



[0467] N-Benzyloxycarbonylisoserine (20 mg) synthesized according to the report of R.D. Westland et al. (Carbohydr. Res., Vol. 28, pp. 268 - 280 (1973)) was dissolved in 0.6 mL of tetrahydrofuran. Diphenylmethylazide (24 mg) was added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. The reaction solution was concentrated under the reduced pressure, and the residue was purified by column chromatography on silica gel (2 g, hexane : ethyl acetate = 5 : 1 → 4 : 1 → 3 : 1) to give the title compound (33 mg, quantitative).

[0468] R<sub>f</sub> value: 0.54 (hexane : ethyl acetate = 1 : 1)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.25 - 7.35 (m, 15H), 6.91 (s, 1H), 5.05 (br, 2H), 4.39 (s, 1H), 3.68 - 3.71 (m, 1H), 3.49 - 3.58 (dd, 1H,  $J = 6.1, 6.9$  Hz), 3.21 (m, 1H)

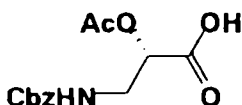
[0469] Step 2

(S)-2-Acetoxy-3-amino-N-benzyloxycarbonylpropanoic

acid

30

[Chemical formula 133]



The compound (26.3 mg) produced in production step 1 was dissolved in 1.0 mL of methylene chloride. Pyridine (70  $\mu$ L) was added to the solution. Acetic anhydride (20  $\mu$ L) and 0.8 mg of 4-dimethylaminopyridine were added thereto at 0°C. The reaction mixture was returned to room temperature and was stirred for 2.5 hr. Methanol (100  $\mu$ L) was added thereto, and the mixture was stirred at room temperature for 20 min to complete the reaction. Chloroform (20 mL) was added thereto, and the mixture was washed with 15 mL of water, was dried over a Glauber's salt and was concentrated to dryness to give (S)-3-amino-2-acetoxy-N-benzyloxycarbonylpropanoic acid diphenyl methyl ester (28.6 mg (99%)).

[0470] Rf value: 0.62 (hexane : ethyl acetate = 1 : 1)  
 $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.25 - 7.37 (m, 15H), 6.87 (s, 1H), 5.26 (dd, 1H,  $J$  = 4.8, 5.2 Hz), 5.06 (br, 2H), 4.93 (s, 1H), 3.66 - 3.75 (m, 2H), 2.11 (s, 3H).

[0471] The above compound (28.6 mg) was dissolved in 0.6 mL of chloroform. Trifluoroacetic acid (0.6 mL) was added to the solution at 0°C, and the mixture was stirred at room temperature for 2 hr. The reaction mixture was subjected to azeotropic distillation three times with toluene under the reduced pressure to dryness to give the title compound (21.2 mg) as a crude product.

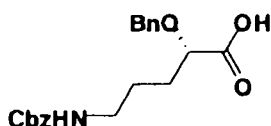
Rf value: 0.44 (chloroform : ethyl acetate : acetic acid = 10 : 5 : 1).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.26 - 7.35 (m, 5H), 5.25 (dd, 1H,  $J$  = 4.8, 5.1 Hz), 5.09 (br, 2H), 4.86 (s, 1H), 3.62 - 3.70 (m, 2H), 2.12 (s, 3H).

[0472] Reference Example 3

(S)-5-Amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylpentanoic acid

[Chemical formula 134]



[0473]

(S)-5-Amino-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxypentanoic acid (21 mg) synthesized according to the report of R.D. Westland et al. (Carbohydr. Res., Vol. 28, pp. 268 - 280 (1973)) was dissolved in 0.24 mL of N,N-dimethylformamide. Barium oxide (64 mg) was added to the solution under ice cooling, and the mixture was stirred for 2 min. Next, barium hydroxide (5.4 mg) was added thereto, and the mixture was further stirred at the same temperature for 10 min. Benzyl bromide (30  $\mu$ L) was added thereto. After the elapse of 5 min from the start of stirring, the reaction mixture was returned to room temperature, and the mixture was vigorously stirred for 1.5 hr. Water (15 mL) was added under ice cooling, and the mixture was diluted with 30 mL of chloroform. 4 N HCl (0.28 mL) was added to the diluted solution, and the mixture was stirred for 5 min. The reaction solution was separated, and the water layer was again extracted with 20 mL of chloroform. The organic layer and the above organic layer were combined and were dried over magnesium sulfate. The solution thus obtained was concentrated under the reduced pressure, and the residue was purified by column chromatography on silica gel (30 g, hexane : ethyl acetate = 4 : 1  $\rightarrow$  chloroform : methanol = 10 : 1) to give the title compound (11 mg, 39%).

[0474] Rf value: 0.46 (chloroform : ethyl acetate : acetic acid = 10 : 5 : 1).

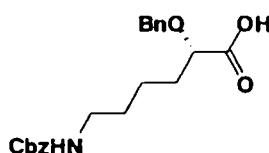
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.32 - 7.35 (m, 10H), 5.08 (br, 2H), 4.70 (d, 1H,  $J$  = 11.5 Hz), 4.46 (d, 1H,  $J$  = 11.5 Hz), 4.00 (t, 1H,  $J$  = 4.99 Hz), 3.19 (br, 2H), 1.84 (dt, 2H,  $J$  = 4.99, 7.0 Hz), 1.66 (tt, 2H,  $J$  = 7.0, 7.2 Hz).

[0475] Reference Example 4

(S)-6-Amino-2-benzyloxy-N-benzyloxycarbonylhexanoic

acid

[Chemical formula 135]



[0476]

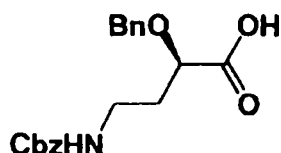
- 5 (S)-6-Amino-N-benzyloxycarbonyl-2-hydroxyhexanoic acid (450 mg) synthesized according to the report of R. D. Westland et al. (Carbohydr. Res., Vol. 28, pp. 268 - 280 (1973)) was dissolved in 5.4 mL of N,N-dimethylformamide. Barium oxide (1230 mg) was added under ice cooling, and the mixture was stirred for 2 min. Next, barium hydroxide (1061 mg) was added thereto, and the mixture was further stirred at the same temperature for 10 min. Thereafter, 0.57 mL of benzyl bromide was added. After the elapse of 5 min from the addition of benzyl bromide, the mixture was returned to room temperature, and the mixture was vigorously stirred for 1.5 hr. Water (15 mL) was added thereto under ice cooling. The mixture was diluted with 30 mL of chloroform. 4 N HCl (6.0 mL) was added thereto, and the mixture was stirred for 5 min. The reaction solution was separated by filtration. The water layer was again extracted with 25 mL of chloroform. The organic layer and the above organic layer were combined and were dried over magnesium sulfate. The solution was concentrated under the reduced pressure, and the residue was purified by column chromatography on silica gel (32 mg, hexane : ethyl acetate = 3 : 1) to give the title compound (196 mg, 33%).

[0477] R<sub>f</sub> value: 0.47 (chloroform : ethyl acetate : acetic acid = 10 : 5 : 1)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.29 - 7.34 (m, 10H), 5.09 (br, 2H), 4.74 (d, 1H, J = 11.7 Hz), 4.46 (d, 1H, J = 11.7 Hz), 3.97 (t, 1H, J = 5.7 Hz), 3.16 (br, 2H), 1.77 - 1.83 (m, 2H), 1.41 - 1.50 (m, 4H).

[0478] Reference Example 5

(R)-2-Benzyloxy-4-benzyloxycarbonylaminobutyric acid  
[Chemical formula 136]



[0479] 4-Benzyloxycarbonylamino-2-(R)-hydroxybutyric  
5 acid (2.245 g) synthesized according to the method of H. Naito  
et al. (J. Antibiot., Vol. 26, pp. 297 - 301 (1973)) was dissolved  
in 25.6 mL of N,N-dimethylformamide. Barium oxide (6.795 g)  
was added to the solution under ice cooling with stirring, and  
the mixture was vigorously stirred for 2 min. Barium hydroxide  
10 octahydrate (5.593 g) was added to the reaction mixture, and  
the mixture was vigorously stirred under ice cooling for 10 min.  
Benzyl bromide (3.16 mL) was added thereto, and the mixture  
was vigorously stirred under ice cooling for 5 min. The  
reaction mixture was returned to room temperature and was  
15 vigorously stirred for 1.5 hr. Water (0.48 mL) was added under  
ice cooling, and the mixture was diluted with 70 mL of  
chloroform. 4 M hydrochloric acid (31 mL) was added to the  
diluted solution. Water (11 mL) was then added thereto  
followed by separation. The water layer was extracted with 22  
20 mL + 10 mL of chloroform. The combined organic layers were  
washed with 30 mL of saturated brine, were dried over  
magnesium sulfate and were concentrated to dryness to give  
4.54 g of a crude product. The product was purified by column  
chromatography on 70 g of a neutral silica gel (chloroform →  
25 chloroform : ethyl acetate = 4 : 1 → chloroform : methanol =  
10 : 1 → chloroform : methanol-acetic acid = 10 : 1 : 0.1) to  
give the title compound (1.107 g, 36%).

[0480] R<sub>f</sub> value: 0.57 (chloroform : ethyl acetate : acetic  
acid = 10 : 5 : 1)

30 ESIMS: m/z 342 [M - H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.25 - 7.40 (10H), 5.06 (s, 2H), 4.94  
(br. s, 1H), 4.40 - 4.76 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 11 Hz), 4.06 (t, 1H, J



= 5.5, 5.5 Hz), 3.35 (m, 2H), 2.02 (m, 2H).

[0481] Test Example 1

Antimicrobial activity

MIC of the compound represented by formula (I)  
5 produced in Example 1 against an MRSA strain, specifically a clinically isolated MRSA strain (n = 9), which has low sensitivity to arbekacin and against which the minimal inhibitory concentration (MIC,  $\mu\text{g/mL}$ ) is 4 to 8, was measured by an agar plate dilution method according to the standard method of  
10 Japan Society of Chemotherapy (Chemotherapy, Vol. 29, pp. 76 to 79, 1981).

As a result, the compound represented by formula (I) has an MIC value of 0.5 to 2. The compound represented by formula (I) had higher antimicrobial activity than arbekacin,  
15 against the above MRSA strain having low sensitivity to arbekacin.

[0482] Test Example 2

Antimicrobial activity

MIC of the 2-hydroxyarbekaçins produced in  
20 Examples 1 to 4 and the compounds produced in Examples 5, 6, 8, 9, 10, and 11, against an MRSA strain, specifically a clinically isolated MRSA strain, which is different from that used in Test Example 1 and has high resistance to arbekacin and against which the MIC value ( $\mu\text{g/mL}$ ) is 128, was measured by an agar  
25 plate dilution method according to the standard method of Japan Society of Chemotherapy (Chemotherapy, Vol. 29, pp. 76 to 79, 1981).

As a result, these compounds had an MIC value of 2 to 32, indicating that the compounds represented by formula  
30 (I) had higher antimicrobial activity than arbekacin, against the MRSA strain showing high resistance to arbekacin.

[0483] Test Example 3

Evaluation of influence on kidney of normal mice

An evaluation system of influence on the kidney  
35 was constructed based on renal disease model preparation method using gentamicin (KIDNEY AND DIALYSIS, Vol. 31, 1991,

completion of the administration in the morning on day 4, and the amount of NAG in the urine was measured by the MCP-NAG method. The same treatment was carried out for the physiological saline administration group and the arbekacin administration group.

The results were as shown in Table 1. Table 1 shows the average value of the amount of NAG for each group.

[0486] [Table 1]

| Table 1: Influence on kidney of normal mice |                              |
|---------------------------------------------|------------------------------|
| Compound administered                       | Amount of NAG in urine (mIU) |
| Compound represented by formula (I)         | 74.7                         |
| Arbekacin                                   | 135.0                        |
| Physiological saline                        | 19.7                         |

[0487] As described in Table 1, the amount of NAG in the urine for the group to which the compound represented by formula (I) had been administered, was smaller than the amount of NAG for the group to which arbekacin has been administered.

[0488] Reference Test Example 1

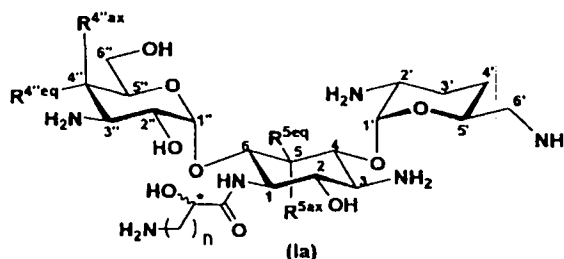
The influence of arbekacin and an arbekacin analogue TS2037 (5,4"-diepiarbekacin) produced according to the description of WO 2005/070945 on the kidney was evaluated in the same manner as in Test Example 3. As a result, the amount of NAG in the urine for the TS2037 administration group was 358.8 (mIU), whereas the amount of NAG in the urine for the arbekacin administration group was 168.5 (mIU). That is, the NAG amount for arbekacin analogue TS2037 was higher than that for arbekacin.

- extra edition, "Renal Disease Model", p. 423 "Drug-induced Renal Damage and its Examination Method," Kidney and Dialysis Editorial Committee, published by TOKYOIGAKUSYA). The influence of the compound represented by formula (I) produced
- 5 in Example 1 on the kidney was evaluated using this evaluation system. A physiological saline administration group and an arbekacin administration group were set as control groups. Each group consisted of four mice (Crj: CD-1 (ICR) female mice of eight weeks old).
- 10 [0484] In the above evaluation system, the evaluation of nephrotoxicity was carried out using NAG as an index. NAG exists in lysosome in each tissue of humans and animals, is an enzyme, which converts a mucopolysaccharide to a glycoprotein, for example, converts  $\beta$ -N-acetyl-D-glucosaminide to
- 15  $\beta$ -N-acetyl-D-glucosamine, and is plentifully present in proximal uriniferous tubule epithelial cells of the kidney in which aminoglycoside antibiotics are particularly accumulated. When the kidney, especially its proximal uriniferous tubule is damaged, NAG is released into urine to increase the amount of NAG in the
- 20 urine. Accordingly, the increase in the amount of NAG in urine is considered to reflect proximal uriniferous tubule damage and is adopted as one of biochemical markers for estimating the level of renal insufficiency in clinical test items. The amount of NAG is measured by an examination method, for example, an
- 25 MCP-NAG method (Outline of Latest Internal Medicine, Vol. 4, Clinical Laboratory - Kensa No Susumekata To Deta No Yomikata (How To Forward Examination and How To Read Data) - <Naika Soron 4 (General Remarks Of Internal Medicine 4> p. 274, Imura et al. (ed.), published by Nakayama Syoten Co., Ltd.,
- 30 1994).
- [0485] A solution of physiological saline of the compound according to the present invention having a concentration of 12 mg/mL was administered to the mice in each group at a dose of 120 mg/kg/day (in two divided doses; morning and afternoon)
- 35 for 4 days by repeated intraperitoneal administration. Naturally excreted urine was collected for about 24 hr from the

## [CLAIMS]

- [1] A compound represented by formula (Ia) or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*:

[Chemical formula 1]



wherein

$R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$ , which may be the same or different, represent a hydrogen atom or hydroxyl,

$R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$ , which may be the same or different, represent a hydrogen atom or hydroxyl,

$n$  is an integer of 1 to 4, and

the steric configuration of carbon atom attached with \* represents R or S.

- [2] The compound according to claim 1 or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*, wherein

$R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$ , which are different from each other, represent a hydrogen atom or hydroxyl, and

$R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$ , which are different from each other, represent a hydrogen atom or hydroxyl.

- [3] The compound according to claim 2 or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*, wherein

$R^{5ax}$  represents a hydrogen atom and

$R^{5eq}$  represents hydroxyl.

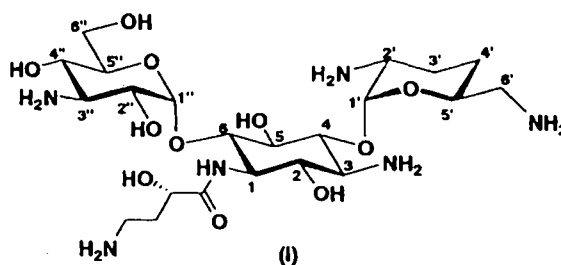
- [4] The compound according to claim 2 or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*, wherein

$R^{5ax}$  represents hydroxyl and

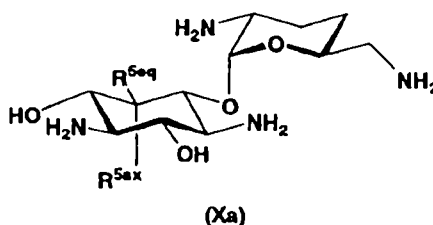
$R^{5eq}$  represents a hydrogen atom.

- [5] A compound represented by formula (I) or its pharmacologically acceptable salt or solvate:

[Chemical formula 2]



- [6] A compound represented by formula (Xa):  
[Chemical formula 3]



wherein  $R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$ , which are different from each other, represent a hydrogen atom or hydroxyl.

- [7] A compound represented by formula (XXV):

(XXV)

the steric configuration of carbon atom attached with  
\* represents R or S,  
or its diastereomer mixture with respect to the carbon  
atom attached with \*.

G represents a hydrogen atom,  
optionally substituted C1-6 alkylcarbonyl,  
optionally substituted arylcarbonyl, or  
optionally substituted aryl C1-3 alkyl.

[9] The compound according to claim 7 or its diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*, wherein

$R^2$  represents aryl C1-3 alkyl optionally substituted by methoxy or nitro,

$R^3$ ,  $R^{2'}$  and  $R^{6'}$ , which may be the same or different, represent

C1-6 alkylsulfonyl optionally substituted by optionally substituted phenyl,

arylsulfonyl optionally substituted by methyl, or

C1-6 alkyloxycarbonyl optionally substituted by optionally substituted phenyl,

E represents C1-6 alkyloxycarbonyl optionally substituted by optionally substituted phenyl, and

G represents a hydrogen atom,

C1-6 alkylcarbonyl,

arylcarbonyl, or

aryl C1-3 alkyl optionally substituted by methoxy.

[10] The compound according to claim 7 or its diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*, wherein

$R^2$  represents benzyl, methoxybenzyl or nitrobenzyl,

$R^3$ ,  $R^{2'}$  and  $R^{6'}$ , which may be the same or different, represent

methanesulfonyl, benzylsulfonyl,

p-toluenesulfonyl,

benzyloxycarbonyl, tert-butoxycarbonyl,

p-methoxybenzyloxycarbonyl, or p-nitrobenzyloxycarbonyl,

E represents benzyloxycarbonyl, and

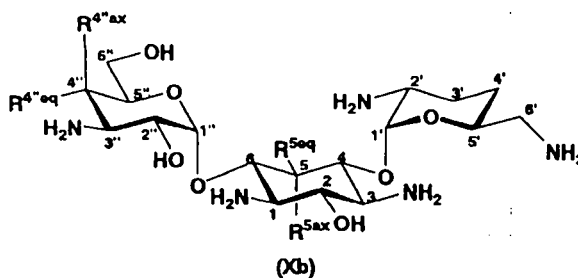
G represents a hydrogen atom,

acetyl,

benzoyl, benzyl, p-methoxybenzyl, or triphenylmethyl.

[11] A compound represented by formula (Xb):

[Chemical formula 5]



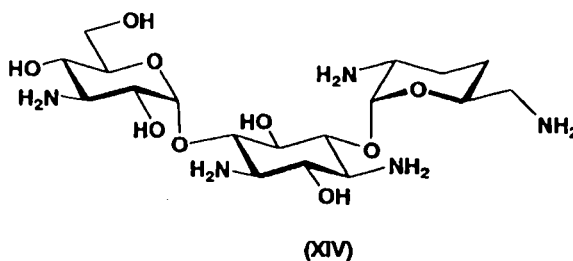
wherein

$R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$ , which are different from each other, represent a hydrogen atom or hydroxyl, and

$R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$ , which are different from each other, represent a hydrogen atom or hydroxyl.

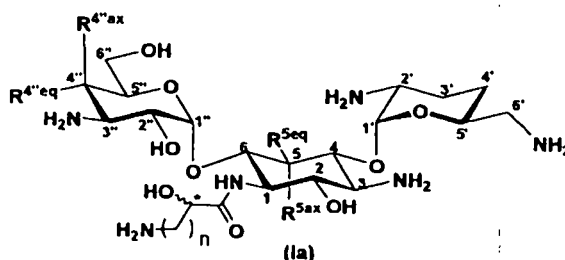
[12] A compound represented by formula (XIV):

[Chemical formula 6]



[13] A process for producing a compound represented by formula (Ia):

[Chemical formula 7]



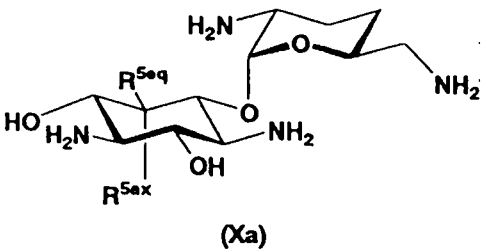
wherein

$R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$ , which may be the same or different, represent a hydrogen atom or hydroxyl,

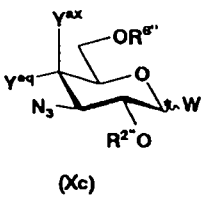
$R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$ , which may be the same or different, represent a hydrogen atom or hydroxyl,



n is an integer of 1 to 4, and  
the steric configuration of carbon atom attached with  
\* represents R or S,  
the process comprising the steps of  
introducing protective groups into amino groups in a  
compound represented by formula (Xa):  
[Chemical formula 8]

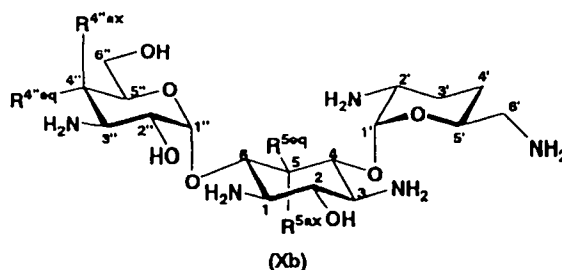


wherein  $R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$  are as defined in formula (Ia),  
reacting the compound represented by formula (Xa)  
with a compound represented by formula (Xc):  
[Chemical formula 9]



wherein W represents a leaving group;  $Y^{ax}$  and  $Y^{eq}$ , which  
may be the same or different, represent group  $-OR^{4''}$  or a  
hydrogen atom;  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  represent a protective  
group for hydroxyl; and the steric configuration of carbon  
atom attached with \* represents R or S,  
removing the protective group from the resultant  
compound and converting an azido group in the compound  
to an amino group to give a compound represented by  
formula (Xb):

[Chemical formula 10]

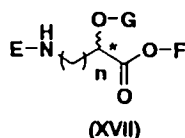


wherein  $R^{5ax}$ ,  $R^{5eq}$ ,  $R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$  are as defined in formula (Ia),

optionally introducing protective groups into functional groups other than the amino group at 1-position of the compound represented by formula (Xb),

reacting the resultant compound with a compound represented by formula (XVII):

[Chemical formula 11]



wherein E represents a protective group for amino group; G represents a protective group for hydroxyl group; F represents a hydrogen atom or a carboxylic acid activating group; n is an integer of 1 to 4; and the steric configuration of carbon atom attached with \* represents R or S, and

removing the protective groups of the resultant compound to give the compound represented by formula (Ia).

- [14] The process according to claim 13, wherein  $R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$ , which are different from each other, represent a hydrogen atom or hydroxyl, and  $R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$ , which are different from each other, represent a hydrogen atom or hydroxyl.

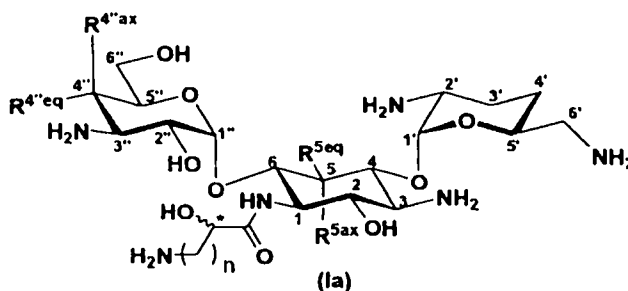
- [15] The process according to claim 13, wherein

$R^{5ax}$  represents a hydrogen atom, and  $R^{5eq}$  represents hydroxyl.

[16] The process according to claim 13, wherein  $R^{5ax}$  represents hydroxyl, and  $R^{5eq}$  represents a hydrogen atom.

[17] A process for producing a compound represented by formula (Ia):

[Chemical formula 12]



wherein

$R^{5ax}$  represents a hydrogen atom,

$R^{5eq}$  represents hydroxyl,

$R^{4''ax}$  and  $R^{4''eq}$ , which may be the same or different, represent a hydrogen atom or hydroxyl,

$n$  is an integer of 1 to 4, and

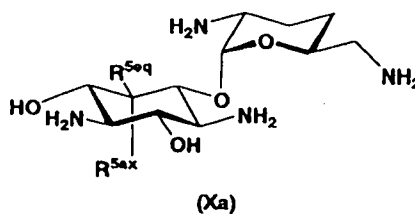
the steric configuration of carbon atom attached with

\* represents R or S,

the process comprising the steps of

introducing protective groups into amino groups at the 3-, 2'- and 6'-positions and the hydroxyl group at 2-position of a compound represented by formula (Xa):

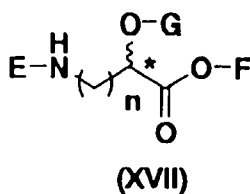
[Chemical formula 13]



wherein  $R^{5ax}$  and  $R^{5eq}$  are as defined in formula (Ia),

reacting the resultant compound with a compound represented by formula (XVII):

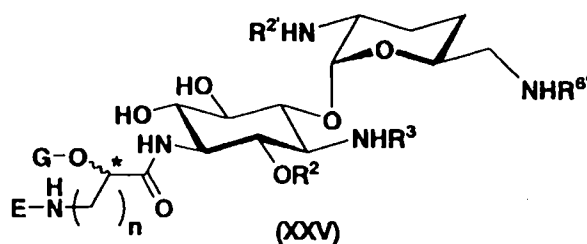
[Chemical formula 14]



wherein E represents a protective group for amino group; G represent a protective group for hydroxyl group; F represents a hydrogen atom or a carboxylic acid activating group; n is an integer of 1 to 4; and the steric configuration of carbon atom attached with \* represents R or S,

to give a compound represented by formula (XXV):

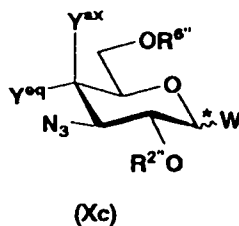
[Chemical formula 15]



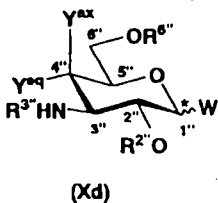
wherein  $R^2$  represents a protective group for hydroxyl group;  $R^3$ ,  $R^{2'}$  and  $R^6$  represent a protective group for amino group; and E, G, n and the steric configuration of the carbon atom attached with \* are as defined in formula (XVII),

reacting the compound represented by formula (XXV) with a compound represented by formula (Xc) or (Xd):

[Chemical formula 16]

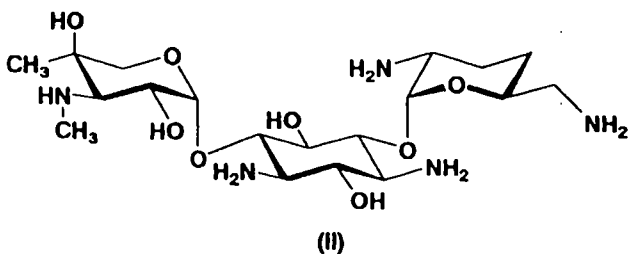


wherein W represents a leaving group;  $Y^{ax}$  and  $Y^{eq}$ , which may be the same or different, represent group  $-OR^{4''}$  or a hydrogen atom;  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  and  $R^{6''}$  represent a protective group for hydroxyl group; and the steric configuration of carbon atom attached with \* represents R or S,  
[Chemical formula 17]



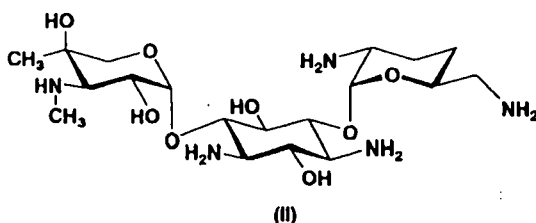
wherein W,  $Y^{ax}$ ,  $Y^{eq}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{6''}$ , and the steric configuration of carbon atom attached with \* are as defined in (Xc); and  $R^{3''}$  represents a protective group for amino group, and  
removing the protective groups from the resultant compound and, when the compound represented by formula (Xc) is used, converting an azido group in the compound to an amino group, to give a compound represented by formula (Ia).

[18] The process according to claim 15 or 17, wherein the compound represented by formula (Xa) is produced by hydrolyzing the compound represented by formula (II):  
[Chemical formula 18]



[19] The process according to claim 16, wherein the compound represented by formula (Xa) is produced by introducing protective groups into hydroxyl groups other than those located at 4''- and 5-positions and amino groups in a compound represented by formula (II):

[Chemical formula 19]



reversing the steric configuration of the hydroxyl group at the 5-position of the resultant compound, and

removing the protective group from the resultant compound, and further hydrolyzing the compound to give the compound represented by formula (Xa).

- [20] The process according to claim 19, which further comprises, before or simultaneously with the reversing of the steric configuration of the hydroxyl group at 5-position, eliminating the hydroxyl group at 4"-position.
- [21] A pharmaceutical composition comprising a compound according to claim 1 or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*.
- [22] A pharmaceutical composition comprising a compound according to claim 5 or its pharmacologically acceptable salt or solvate.
- [23] An antimicrobial agent comprising a compound according to claim 1 or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*.
- [24] An antimicrobial agent comprising a compound according to claim 5 or its pharmacologically acceptable salt or solvate.
- [25] An anti-MRSA agent comprising a compound

according to claim 1 or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \*.

- [26] An anti-MRSA agent comprising a compound according to claim 5 or its pharmacologically acceptable salt or solvate.
- [27] A method for preventing or treating an infectious disease, comprising administering the compound according to claim 1 or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \* to an animal including a human.
- [28] The method according to claim 27, wherein the infectious disease is derived from MRSA.
- [29] A method for preventing or treating an infectious disease, comprising administering the compound according to claim 5 or its pharmacologically acceptable salt or solvate to an animal including a human.
- [30] The method according to claim 29, wherein the infectious disease is derived from MRSA.
- [31] Use of the compound according to claim 1 or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \* for the manufacture of a pharmaceutical composition.
- [32] Use of the compound according to claim 5 or its pharmacologically acceptable salt or solvate for the manufacture of a pharmaceutical composition.

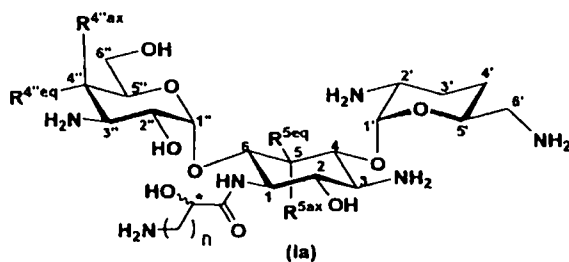
- [33] Use of a compound according to claim 1 or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \* for the manufacture of an antimicrobial agent.
- [34] Use of a compound according to claim 5 or its pharmacologically acceptable salt or solvate for the manufacture of an antimicrobial agent.
- [35] Use of a compound according to claim 1 or its pharmacologically acceptable salt or solvate, or their diastereomer mixture with respect to the carbon atom attached with \* for the manufacture of an anti-MRSA agent.
- [36] Use of a compound according to claim 5 or its pharmacologically acceptable salt or solvate for the manufacture of an anti-MRSA agent.



## ABSTRACT

This invention relates to novel aminoglycoside antibiotics, which have potent antimicrobial activity against bacteria, which induce infectious diseases, particularly MRSA, and has no significant nephrotoxicity, and process for producing them. More particularly, the present invention relates to compounds represented by formula (Ia) or their pharmacologically acceptable salts or solvates, or their diastereomer mixtures, antimicrobial agents comprising them, and a process for producing them.

[Chemical formula 1]



## NOVEDOSOS ANTIBIÓTICOS AMINOGLICÓSIDOS

## SOLICITUD RELACIONADA

[0001] La presente solicitud reivindica prioridad ante la  
5 solicitud Japonesa de Patente No. 1550062/2006 presentada en  
Junio 2/2006, cuya divulgación completa se incorpora aquí como  
referencia.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0002] Campo de la Invención

10 La presente invención se refiere a novedosos  
antibióticos aminoglicósidos que se caracterizan por ser  
efectivos contra bacterias que inducen enfermedades infecciosas  
clínicamente severas, particularmente contra el Staphilococcus  
Aureus resistente a la meticilina (MRSA), y por tener un bajo  
15 nivel de nefrotoxicidad. La presente invención también se  
refiere a novedosos compuestos intermedios útiles para la  
producción de los antibióticos aminoglicósidos.

[0003] Antecedentes en el Oficio

En años recientes, han aparecido bacterias resistentes  
20 a los fármacos que son resistentes a los agentes antimicrobianos  
empleados en el tratamiento de enfermedades infecciosas, y el  
tratamiento de las enfermedades infecciosas inducidas por las  
bacterias resistentes se ha convertido en un problema mayor en  
la práctica clínica. En particular, el MRSA es conocido como una  
25 de las bacterias de mayor resistencia a los fármacos, que se  
propaga rápidamente por infección hospitalaria e induce  
enfermedades infecciosas clínicamente severas, y se ha trabajado

enérgicamente en el desarrollo de agentes terapéuticos para las enfermedades infecciosas.

[0004] Los antibióticos aminoglicósidos tienen un amplio espectro antimicrobiano, de las bacteria gram- positivas a las bacterias gram-negativas, y tienen fuerza esterilizante eficaz. Por lo tanto, se espera que los antibióticos aminoglicósidos funcionen como medicamentos promisorios que puedan vencer varias bacterias resistentes incluyendo MRSA, y los estudios sobre los derivados se llevan a cabo continuamente.

10 [0005] Por ejemplo, el Journal of Antibiotics, Vol. 24, 1971 p. 485, divulga que podrían sintetizarse varios derivados de la canamicina, que es un antibiótico aminoglicósido, y que la 3', 4'- deoxicanamicina B (dibecacina) podría hallarse entre los derivados de la canamicina. La dibecacina se usa ampliamente como agente quimioterapéutico para bacterias resistentes desde 15 1975.

[0006] El Journal of Antibiotics, Vol. 26, 1973, p. 412 divulga la obtención de (S)-1-N-(4-amino-2-hidroxibutiril)dibecacina (arbecacina) por acilación del grupo amino en la posición 1- de la dibecacina con un ácido aminohidroxibutírico. Adicionalmente, la Publicación No. 20 10719/1988 de Patentes Japonesas divulga un proceso para producción de arbecacina.

[0007] La arbecacina ha sido empleada como agente terapéutico para enfermedades infecciosas por MRSA desde finales de 1990. Se sabe que la arbecacina tiene un amplio espectro antimicrobiano, desde las bacterias gram-positivas incluyendo las MRSA hasta las bacterias gram-negativas incluyendo la Pseudomona aeruginosa.

Han pasado diez o más años desde que la arbecacina llegó a ser empleada como un agente terapéutico para enfermedades infecciosas por MRSA. A pesar de éste hecho, no existe informe sobre resistencia severamente aumentada. Por otra parte, en

5 JAPANESE SOCIETY OF CHEMOTHERAPY, Vol. 50, 2002, p. 494 se informa que algunos MRSA aislados clínicamente tienen sensibilidad disminuida a la arbecacina.

[0008] Continuamente se han llevado a cabo estudios sobre análogos de la arbecacina. Por ejemplo, WO2005/070945 divulga

10 que un grupo de compuestos, con la característica de que la configuración estérica del sitio que corresponde a la posición 5- de la arbecacina ha sido invertida y se han introducido varios sustituyentes, tiene actividad antimicrobiana contra MRSA.

15 [0009] Por otra parte, desde hace mucho tiempo se sabe de la nefrotoxicidad como efecto colateral de los antibióticos aminoglicósidos. También hay un informe (Japanese Patent Laid-Open No. 164696/1980) acerca de la influencia clínica de la arbecacina sobre el riñón (JAPANESE SOCIETY OF CHEMOTHERAPY,

20 Vol. 51, 2003, p. 717).

[0010] En el tema No. F-716 de la 44 Conferencia Inter-ciencias sobre Agentes Antimicrobianos y Quimioterapia (2004), los presentes inventores describen, con relación a un análogo de la arbecacina (compuesto No. TS2037: 5,4"-diepiarbecacina)

25 descrito en WO 2005/070945, los resultados de la evaluación de nefrotoxicidad empleando células epiteliales del tubo urinífero proximal de riñones de cerdos y usando la  $\beta$ -N-acetil-d-glucosaminidasa (a la cual se hace referencia de aquí en

adelante como "NAG") como un índice. Los resultados muestran que la nefrotoxicidad del análogo de la arbecacina es mayor que la de la arbecacina.

[0011] Hasta ahora se han efectuado estudios sobre varios  
5 métodos para reducir la nefrotoxicidad de los antibióticos  
aminoglicósidos. El uso combinado de un antibiótico  
aminoglicósido y un compuesto para reducir la nefrotoxicidad se  
ha reportado como uno de tales métodos. Por ejemplo, se sabe que  
la fosfomicina reduce la nefrotoxicidad de algunos antibióticos  
10 aminoglicósidos. Adicionalmente, en un ensayo en el que se  
emplearon ratas, hay un informe de que el uso de fosfomicina y  
arbecacina combinadas reduce la nefrotoxicidad. (The Japanese  
Journal of Antibiotics, Vol. 47, 1994, p. 664).

[0012] Recientemente se ha estudiado un método que emplea el  
15 llamado TDM (monitoreo de fármacos terapéuticos), en el cual se  
realiza un efecto terapéutico de alto nivel mientras se suprime  
el efecto colateral mediante un plan de administración de  
medicinas basado en Farmacocinética y Farmacodinámica. Por  
ejemplo, hay un informe de que el TDM se utiliza también para  
20 tratamiento anti- MRSA con arbecacina (JAPANESE SOCIETY OF  
CHEMOTHERAPY, Vol. 51, 2003, p. 717).

[0013] Cuando los antibióticos aminoglicósidos convencionales  
que se usan clínicamente, se usan solos, se requiere, sin  
embargo, reducir la nefrotoxicidad mientras se mantiene el  
25 amplio espectro antibacteriano y la actividad antimicrobiana  
eficaz contra las bacterias que inducen enfermedades infecciosas  
severas, incluyendo MRSA. Por lo tanto, con los antibióticos  
aminoglicósidos se ha querido desarrollar un compuesto novedoso

que tenga un amplio espectro antimicrobiano y fuerza esterilizadora eficaz y, al mismo tiempo, un bajo nivel de nefrotoxicidad. Adicionalmente, para los antibióticos aminoglicósidos convencionales la aparición de bacterias resistentes a los fármacos se ha convertido en un problema, y aún se requieren compuestos que tengan actividad antimicrobiana excelente contra las bacterias resistentes a los fármacos. Además, cuando se toma en consideración la producción de antibióticos excelentes, los estudios sobre producción estable de los antibióticos son también un tema crítico.

#### RESUMEN DE LA INVENCION

[0014] Los inventores presentes han tenido éxito ahora al producir compuestos novedosos representados por la fórmula (Ia) que tienen un amplio espectro antimicrobiano y excelente actividad antimicrobiana así como también un bajo nivel de nefrotoxicidad. Los inventores presentes han encontrado adicionalmente que el compuesto novedoso tiene un alto nivel de actividad antimicrobiana contra cepas halladas en MRSA's aisladas clínicamente, que tienen un bajo nivel de sensibilidad contra la arbecacina.

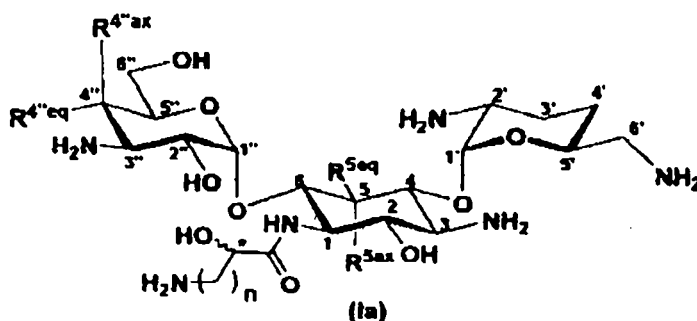
Los inventores presentes han encontrado adicionalmente un proceso fabricación útil para la producción estable de los compuestos novedosos, y un intermedio importante para la producción de los compuestos novedosos.

La presente invención se ha hecho con base en tal hallazgo.

[0015] En efecto, un objetivo de la presente invención es suministrar compuestos novedosos que tienen un amplio espectro antimicrobiano y excelente actividad antimicrobiana así como también un bajo nivel de nefrotoxicidad, e intermedios para la síntesis de los compuestos.

[0016] De acuerdo con la presente invención, se suministra un compuesto representado por la fórmula (Ia) o su mezcla de diastereoisómeros con respecto al átomo de carbono unido con \*, o sus sales o solvatos farmacológicamente aceptables.

[Fórmula Química 1]



En donde

$R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo,

$R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo,

$N$  es un entero de 1 a 4, y

la configuración del átomo de carbono unido con \* representa R o S.

Adicionalmente, de acuerdo con la presente invención, se suministra un intermedio útil para la síntesis del compuesto representado por la fórmula (Ia).

[0017] El compuesto representado por la fórmula (Ia) de acuerdo con la presente invención presenta un amplio espectro antimicrobiano y excelente actividad antimicrobiana y puede efectuar la prevención de nefrotoxicidad severa. Adicionalmente, el compuesto representado por la fórmula (Ia) puede presentar también excelente actividad antimicrobiana contra MRSA's que tienen un bajo nivel de sensibilidad contra la arbecacina. El hecho de que la nefrotoxicidad del compuesto representado por la fórmula (Ia) es más baja que la de la arbecacina, es ventajoso para la aplicación del compuesto, por ejemplo, a pacientes que sufren de enfermedades infecciosas. Por lo tanto, el compuesto representado por la fórmula (Ia) de acuerdo con la presente invención puede emplearse ventajosamente en el tratamiento de enfermedades infecciosas, incluyendo MRSA's. Adicionalmente, el compuesto representado por la fórmula (Ia) puede suministrarse establemente a través de compuestos representados por las fórmulas (Xa), (Xb), o (XXV) que se describirán más adelante, y puede utilizarse ventajosamente como agente terapéutico para las enfermedades infecciosas.

20

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0018] El término "alquilo" según se emplea aquí para un grupo o parte de un grupo significa alquilo de cadena recta, cadena ramificada o cíclico a menos que se especifique de otra manera. El término "arilo" significa fenilo o naftilo a menos que se especifique de otra manera. El término "arilalquilo" significa alquilo en el cual uno o más átomos de hidrógeno son sustituidos por arilo.

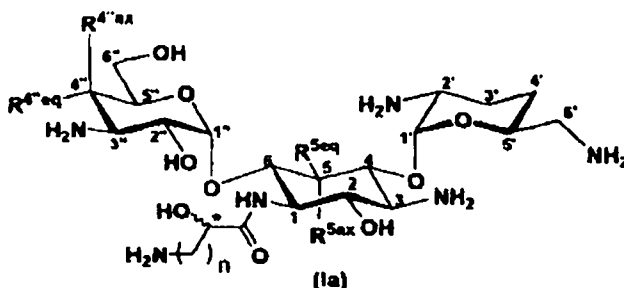


Compuestos representados por la fórmula (Ia)

Es característica de los compuestos representados por la fórmula (Ia) tener un grupo hidroxilo en su posición 2-.

[Fórmula química 2]

5



El compuesto que tiene la estructura anterior posee un bajo nivel de nefrotoxicidad y, al mismo tiempo, posee un amplio espectro antimicrobiano desde las bacterias gram-positivas incluyendo las MRSA hasta las bacterias gram-negativas incluyendo la Pseudomona aeruginosa y excelente actividad antimicrobiana.

[0019] Entre los compuestos representados por la fórmula (Ia) en una modalidad preferencial de la presente invención,  $R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$  son diferentes uno de otro y representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo, y  $R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$  son diferentes uno de otro y representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo.

Entre los compuestos representado por la fórmula (Ia), n es preferiblemente de 1 a 3, más preferiblemente de 1 a 2.

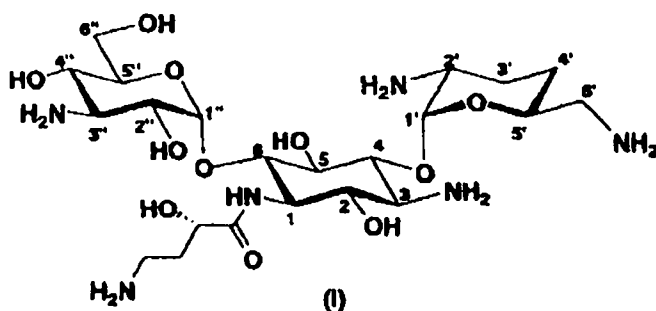
[0020] Además, en los compuestos representado por la fórmula (Ia) en una modalidad preferencial de la presente invención, la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- es ecuatorial. En conformidad, en los compuestos representados por

la fórmula (Ia) en la incorporación anterior,  $R^{5ax}$  representa un átomo de hidrógeno, y  $R^{5eq}$  representa hidroxilo. Entre los compuestos representados por la fórmula (Ia) en una modalidad más preferida de la presente invención,  $R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$  son diferentes uno de otro y representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo.

[0021] En una modalidad más preferencial de la presente invención, se proveen compuestos representados por la fórmula (I) o sus sales o solvatos farmacológicamente aceptables.

10

[Fórmula química 3]



[0022] Además, entre los compuestos representados por la fórmula (Ia) en otra modalidad de la presente invención, la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- es axial. En conformidad, entre los compuestos representados por la fórmula (Ia) en la anterior modalidad,  $R^{5ax}$  representa un hidroxilo y  $R^{5eq}$  representa un átomo de hidrógeno. Entre los compuestos representados por la fórmula (Ia) en una modalidad más preferencial de la presente invención  $R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$  son diferentes uno de otro, y representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo.

[0023] Los compuestos representados por la fórmula (Ia) pueden encontrarse como sales. Ejemplos de tales sales incluyen sales no tóxicas aceptables farmacéuticamente. Ejemplos específicos de estas incluyen halohidratos tales como fluorhidratos, clorhidratos, bromohidratos y yodohidratos; sales de ácidos inorgánicos tales como sulfatos, nitratos, fosfatos, percloratos y carbonatos; sales de ácidos carboxílicos tales como ácido acético, ácido tricloroacético, ácido trifluoroacético, ácido hidroxiaacético, ácido láctico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido oxálico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido butírico, ácido maleico, ácido propiónico, ácido fórmico y ácido málico; sales de aminoácidos tales como ácido alginico, ácido aspártico, y ácido glutámico; y sales de ácidos sulfónicos tales como ácido metansulfónico y ácido p-toluensulfónico. Se prefieren las sales de ácidos inorgánicos como los sulfatos.

[0024] Los compuestos representados por la fórmula (Ia) o sus sales farmacológicamente aceptables pueden encontrarse como sus solvatos. Los solvatos preferidos incluyen hidratos o etanolatos.

[0025] Como se describió anteriormente, los compuestos representados por la fórmula (Ia) pueden estar en forma de mezcla de diastereoisómeros con respecto al átomo de carbono unido con \*, y la presente invención incluye también esta modalidad.

[0026] Intermedios para síntesis

Los compuestos representados por la fórmula (Ia) pueden ser producidos por los dos siguientes procesos. De

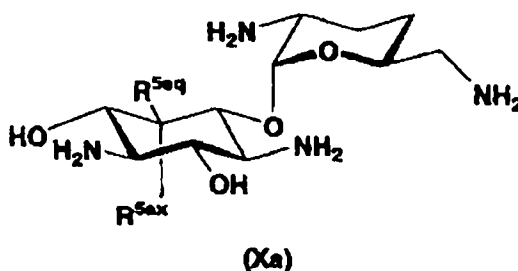
acuerdo con estos procesos, los compuestos representados por la fórmula (Ia) pueden ser producidos ventajosamente por medio de intermedios para síntesis que se describirán más adelante.

[0027] Intermedios para síntesis en el primer proceso de producción

De acuerdo con la presente invención, en el primer proceso de producción los compuestos representados por la fórmula (Xa) y por la fórmula (Xb) se emplean como intermedios para síntesis.

En conformidad, en una modalidad de la presente invención, se suministran compuestos representados por la fórmula (Xa).

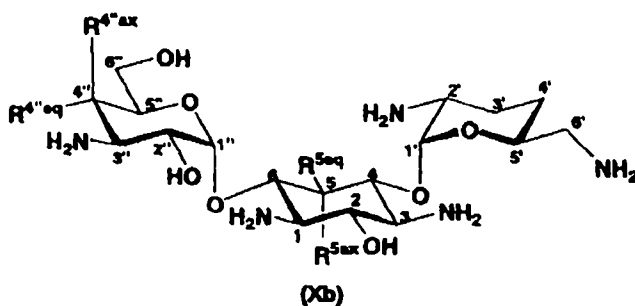
[Fórmula química 4]



en donde  $R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$  son diferentes uno de otro y representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo.

[0028] En otra modalidad de la presente invención, se proveen compuestos representados por la fórmula (Xb).

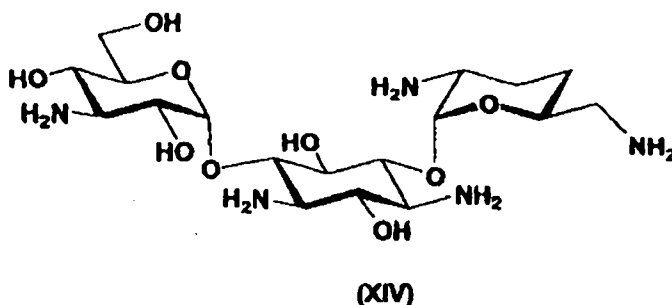
[Fórmula química 5]



en donde  $R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$  son diferentes uno de otro y representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo, y  $R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$  son diferentes uno de otro y representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo.

[0029] En una modalidad preferida de la presente invención, los compuestos representados por la fórmula (Xb) son compuestos representados por la fórmula (XIV).

[Fórmula química 6]



[0030] Intermedios para síntesis en el segundo proceso de producción de acuerdo con la presente invención

En el segundo proceso de producción de acuerdo con la presente invención, los compuestos representados por la fórmula (XXV) o sus mezclas diastereoisómeras con respecto al átomo de carbono unido con \* se emplean como intermedios para síntesis. En los compuestos representados por la fórmula (XXV) en éste proceso de producción, la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- es ecuatorial. En conformidad, el segundo proceso de producción es adecuado para la producción de compuestos representados por la fórmula (Ia) y de los cuales la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- es ecuatorial.

[0031] En una modalidad preferida de la presente invención, en los compuestos representados por la fórmula (XXV),  $R^2$  representa un aril C1-3 alquilo opcionalmente sustituido,

E representa C1-6 alquiloxicarbonilo opcionalmente sustituido, y

C1-6 alquilcarbonilo opcionalmente sustituido, o

[0032] Entre los compuestos representados por la fórmula (XXV), el grupo aril C1-3 alquilo representado por R<sup>2</sup> es preferiblemente aril C1-2 alquilo, más preferiblemente bencilo.

[0033] Uno o más átomos de hidrógeno en el grupo aril C1-3 alquilo representado por R<sup>2</sup> se sustituyen opcionalmente, por ejemplo, por metoxi o nitro. Ejemplos específicos de aril C1-3 alquilo sustituido incluyen metoxibencilo o nitrobencilo.

[0034] Entre los compuestos representados por la fórmula (XXV), el grupo C1-6 alquilsulfonilo representado por  $R^3$ ,  $R^{2'}$  o  $R^{6'}$  es preferiblemente C1-3 alquilsulfonilo, más preferiblemente metansulfonilo.

5 [0035] Uno o más átomos de hidrógeno en el grupo C1-6 alquilsulfonilo representado por  $R^3$ ,  $R^{2'}$  o  $R^{6'}$  son sustituidos opcionalmente, por ejemplo, por fenilo opcionalmente sustituido (fenilo o tolilo). Ejemplos de grupos C1-6 alquilsulfonilo sustituidos incluyen bencilsulfonilo y toluensulfonilo.

10 [0036] Uno o más átomos de hidrógeno en el grupo alrilsulfonilo representado por  $R^3$ ,  $R^{2'}$  o  $R^{6'}$  son sustituidos opcionalmente, por ejemplo, por metilo. Ejemplos específicos de grupos arilsulfonilo opcionalmente sustituidos incluyen bencilsulfonilo o toluensulfonilo.

15 [0037] Entre los compuestos representados por la fórmula (XXV), preferiblemente, el grupo C1-6 alquiloxicarbonilo representado por  $R^3$ ,  $R^{2'}$  o  $R^{6'}$  es C1-4 alquiloxicarbonilo, más preferiblemente metoxicarbonilo o tert-butoxicarbonilo.

[0038] Uno o más átomos de hidrógeno en el grupo C1-6 alquiloxicarbonilo representado por  $R^3$ ,  $R^{2'}$  o  $R^{6'}$  son  
20 opcionalmente sustituidos, por ejemplo, por fenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo fenilo, metoxifenilo o nitrofenilo). Ejemplos específicos de los grupos C1-6 alquiloxicarbonilo sustituidos incluyen benciloxicarbonilo, tert-butoxicarbonilo,  
25 p- metoxibenciloxicarbonilo o p-nitrobenciloxicarbonilo.

[0039] Entre los compuestos representados por la fórmula (XXV), el grupo C1-6 alquiloxicarbonilo representado por E es preferiblemente C1-3 alquiloxicarbonilo, más preferiblemente

metoxycarbonilo o etoxycarbonilo, aún más preferiblemente metoxycarbonilo.

[0040] Uno o más átomos de hidrógeno en el grupo C1-6 alquiloxyarbonilo representado por E son opcionalmente  
5 sustituidos, por ejemplo, por fenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo fenilo, metoxifenilo o nitrofenilo). En conformidad, ejemplos específicos del grupo C1-6 alquiloxyarbonilo sustituido por fenilo opcionalmente sustituido incluyen benciloxyarbonilo,  
10 p-metoxibenciloxyarbonilo y p-nitrobenciloxyarbonilo.

[0041] Entre los compuestos representados por la fórmula (XXV), el grupo C1-6 alquylcarbonilo representado por G es preferiblemente C1-3 alquylcarbonilo, más preferiblemente  
15 acetilo.

[0042] Uno o más átomos de hidrógeno en el grupo C1-3 alquylcarbonilo representado por G son opcionalmente sustituidos, por ejemplo, por un átomo de halógeno como cloro, bromo, o flúor, y ejemplos específicos del grupo sustituido  
20 C1-3 alquylcarbonilo incluyen tricloroacetilo y trifluoroacetilo.

[0043] En los compuestos representados por la fórmula (XXV), el grupo arilcarbonilo representado por G es preferiblemente benzoilo.

25 [0044] Uno o más átomos de hidrógeno en el grupo arilcarbonilo representado por G son opcionalmente sustituidos, por ejemplo, por fenilo opcionalmente sustituido por ejemplo por fenilo, un átomo de halógeno como cloro, bromo, o flúor, nitro o



metoxi. Ejemplos específicos de los grupos arilcarbonilo sustituidos incluyen p-fenilbenzoilo, p-bromobenzoilo, p-nitrobenzoilo y p-metoxibenzoilo.

[0045] Entre los compuestos representados por la fórmula  
5 (XXV), el grupo aril C1-3 alquilo representado G es preferiblemente aril C1-2 alquilo, más preferiblemente bencilo o trifenilmetilo.

[0046] Además, uno o más átomos de hidrógeno en el grupo aril C1-3 alquilo representado por G son sustituidos  
10 opcionalmente, por ejemplo, por metoxi. Ejemplos específicos del grupo C1-3 alquilsulfonilo sustituido incluyen p-metoxifenilo.

[0047] En los compuestos representados por la fórmula (XXV), n es 1 a 4, preferiblemente 1 a 3, más preferiblemente 1 o 2.

[0048] En los compuestos representados por la fórmula (XXV),  
15 en una modalidad de mayor preferencia de la presente invención,  $R^2$  representa aril C1-3 alquilo opcionalmente sustituido por metoxi o nitro,

$R^3$ ,  $R^{2'}$  y  $R^{6'}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan

20 C1-6 alquilsulfonilo opcionalmente sustituido por fenilo opcionalmente sustituido,

arilsulfonilo opcionalmente sustituido por metilo, o

C1-6 alquiloxicarbonilo opcionalmente sustituido por fenilo opcionalmente sustituido,

25 E representa C1-6 alquiloxicarbonilo opcionalmente sustituido por fenilo opcionalmente sustituido, y

G representa un átomo de hidrógeno,

C1-6 alquilcarbonilo

arilcarbonilo, o

aril C1-3 alquilo opcionalmente sustituido por metoxi.

[0049] En los compuestos representados por la fórmula (XXV),  
en una modalidad preferente adicional de la presente invención,

5  $R^2$  representa aril C1-2 alquilo opcionalmente sustituido  
por metoxi o nitro,

$R^3$ ,  $R^2$  y  $R^6$ , que pueden ser iguales o diferentes,  
representan

C1-3 alquilsulfonilo opcionalmente sustituido por  
10 fenilo opcionalmente sustituido,

arilsulfonilo opcionalmente sustituido por metilo, o

C1-4 alquiloxicarbonilo opcionalmente sustituido por  
fenilo opcionalmente sustituido,

E representa C1-4 alquiloxicarbonilo opcionalmente  
15 sustituido por fenilo opcionalmente sustituido, y

G representa un átomo de hidrógeno,

C1-3 alquilcarbonilo

arilcarbonilo, o

aril C1-2 alquilo opcionalmente sustituido por metoxi.

20

[0050] En los compuestos representados por la fórmula (XXV),  
en una modalidad preferente adicional de la presente invención,

$R^2$  representa aril C1-3 alquilo opcionalmente  
sustituido,

25 todos entre  $R^3$ ,  $R^2$  y  $R^6$  y E representan C1-6  
alquiloxicarbonilo opcionalmente sustituido, y

G representa aril C1-3 alquilo opcionalmente sustituido.

[0051] En los compuestos representados por la fórmula (XXV), en una modalidad preferente adicional de la presente invención,

$R^2$  representa aril C1-2 alquilo opcionalmente sustituido,

5 todos entre  $R^3$ ,  $R^{2'}$  y  $R^{6'}$  y E representan C1-4 alquiloxicarbonilo opcionalmente sustituido, y

G representa aril C1-2 alquilo opcionalmente sustituido.

[0052] En los compuestos representados por la fórmula (XXV),

10 en una modalidad preferente adicional de la presente invención,

$R^2$  representa aril C1-2 alquilo opcionalmente sustituido por metoxi o nitro

todos entre  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  y E representan C1-4 alquiloxicarbonilo opcionalmente sustituido por fenilo

15 opcionalmente sustituido por metoxi o nitro, y

G representa aril C1-2 alquilo opcionalmente sustituido por metoxi.

[0053] En los compuestos representados por la fórmula (XXV), en otra modalidad de la presente invención,

20  $R^2$  representa bencilo, metoxibencilo o nitrobencilo,

$R^3$ ,  $R^{2'}$  y  $R^{6'}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan

metansulfonilo , bencilsulfonilo,

p-toluensulfonilo ,

25 benciloxicarbonilo, tert-butoxicarbonilo,

p-metoxibenciloxicarbonilo o p-nitrobenciloxicarbonilo

E representa benciloxicarbonilo, y

G representa un átomo de hidrógeno,

acetilo, benzoilo, bencilo,  
p-metoxibencilo, o trifenilmetilo.

[0054] En los compuestos representados por la fórmula (XXV),

5 en una modalidad preferente de la presente invención,

$R^2$  representa bencilo, metoxibencilo o nitrobencilo,

todos entre  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  y E representan

benciloxicarbonilo, y

G representa bencilo.

10

[0055] Proceso de producción

En la presente invención, por ejemplo, los dos  
siguientes procesos de producción pueden mencionarse como  
procesos de producción para compuestos representados por la

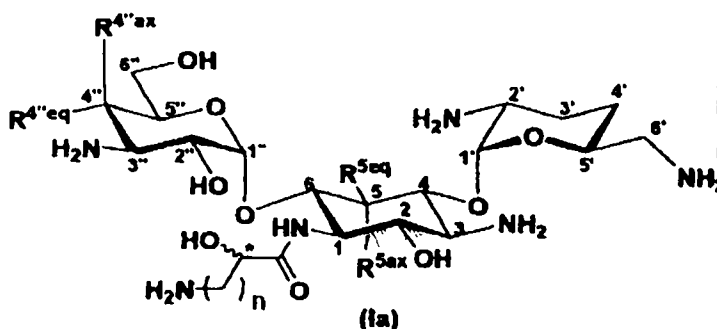
15 fórmula (Ia).

Primer proceso de producción

En el primer proceso de producción de acuerdo con la  
presente invención, los compuestos representados por la fórmula  
(Xa) y la fórmula (Xb) se usan como intermedios para síntesis.

20 De acuerdo con un aspecto de la presente invención se  
provee un proceso para producir un compuesto representado por la  
fórmula (Ia):

[Fórmula química 8]



en donde  $R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo,

$R^{4'ax}$  y  $R^{4'eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes  
5 representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo, y

n es un entero de 1 a 4

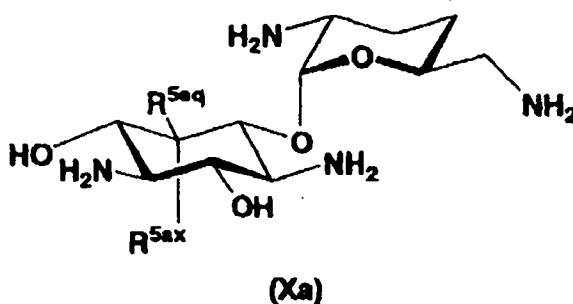
la configuración del carbono unido con \* representa R o S,

comprendiendo el proceso las etapas de

-introducción de grupos protectores en los grupos

10 amino en un compuesto representado por la fórmula (Xa):

[Fórmula química 9]

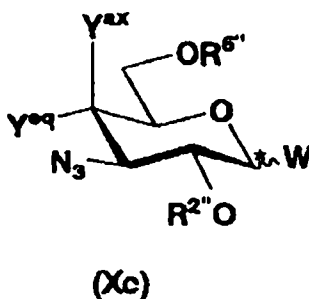


en donde  $R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$  son como se define en la fórmula (Ia),

-reacción del compuesto representado por la fórmula (Xa)

15 con un compuesto representado por la fórmula (Xc):

[Fórmula química 10]



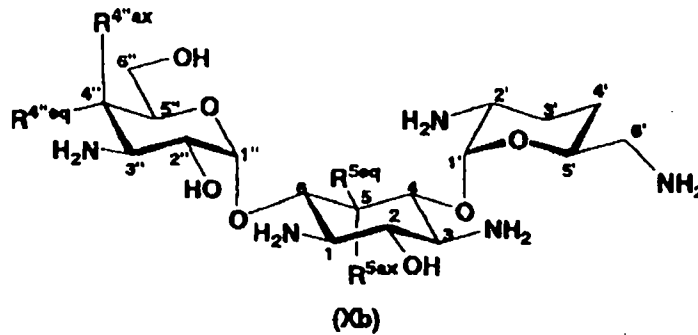
en donde W representa un grupo saliente ;  $Y^{ax}$  y  $Y^{eq}$ ,

20 que pueden ser iguales o diferentes, representan el grupo  $-OR^{4'}$

o un átomo de hidrógeno,  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  representan un grupo protector para el grupo hidroxilo, y la configuración del átomo de carbono unido con \* representa R o S,

5 -remoción de los grupos protectores del compuesto resultante y conversión del grupo azido en el compuesto en un grupo amino para dar un compuesto representado por la fórmula (Xb):

[Fórmula química 11]

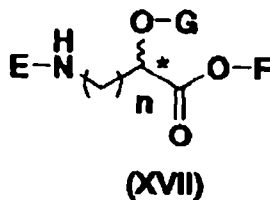


10 en donde  $R^{5ax}$ ,  $R^{5eq}$ ,  $R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$  son según se definió en la fórmula (Ia),

-introducción opcional de grupos protectores en grupos funcionales diferentes a los grupos amino en la posición 1- del compuesto representado en la fórmula (Xb),

15 -reacción del compuesto resultante con un compuesto representado por la fórmula (XVII):

[Fórmula química 12]



20 en donde E representa un grupo protector para el grupo amino; G representa un grupo protector para el grupo hidroxilo;

F representa un átomo de hidrógeno o un grupo activador de ácido carboxílico; n es un entero de 1 a 4; y la configuración estérica del átomo de carbono unido con \* representa R o S, y

-remoción de los grupos protectores del compuesto  
5 resultante para dar el compuesto representado por la fórmula (Ia).

[0056] En el primer proceso de producción de acuerdo con la presente invención, el compuesto representado por la fórmula (XVII) puede ser una mezcla enantiomera con respecto al átomo  
10 de carbono unido con \*. Por lo tanto, de acuerdo con el primer proceso de producción de la presente invención, puede producirse una mezcla de diastereoisómeros con respecto al átomo de carbono unido con \* en el compuesto representado por la fórmula (Ia). La presente invención incluye también esta modalidad.

15 [0057] En el primer proceso de producción de acuerdo con la presente invención, de preferencia, el hidroxilo se encuentra en las posiciones 5- y 4"- del compuesto representado por la fórmula (Ia). En conformidad, en el primer proceso de producción de la presente invención, en una modalidad preferida de la  
20 presente invención,  $R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$ , que son diferentes uno de otro, representan un átomo de hidrógeno o hidroxilo;  $R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$ , que son diferentes uno de otro, representan un átomo de hidrógeno o hidroxilo.

[0058] De acuerdo con el primer proceso de producción de la  
25 presente invención, cuando en el compuesto representado por la fórmula (Ia) el hidroxilo está en la posición 5-, la configuración estérica del grupo hidroxilo puede ser ecuatorial. En conformidad, en el primer proceso de producción de la

presente invención, en otra modalidad preferida de la presente invención,  $R^{5ax}$  representa un átomo de hidrógeno, y  $R^{5eq}$  representa hidroxilo.

[0059] De acuerdo con el primer proceso de producción de la presente invención, en el compuesto representado por la fórmula (Ia), cuando el grupo hidroxilo está en la posición 5-, la configuración estérica del grupo hidroxilo puede ser axial. En conformidad, en el primer proceso de producción de la presente invención, en otra modalidad preferida de la presente invención,  $R^{5ax}$  representa un hidroxilo y  $R^{5eq}$  representa un átomo de hidrógeno.

[0060] En el primer proceso de producción de acuerdo con la presente invención, el grupo protector introducido en el grupo amino del compuesto representado por la fórmula (Xa) se introduce en las posiciones 1-, 3-, 2'-, y 6'- del compuesto representado por la fórmula (Xa). Tales grupos protectores incluyen, por ejemplo, grupos protectores representados por  $R^3$ ,  $R^{2'}$  y  $R^{6'}$  en el compuesto representado por la fórmula (XXV), o grupos protectores representados por  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$  y  $R^{6'}$  en el esquema 2 que será descrito más adelante. Más específicamente, los grupos protectores introducidos en el grupo amino en las posiciones 1-, 3-, 2'-, y 6'- del compuesto representado por la fórmula (Xa) son, preferiblemente, grupos protectores usados comúnmente en química orgánica de síntesis, por ejemplo, alquilsulfonilo opcionalmente sustituido, arilsulfonilo opcionalmente sustituido, o alquiloxicarbonilo opcionalmente sustituido, más preferiblemente Cl-6 alquilsulfonilo opcionalmente sustituido, arilsulfonilo opcionalmente



sustituido, o C1-6 alquilocarbonilo opcionalmente sustituido, aún más preferiblemente C1-6 alquilsulfonilo opcionalmente sustituido por fenilo opcionalmente sustituido, arilsulfonilo opcionalmente sustituido por metilo, o C1-6 alquilocarbonilo  
5 opcionalmente sustituido por fenilo opcionalmente sustituido, además preferible C1-3 alquilsulfonilo opcionalmente sustituido por fenilo opcionalmente sustituido, arilsulfonilo opcionalmente sustituido por metilo, o alquilocarbonilo opcionalmente sustituido por fenilo opcionalmente sustituido, aún además  
10 preferiblemente metansulfonilo, bencilsulfonilo, p-toluensulfonilo, benciloxycarbonilo, tert-butoxi carbonilo, p-metoxibenciloxycarbonilo o p-nitrobenciloxycarbonilo.

Más preferido es el p-toluensulfonilo o el benciloxycarbonilo.

[0061] El grupo protector introducido en un grupo funcional  
15 distinto al grupo amino en la posición 1- del compuesto representado por la fórmula (Xb) se introduce de preferencia dentro del grupo amino en las posiciones 2'-, 6'-, y 3"-, del compuesto representado por la fórmula (Xb). El grupo protector introducido en las posiciones 2'- y 6'- es el mismo que el grupo  
20 protector introducido en las posiciones 2'- y 6'- del compuesto representado por la fórmula (Xa). El grupo protector introducido en el grupo amino en la posición 3"- es el mismo que el R<sup>3"</sup> mostrado en el esquema 3 que se describirá más adelante. Tales grupos protectores pueden ser los mismos que aquellos empleados  
25 comúnmente en química orgánica de síntesis, preferiblemente alquilcarbonilo opcionalmente sustituido, más preferiblemente C1-3 alquilcarbonilo opcionalmente sustituido por un átomo de halógeno, aún más preferiblemente trifluoroacetilo.

[0062] Entre los compuestos representados por la fórmula (Xc), el grupo saliente representado por W es un átomo de halógeno tal como cloro, bromo o yodo, alquiltio o ariltio, más preferiblemente un átomo de halógeno, Cl-3 alquiltio o ariltio, aún más preferiblemente bromo o feniltio.

El grupo protector para hidroxilo representado por R<sup>2''</sup> es, preferiblemente, alquilarilo opcionalmente sustituido, más preferiblemente aril Cl-2 alquilo opcionalmente sustituido, por ejemplo, por nitro, aún más preferiblemente bencilo, p-metoxibencilo, o p-nitrobencilo, aún más preferible bencilo.

[0063] Los grupos protectores para hidroxilo representados por R<sup>4''</sup> y R<sup>6''</sup> pueden ser iguales o diferentes, ejemplos de esto incluyen grupos protectores tipo éster o grupos protectores tipo éter, preferiblemente alquilcarbonilo, arilalquilcarbonilo, o arilalquilo opcionalmente sustituido, más preferiblemente Cl-6 alquilcarbonilo, aril Cl-3 alquilcarbonilo, o aril Cl-3 alquilo opcionalmente sustituido por metoxi, más preferiblemente acetilo, benzoilo, bencilo, p-metoxibencilo o trifenilmetilo.

El grupo protector para el grupo hidroxilo representado por R<sup>4''</sup> y por R<sup>6''</sup> puede formar en conjunto un grupo protector cíclico. El grupo protector cíclico es preferiblemente C3-8. Ejemplos específicos de esto incluyen grupos protectores cíclicos tales como acetales o cetales, por ejemplo, ciclohexilideno acetal, isopropilideno acetal, o bencilideno acetal.

[0064] En los compuesto representado por la fórmula (XVII), por ejemplo, se pueden mencionar los grupos protectores representados por la fórmula (XXV) como el grupo protector para

grupo amino representado por E. Más específicamente, el grupo protector para grupo amino representado por E es preferiblemente arilalquiloxycarbonilo opcionalmente sustituido, más preferiblemente aril C1-6 alquiloxycarbonilo opcionalmente sustituido, aún más preferiblemente aril C1-6 alquiloxycarbonilo opcionalmente sustituido por fenilo opcionalmente sustituido, aún más preferiblemente benciloxycarbonilo.

El grupo de activación del ácido carboxílico representado por F es el que se emplea en una reacción para formar enlace péptido por activación de carboxilo (un método de esterificación activa), preferiblemente un grupo succinimido, p-nitrofenilo, pentafluorofenilo o 1-hidroxibenzotriazol, más preferiblemente un grupo succinimido.

[0065] Adicionalmente, el grupo protector para el grupo hidroxilo representado por G puede ser, por ejemplo, un grupo protector tipo éster o un grupo protector tipo éter, y ejemplos de estos incluyen los grupos protectores representados por la fórmula (XXV). Más específicamente, el grupo protector para el grupo hidroxilo representado por G es preferiblemente alquilcarbonilo opcionalmente sustituido, arilalquilcarbonilo opcionalmente sustituido, o arilalquilo opcionalmente sustituido, más preferiblemente C1-6 alquilcarbonilo opcionalmente sustituido, arilalquilcarbonilo opcionalmente sustituido o aril C1-3 alquilo opcionalmente sustituido, aún más preferiblemente C1-6 alquilcarbonilo; arilcarbonilo; o aril C1-3 alquilo opcionalmente sustituido, por ejemplo por metoxi, más preferiblemente, por ejemplo, acetilo, benzoilo, bencilo, p-metoxibencilo, o trifenilmetilo.

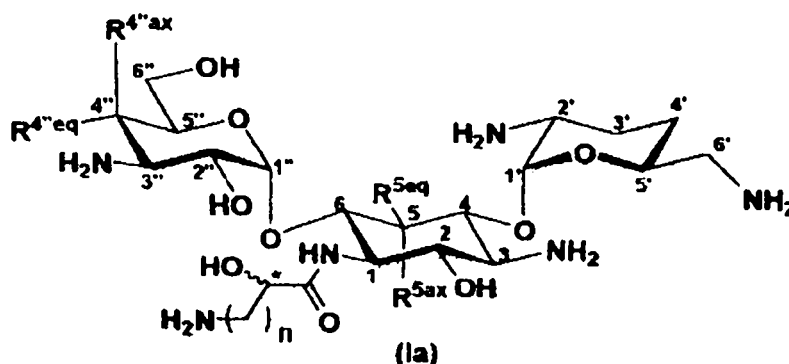
Las condiciones de reacción para cada etapa en el primer proceso de producción de acuerdo con la presente invención serán descritas con más detalle en (1), (4), y (5) que se describirán más adelante.

5 [0066] Segundo proceso de producción

En el segundo proceso de producción de acuerdo con la presente invención, en adición a los compuestos representados por la fórmula (Xa), pueden emplearse como intermedios para la síntesis los compuestos representados por la fórmula (XXV). Este  
10 proceso es adecuado para la producción de compuestos, de los cuales la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- es ecuatorial entre los compuestos representados por la fórmula (Ia).

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención,  
15 está provisto un proceso para producir un compuesto representado por la fórmula (Ia):

[Fórmula química 13]



En donde

20

$R^{5ax}$  representa un átomo de hidrógeno

$R^{5eq}$  representa hidroxilo

$R^{4'ax}$  y  $R^{4'eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo,

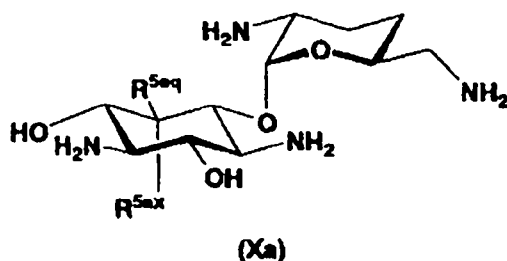
n es un entero de 1 a 4, y

la configuración estérica del átomo de carbono  
unido con \* representa R o S,

El proceso comprende las etapas de

- 5 -introducción de grupos protectores en los grupos  
amino en las posiciones 3-, 2', y 6', y de un grupo hidroxilo en  
la posición 2- de un compuesto representado por la fórmula (Xa):

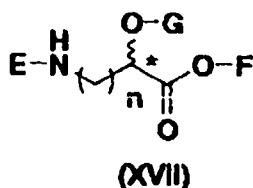
[Fórmula química 14]



- 10 en donde  $R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$  son como se definió en la fórmula (Ia),

-reacción del compuesto resultante con un compuesto  
representado por la fórmula (XVII):

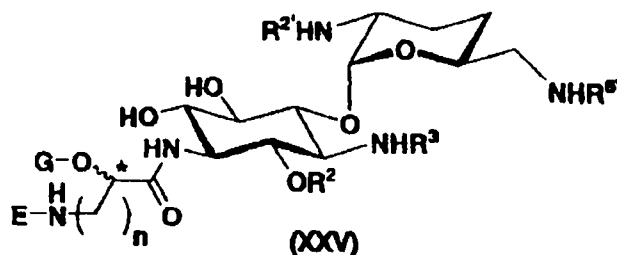
[Fórmula química 15]



- 15 en donde E representa un grupo protector para el grupo  
amino; G representa un grupo protector para el grupo hidroxilo;  
F representa un átomo de hidrógeno, o un grupo activador del  
ácido carboxílico; n es un entero de 1 a 4; y la configuración  
estérica del átomo de carbono unido con \* representa R o S,

- 20 para dar el compuesto representado por la fórmula (XXV):

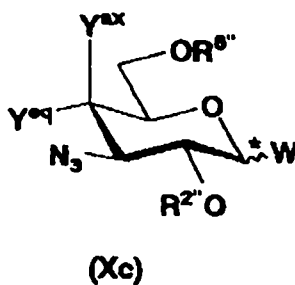
[Fórmula química 16]



en donde  $R^2$  representa un grupo protector para el grupo hidroxilo;  $R^3$ ,  $R^{2'}$  y  $R^{6'}$  representan un grupo protector para el grupo amino, y  $E$ ,  $G$ ,  $n$ , y la configuración estérica del átomo de carbono unido con  $*$  son como se definió en la fórmula (XVII),

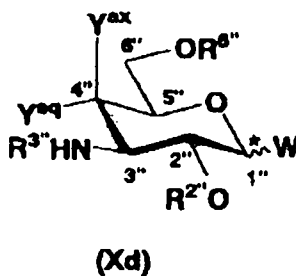
-reacción del compuesto representado por la fórmula (XXV) con un compuesto representado por la fórmula (Xc) o (Xd):

[Fórmula química 17]



en donde  $W$  representa un grupo saliente;  $Y^{ax}$  y  $Y^{eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan el grupo  $-OR^{4''}$  o un átomo de hidrógeno;  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  representan un grupo protector para el grupo hidroxilo; y la configuración estérica del átomo de carbono unido con  $*$  representa  $R$  o  $S$ ,

[Fórmula química 18]



En donde  $W$ ,  $Y^{ax}$ ,  $Y^{eq}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{6''}$  y la configuración estérica del átomo de carbono unido con  $*$  son como se definió en (Xc), y  $R^{3''}$  representa un grupo protector para el grupo amino, y -remoción de los grupos protectores del compuesto  
5 resultante y, cuando se usa el compuesto representado por la fórmula (Xc), conversión de un grupo azido del compuesto en grupo amino para dar un compuesto representado por la fórmula (Ia).

[0067] En el segundo proceso de producción de acuerdo con la  
10 presente invención, el compuesto representado por la fórmula (XVII) puede ser una mezcla enantiomera con respecto al átomo de carbono unido con  $*$ . En conformidad, de acuerdo con el segundo proceso de la presente invención, se puede producir una mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con  $*$  en  
15 el compuesto representado por la fórmula (Ia). La presente invención incluye también ésta modalidad.

[0068] En el segundo proceso de producción de la presente invención, el hidroxilo está, preferiblemente, en la posición 4''- en el compuesto representado por la fórmula (Ia). En  
20 conformidad, en el segundo proceso de producción de la presente invención, en una modalidad preferida de la presente invención,  $R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$ , que son diferentes uno de otro, representan un átomo de hidrógeno o hidroxilo.

[0069] En el segundo proceso de producción de acuerdo con la  
25 presente invención, las modalidades específicas de los grupos protectores  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ , y  $R^{6'}$  introducidos en los grupos amino en las posiciones 3-, 2'- y 6- y el grupo hidroxilo en la posición

2- son como se describió anteriormente. Además,  $W$ ,  $Y^{ax}$ ,  $Y^{eq}$ ,  $R^{2''}$  y  $R^{6''}$  son lo mismo que aquellos del primer proceso de producción.

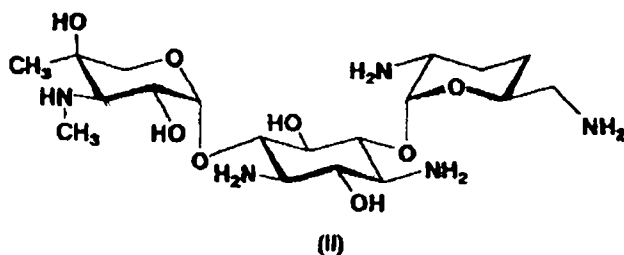
Las condiciones de reacción para cada etapa del el segundo proceso de producción de acuerdo con la presente invención se describirán en detalle en (2) y (3) los cuales serán descritos más adelante.

[0070] Etapa de producción del intermedio para síntesis (Xa)

Los compuestos representados por la fórmula (Ia) de acuerdo con la presente invención pueden ser sintetizados usando el compuesto representado por la fórmula (II): O-3-deoxi-4-C-metil-3-(metilamino)- $\beta$ -L-arabinopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-O-[2,6-diamino-2,3,4,6-tetradeoxi- $\alpha$ -D-eritro-glucopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)]-D-estreptamina (a la cual se hace referencia de aquí en adelante como "2-hidroxigentamicina Cla") como uno de los materiales de partida para la producción de los compuestos. Los compuestos representados por la fórmula (II) pueden emplearse ventajosamente como materiales iniciales para la producción de los compuestos representados por la fórmula (Xa) en los dos anteriores procesos de producción.

20

[Fórmula química 19]



[0071] El compuesto representado por la fórmula (II) (2-hidroxigentamicina Cla) es un compuesto obtenido por sustitución de la 2-deoxiestreptamina, que es un elemento constituyente parcial en la gentamicina Cla como análogo de la

25

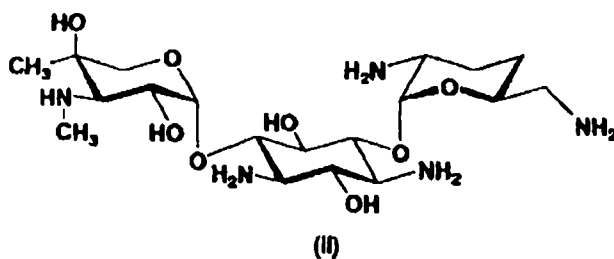


gentamicina, por la estreptamina. Este compuesto puede ser producido por un método convencional, esto es, añadiendo un análogo de deoxiestreptamina a una cepa dependiente de deoxiestreptamina, productora de un aminoglicósido, cultivando la cepa productora, y aislando una nueva sustancia antibiótica aminoglicósida que es una sustancia obtenida por sustitución de una parte del elemento constituyente del aminoglicósido por el análogo adicionado del cultivo resultante. Más específicamente, el compuesto representado por la fórmula (II) puede producirse añadiendo estreptamina a una cepa productora de gentamicina Cla dependiente de la deoxiestreptamina y cultivando la mezcla. Tales cepas productoras incluyen, por ejemplo, *Micromonospora purpurea* ATCC 31119. El anterior proceso de producción está descrito en detalle en Japanese Patent Laid Open No. 108041/1976 cuyos contenidos se incorporan a éste como referencia. El proceso para producir el derivado de la sustancia antibiótica aminoglicósida y el método de obtención de una cepa productora para usar en el proceso de producción están descritos, por ejemplo, en Shier, W.T., K. L. Rinehart Jr. & D. Gottlieb et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 63: pp. 198 to 204, (1969) en el cual la neomicina es un compuesto objetivo, y en Kojima M, Sato et al., J. Antibiot 26 (12): pp. 784-6 (1973) en el cual La ribostamicina y la canamicina son compuestos objetivo.

[0072] En el proceso de producción de acuerdo con la presente invención, cuando se produce un compuesto que es representado por la fórmula (Ia) y del cual el grupo hidroxilo en la posición 5- es ecuatorial, preferiblemente el compuesto representado por la fórmula (II) se hidroliza para producir un

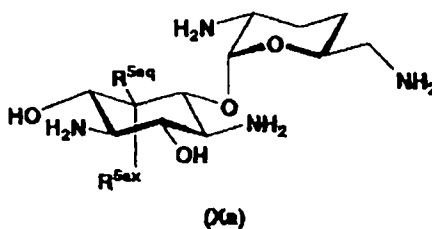
compuesto representado por la fórmula (Xa). Las condiciones para la hidrólisis están descritas en detalle en las etapas primera a sexta del esquema 2 que se describirá más adelante.

[Fórmula química 20]



5

[Fórmula química 21]

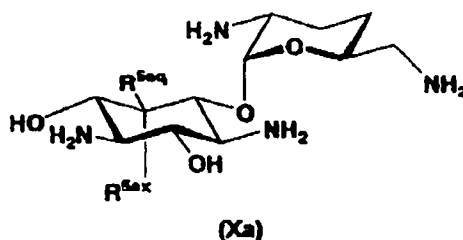


En donde R<sup>5ax</sup> representa un átomo de hidrógeno y R<sup>5eq</sup> representa hidroxilo.

- 10 [0073] En el proceso de producción de acuerdo con la presente invención, cuando se produce un compuesto, que es representado por la fórmula (Ia) y del cual la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- es axial, la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- del
- 15 compuesto representado por la fórmula (II) está invertida. Así, en otra modalidad de la presente invención, el proceso de producir el compuesto representado por la fórmula (Ia) comprende
- introducción de grupos protectores en los grupos hidroxilo diferentes a los grupos hidroxilo de las posiciones 4"- y 5-, y
- 20 los grupos amino del compuesto representado por la fórmula (II),
- inversión de la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- del compuesto resultante,

-remoción de los grupos protectores del compuesto resultante e hidrolizado del compuesto para dar un compuesto representado por la fórmula (Xa).

[Fórmula química 22]



En donde  $R^{5ax}$  representa hidroxilo; y  $R^{5eq}$  representa un átomo de hidrógeno.

[0074] En una modalidad preferida de la presente invención, el proceso de producción comprende además la eliminación del grupo hidroxilo en la posición 4"- antes de o simultáneamente con la inversión de la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5-. Este paso está descrito en detalle en las etapas 5-3 a 5-5 del esquema 10 que se describirá más adelante.

Los grupos protectores introducidos en los grupos hidroxilo diferentes a los grupos hidroxilo de las posiciones 4"- y 5-, y los grupos amino del compuesto representado por la fórmula (II), esto es,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$  y  $R^{3''}$  son como se definió anteriormente.

[0075] Los procesos de producción de acuerdo con la presente invención se clasificarán de acuerdo con la configuración estérica de los grupos hidroxilo en las posiciones 5- y 4"- y el tipo de proceso de producción y serán descritos con más detalle.

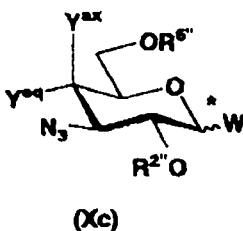
(1) Producción de compuestos en los cuales las posiciones

5- y 4"- son ecuatoriales: primer proceso de producción

En el primer proceso de producción de acuerdo con la presente invención, entre los compuestos representados por la fórmula (Ia), los compuestos en los que tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''ax}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4''eq}$  representan hidroxilo, pueden ser producidos de acuerdo con los tres siguientes esquemas, esto es, esquema 1 (etapa 1-1 a etapa 1-5a y etapa 1-5b), esquema 2 (etapa 1-6 a etapa 1-7) y esquema 3 (etapa 1-8 a etapa 1-14).

[0076] En el esquema 1, se describirá específicamente el proceso para producir compuestos representados por la fórmula (Xc) que se emplean en el proceso de producción de acuerdo con la presente invención

[Fórmula química 23]

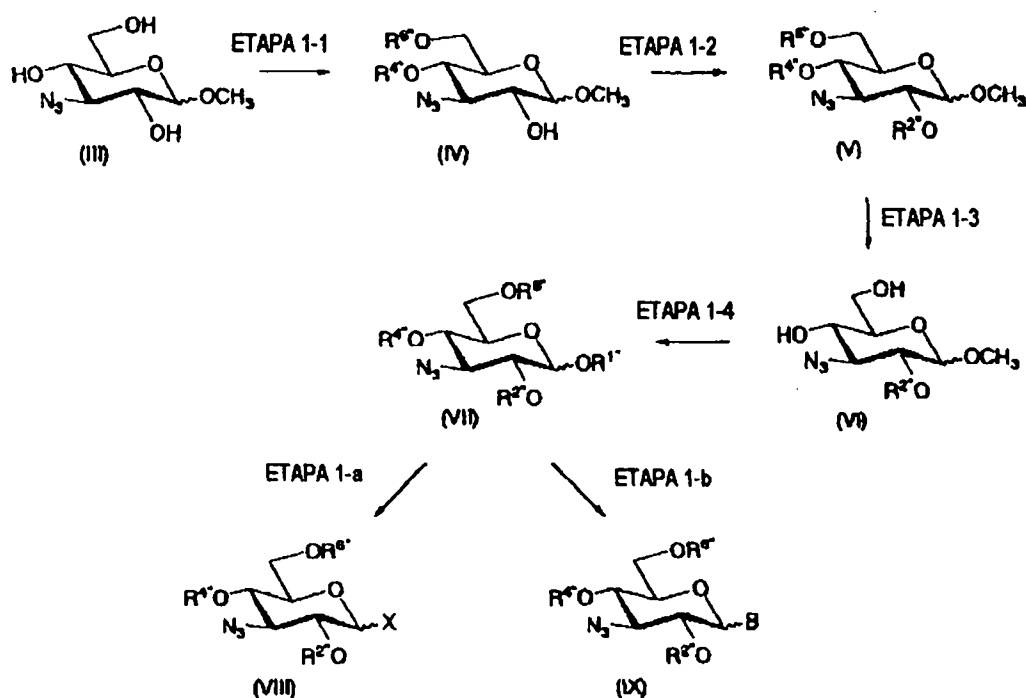


en donde W representa un grupo saliente;  $Y^{ax}$  representa un átomo de hidrógeno;  $Y^{eq}$  representa el grupo  $-OR^{4''}$ ;  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  representan un grupo protector para el grupo hidroxilo; y la configuración estérica del átomo de carbono unido con \* representa R o S.

[0077] Esquema 1

El esquema 1 describe la etapa 1-1 a la etapa 1-5a y la etapa 1-5b. En el esquema 1, los compuestos representados por la fórmula (Xc) se clasifican en compuestos representados por la fórmula (VIII) y compuestos representados por la fórmula (IX) según el tipo del grupo saliente representado por W.

[Fórmula química 24]

ESQUEMA 1

[0078] en donde B representa un grupo saliente que contiene  
 5 un átomo de azufre tal como metiltio, etiltio, o feniltio, preferiblemente feniltio; X representa un átomo de halógeno tal como cloro, bromo o yodo, preferiblemente un átomo de bromo; R<sup>1''</sup> representa un grupo protector para el grupo hidroxilo, preferiblemente, por ejemplo, un grupo protector tipo éster tal como acetilo o benzoilo, más preferiblemente acetilo; R<sup>2''</sup>  
 10 tal como acetilo o benzoilo, más preferiblemente acetilo; R<sup>2''</sup> representa un grupo protector para el grupo hidroxilo, preferiblemente un grupo protector tipo bencilo, que puede ser removido por un método de reducción catalítica con hidrógeno, tal como bencilo, p-metoxibencilo, o p-nitrobencilo, más  
 15 preferiblemente bencilo; y

R<sup>4''</sup> y R<sup>6''</sup>, que pueden ser iguales o diferentes, cada uno representa independientemente un grupo protector para hidroxilo, por ejemplo, un grupo protector tipo éster tal como

acetilo o benzoilo; un grupo protector tipo éter tal como bencilo, p-metoxibencilo, o trifenilmetilo, preferiblemente un grupo protector tipo éster tal como acetilo o benzoilo; o R<sup>4''</sup> y R<sup>6''</sup> juntos representan un grupo protector cíclico tal como acetal o cetal para proteger simultáneamente dos grupos hidroxilo, por ejemplo ciclohexilideno acetal, isopropilideno acetal o bencilideno acetal.

[0079] Etapla 1-1

La etapa 1-1 es una etapa en la cual un grupo protector se introduce en dos grupos hidroxilo en las posiciones 4- y 6- del compuesto representado por la fórmula (III) para dar el compuesto representado por la fórmula (IV). El grupo protector es un grupo protector tipo acetal o cetal en el cual R<sup>4''</sup> y R<sup>6''</sup> se combinan para formar un grupo protector, preferiblemente un grupo isopropilideno. Esta etapa se ejecuta haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (III) con una cetona tipificada por acetona o un acetal tipificado por 2,2-dimetoxipropano en presencia de un ácido.

[0080] Los solventes utilizables en ésta etapa incluyen, por ejemplo, N,N-dimetilformamida, cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano, o acetato de etilo. Entre ellos, se prefiere la N,N-dimetilformamida. Los ácidos empleados aquí incluyen ácido p-toluensulfónico, p-toluensulfonato de piridinium, ácido canfor sulfónico o ácido clorhídrico. Entre ellos se prefiere el ácido p-toluensulfónico.

La temperatura de la reacción está en el rango de 20°C a la temperatura de reflujo. El tiempo de reacción es, por ejemplo, de 1 a 24 horas.

En ésta reacción, por ejemplo, cuando se usa un acetal tipificado por el 2,2-dimetoxipropano, debe adoptarse también un método en el cual la reacción se lleva a cabo mientras se remueve del sistema de reacción el alcohol producido como subproducto, por destilación a presión reducida, para acelerar la reacción.

[0081] Etapas 1-2

La etapa 1-2 es una etapa de producción del compuesto representado por la fórmula (V) introduciendo un grupo protector ( $R^{2''}$ ) en el grupo hidroxilo en la posición 2- del compuesto representado por la fórmula (IV). Esta etapa se realiza haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (IV) con  $R^{2''}X$ , en donde  $R^{2''}$  representa, por ejemplo, bencilo, p-metoxibencilo, o p-nitrobencilo, y X representa, por ejemplo, cloro, bromo o yodo, en presencia de una base.

[0082] Los solventes a utilizar en ésta etapa incluyen piridina, N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, o cloruro de metileno. Entre ellos, se prefiere la N,N-dimetilformamida. Las bases a utilizar en esto incluyen piridina, lutidina, colidina, trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina, hidruro de sodio e hidróxido de potasio. Entre ellas se prefiere el hidruro de sodio.

La temperatura de reacción es de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ . El tiempo de reacción es de 1 a 24 horas.

[0083] Etapas 1-3

La etapa 1-3 es una etapa de remoción del grupo protector en las posiciones 4- y 6- del compuesto representado

por la fórmula (V) para dar un compuesto representado por la fórmula (VI). Esta etapa se efectúa haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (V) con un ácido.

[0084] Los solventes a utilizar en ésta etapa incluyen  
5 tetrahidrofurano, éter etílico, 1-2 dioxano, metanol, cloruro de metileno, cloroformo, ácido acético, agua, o una mezcla de solventes compuesta por éstos. Entre éstos, se prefiere una mezcla de solventes compuesta por agua y ácido acético. Los ácidos a usar en esto incluyen ácido acético, ácido  
10 trifluoroacético, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido p-toluensulfónico o tricloruro de boro. Entre éstos, se prefiere el ácido acético.

La temperatura de reacción está en el rango de 0°C a la temperatura de reflujo. El tiempo de la reacción es de 0.1 a  
15 12 horas.

[0085] Etapas 1-4

La etapa 1-4 es una etapa de introducción de un grupo protector en cada grupo hidroxilo en las posiciones 4- y 6- del compuesto representado por la fórmula (VI) y la  
20 conversión del grupo metoxi en la posición 1- del compuesto representado por la fórmula (VI) en un grupo aciloxi para dar un compuesto representado por la fórmula (VII).

Esta etapa puede efectuarse, por ejemplo, por reacción simultánea de un ácido carboxílico representado por  $R^{1''}OH$  tal  
25 como ácido acético y un anhídrido ácido representado por  $R^{4''}_2O$  o ( $R^{6''}_2O$ ) tal como el anhídrido acético con el compuesto representado por la fórmula (VI) en presencia de un catalizador ácido.



[0086] Los solventes a utilizar en ésta etapa incluyen, por ejemplo, cloruro de metileno, cloroformo, 1-2 dicloroetano, ácido acético, anhídrido acético o una mezcla de solventes compuesta de estos. Entre éstos, se prefiere una mezcla de  
5 solventes compuesta de ácido acético y anhídrido acético. Los ácidos a usar en esto incluyen ácidos clorhídrico o sulfúrico. Se prefiere el ácido sulfúrico.

La temperatura de reacción es de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ . El tiempo de reacción es de 1 a 24 horas.

10 [0087] La etapa 1-4 puede ejecutarse en dos pasos separados. En éste caso, al comienzo, se efectúa un primer paso de introducción de grupos protectores en los grupos hidroxilo en las posiciones 4- y 6-, y se efectúa un segundo paso de conversión del grupo metoxi en la posición 1 a grupo aciloxi.

15 [0088] El primer paso se lleva a cabo haciendo reaccionar un compuesto representado por la fórmula (VI) con un anhídrido de ácido tal como el anhídrido acético o un haluro ácido tal como el cloruro de acetilo en presencia de una base. Los solventes a usar aquí incluyen, por ejemplo, piridina, N,N-dimetilformamida,  
20 cloruro de metileno, cloroformo, o 1,2-dicloroetano. Entre ellos, se prefiere la piridina. Las bases a usar es esto incluyen trietilamina, piridina, o 4-dimetilaminopiridina. Entre ellas, se prefiere la piridina. La temperatura de reacción es de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ . El tiempo de reacción es de 1 a 24 horas.

25 [0089] En el segundo paso, el compuesto producido en el primer paso reacciona con el ácido carboxílico representado por  $\text{R}^1\text{OH}$  tal como ácido acético y un anhídrido ácido representado por  $\text{R}^1_2\text{O}$  tal como anhídrido acético en presencia de un

catalizador ácido. Los solventes a utilizar en ésta segunda etapa incluyen cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano, ácido acético, anhídrido acético o una mezcla de solventes compuesta de ellos. Entre ellos, se prefiere una  
5 mezcla de solventes compuesta de ácido acético, anhídrido acético. Los ácidos a usar en esto son ácido clorhídrico o ácido sulfúrico. Se prefiere el ácido sulfúrico.

La temperatura de reacción es de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ . El tiempo de reacción es de 1 a 24 horas.

10 [0090] Etapas 1-5a

La etapa 1-5a es una etapa de conversión del grupo aciloxi ( $\text{OR}^1$ ) en la posición 1- del compuesto representado por la fórmula (VII) en un átomo halógeno para dar un compuesto representado por la fórmula (VIII). La etapa se lleva a cabo  
15 haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (VII) con un haluro de hidrógeno representado  $\text{HX}$  o un haluro de titanio representado  $\text{TiX}_4$  en donde  $\text{X}$  representa un átomo de cloro o un átomo de bromo.

[0091] Los solventes a usar en ésta etapa incluyen cloruro  
20 de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano, acetato de etilo o una mezcla de solventes compuesta de ellos. Entre ellos se prefiere solvente mixto compuesto de cloruro de metileno y de acetato de etilo.

La temperatura de reacción es de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ . Además,  
25 el tiempo de reacción es de 1 a 24 horas.

[0092] Etapas 1-5b

La etapa 1-5b es una etapa de conversión del grupo aciloxi ( $OR^1$ ) en la posición 1- del compuesto representado por la fórmula (VII) en tioalquilo o tioarilo en presencia de un ácido de Lewis para dar un compuesto representado por la fórmula (IX). Específicamente, ésta etapa se lleva a cabo haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (VII) con un tiol representado por la fórmula BH, en donde B representa, por ejemplo, metiltio, etiltio, o feniltio, o un tiol trimetilsilado representado por TMS-B, en donde TMS representa trimetilsililo, y B es como se definió anteriormente, en presencia de un ácido de Lewis.

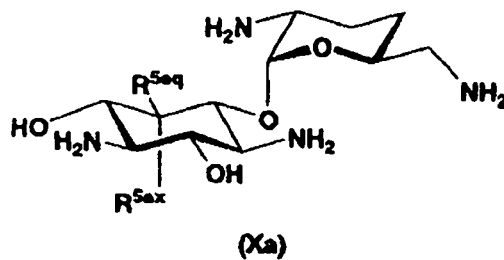
[0093] Los solventes a emplear en ésta etapa incluyen, por ejemplo, cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano, acetato de etilo, o una mezcla de solventes compuesta de ellos. Entre ellos, se prefiere el cloruro de metileno. Los ácidos de Lewis a emplear aquí incluyen trimetilsililtriflato o cloruro de estaño. Se prefiere el trimetilsililtriflato. La temperatura de reacción está en el rango de  $20^{\circ}C$  a la temperatura de reflujo. El tiempo de reacción es de 1 a 48 h.

[0094] Todos los sustituyentes en la posición 1- del compuesto que se muestra en el esquema 1 pueden tomar dos configuraciones estéricas, esto es, una forma axial y una forma ecuatorial. En el esquema 1, estas dos configuraciones estéricas pueden separarse una de la otra antes de su uso en la reacción, o, alternativamente, se puede usar una mezcla como tal de las dos configuraciones estéricas en la reacción. Además, el compuesto representado por la fórmula (VIII) y el compuesto representado por la fórmula (IX) en el esquema 1 se pueden

separar en una forma axial y una forma ecuatorial que luego se usan separadamente una de otra en el esquema 3. Alternativamente, estos compuestos se pueden usar como una mezcla de forma axial y forma ecuatorial.

- 5 [0095] En seguida, se describirá detalladamente un proceso para la producción de un compuesto representado por la fórmula (Xa) que comprende la etapa 1-6 y la etapa 1-7 de acuerdo con el esquema 2. En el esquema 2, el compuesto representado por la fórmula (Xa) en la cual la configuración del átomo de hidrógeno en la posición 5- es ecuatorial corresponde al compuesto
- 10 representado por la fórmula (X).

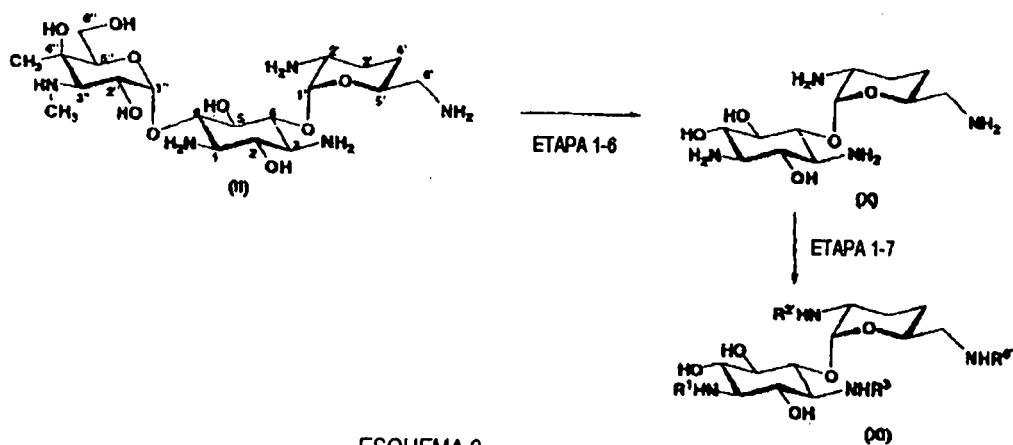
[Fórmula química 25]



- En donde  $R^{5ax}$  representa un átomo de hidrógeno; y  $R^{5eq}$  representa hidroxilo.
- 15

[0096]

[Fórmula química 26]



en donde  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$  y  $R^{6'}$  representan un grupo protector para el grupo amino, preferiblemente un grupo protector de uso común en química orgánica de síntesis tal como metansulfonilo, bencilsulfonilo, p-toluensulfonilo, benciloxicarbonilo, tert-butoxicarbonilo, p-metoxibenciloxicarbonilo o p-nitrobenciloxicarbonilo, más preferiblemente p-toluensulfonilo o benciloxicarbonilo.

[0097] Etapa 1-6

La etapa 1-6 es una etapa para hidrolizar el compuesto representado por la fórmula (II) (2-hidroxigentamicina Cla) como compuesto de partida para dar un compuesto representado por la fórmula (X). Esta etapa se lleva a cabo calentando el compuesto representado por la fórmula (II) en presencia de un ácido.

[0098] En la etapa anterior, preferiblemente se usa agua como solvente. Los ácidos a emplear aquí incluyen ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico o ácido bromhídrico. Entre ellos, se prefiere el ácido clorhídrico 3M a 5M.

La temperatura de reacción está en el rango de 20°C a la temperatura de reflujo, y el tiempo de reacción es de 0.5 a 24 horas.

[0099] Etapa 1-7

La etapa 1-7 es una etapa de introducción de grupos protectores en cuatro grupos amino en el compuesto representado por la fórmula (X) para dar el compuesto representado por la fórmula (XI). Esta etapa puede llevarse a cabo haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (X) con un éster clorofórmico tal como cloroformato de bencilo,

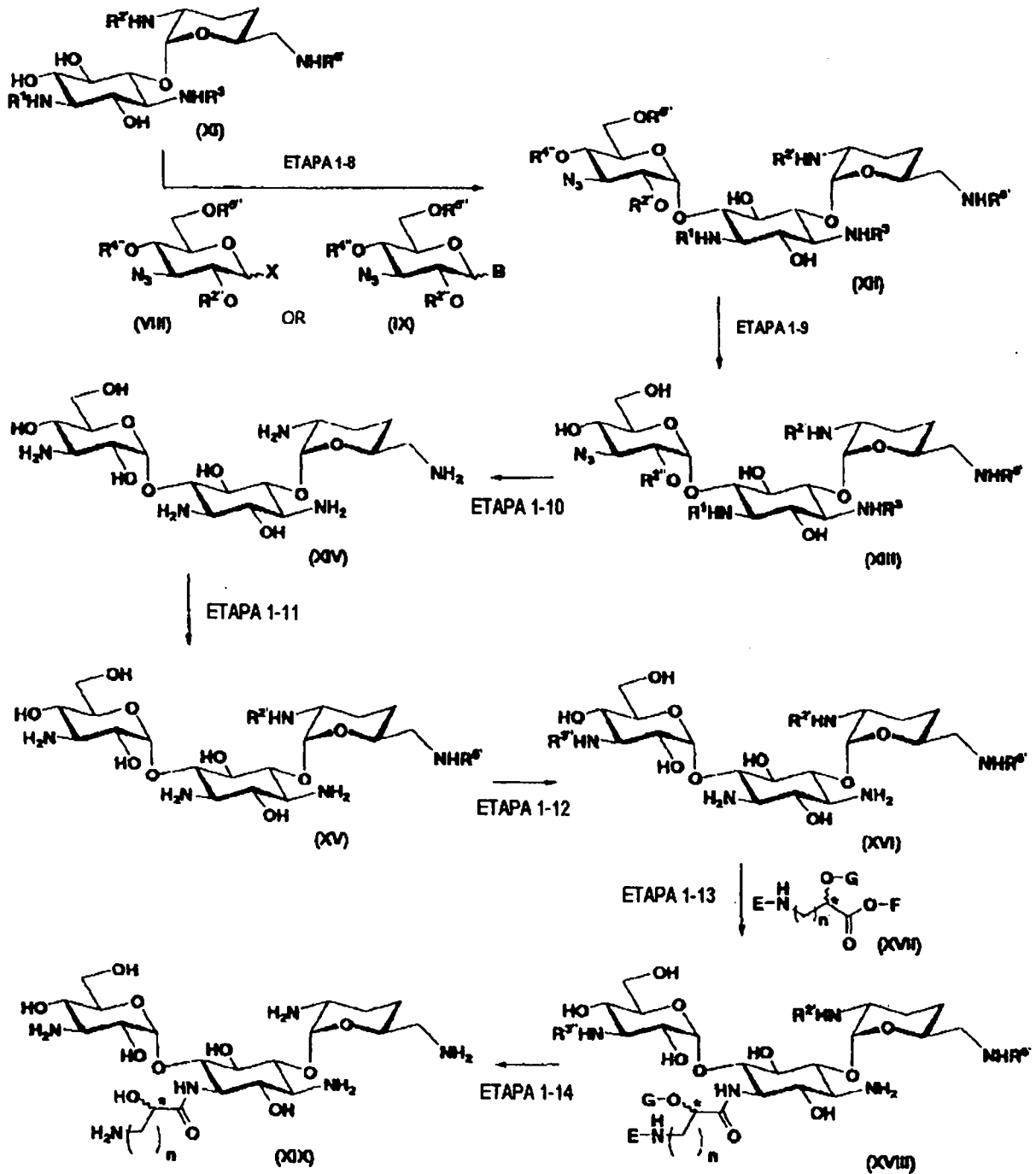
cloroformato de p-metoxibencilo, cloroformato de p-nitrobencilo, un diéster carbónico tal como dicarbonato de di-tert-butilo, o un agente para sulfonilación tal como cloruro de metansulfonilo, cloruro de bencilsulfonilo o cloruro de p-toluensulfonilo en presencia de una base.

[0100] Los solventes a usar en ésta etapa incluyen N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, acetona o una mezcla de solventes compuesta de ellos. Entre ellos, se prefiere una mezcla de solventes compuesta de agua y 1,4-dioxano. Las bases a emplear en esto incluyen hidróxido de sodio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, trietilamina, piridina, o 4-dimetilaminopiridina. El preferido es el carbonato de sodio.

La temperatura de reacción es de -20°C a 50°C y el tiempo de reacción es de 1 a 24 h.

[0101] El primer proceso de producción de acuerdo con la presente invención será descrito con más detalle de acuerdo con el esquema 3 que muestra la etapa 1-8 a la etapa 1-14. En el esquema 3, el compuesto representado por la fórmula (Ia) es sintetizado finalmente a través de un compuesto representado por la fórmula (XIV) el cual es un intermedio clave del compuesto representado por la fórmula (Ia).

[Fórmula química 27]



[0102] en donde

B, X,  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$ ,  $R^{6''}$ , n y la configuración estérica del átomo de carbón unido con \* son como se describió en los esquemas 1 y 2,

E representa un grupo protector para los amino, de preferencia un grupo protector para el grupo amino usado comúnmente en química de síntesis orgánica, más de preferencia benciloxicarbonilo,

F representa un átomo de hidrógeno o un grupo de activación del ácido carboxílico usado en una reacción que activa el carboxilo para formar un enlace péptido (un método de esterificación activo) de preferencia un grupo succinimido, p-nitrofenilo, penta fluorofenilo, o 1-hidroxibenzotriazol, más de preferencia un grupo succinimido,

G representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector para el grupo hidroxilo, por ejemplo un grupo protector tipo éster tal como acetilo o benzoilo, o un grupo protector tipo éter tal como el bencilo, p-metoxibencilo, o trifenilmetilo y

R<sup>3''</sup> representa un grupo protector para un grupo amino de preferencia un grupo protector para un grupo amino comúnmente usado en química de síntesis orgánica, más de preferencia trifluoroacetilo.

[0103] Etapas 1-8

La etapa 1-8 es una etapa de condensación del grupo hidroxilo en la posición 6- del compuesto representado por la fórmula (XI) con el compuesto representado por la fórmula (VIII) producido en la etapa 1-5a o el compuesto representado por la fórmula (IX) producido en la etapa 1-5b para dar un compuesto representado por la fórmula (XII). Esta etapa se puede llevar a cabo por reacción del compuesto representado por la fórmula (XI) con el compuesto representado por la fórmula (VIII) o la fórmula (IX) en presencia de un catalizador y un agente deshidratante.

[0104] Los solventes que se pueden usar en esta etapa incluyen, por ejemplo, N,N-dimetilformamida, cloruro de



metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano, éter etílico, o acetato de etilo, de preferencia 1,2-dicloroetano. Los catalizadores a utilizar en esta misma incluyen ácido trifluorometansulfónico, cianuro mercurico, N-yodosuccinimida, ácido trifluoroacético, bromuro de mercurio, o el óxido de mercurio amarillo. Se prefiere el cianuro mercurico. Los agentes deshidratantes a utilizar en esto incluyen por ejemplo tamices moleculares 4A o Diedrita, de preferencia Diedrita.

La temperatura de reacción es de -20°C a 60°C.

10 El tiempo de reacción es de 1 a 24 h.

[0105] Cuando X en la fórmula (VIII) producido en la etapa 1-5a es un átomo de bromuro, la etapa puede ser llevada a cabo por aplicación de una reacción de glicosilación convencional usando un donante sacárido bromado en la llamada reacción de glicosilación de Koenigs-Korr (Chem. Ber., Vol. 34, p. 957 (1901)). Las condiciones para esta reacción pueden ser determinadas apropiadamente refiriéndose a una revisión de H. Paulsen et al. (Angew. Chem. Int. Ed. Engl., Vol. 21, pp. 155 - 173(1982)), una revisión de R.R. Schmidt (Angew. Chem. Int. Ed. Engl., Vol. 25, pp. 212 - 235(1986)) y similares.

[0106] Por otra parte, cuando B en la fórmula (XI) producido en la etapa 1-5b es tiofenilo, la etapa puede ser llevada a cabo refiriéndose a un informe de G.H. Veeneman et al. (Tetrahedron Letters, Vol. 31, pp 1331 - 1334 (1990)), un informe de P. Konradsson et al. (Tetrahedron Letters, Vol. 31, pp. 4313 - 4316 (1990)) y similares.

[0107] Etapas 1-9

La etapa 1-9 es una etapa de remoción del grupo protector ( $R^{4''}$ ) en la posición 4''- y del grupo protector ( $R^{6''}$ ) en la posición 6'' del compuesto representado por la fórmula (XII) para dar un compuesto representado por la fórmula (XIII). Esta  
5 etapa puede lograrse haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (XII) con una base.

[0108] Los solventes a usar en esta etapa incluyen metanol, etanol, alcohol isopropílico, alcohol tert-butilico, cloruro de metileno, cloroformo, o una mezcla de solventes  
10 compuesta por ellos. Entre ellos el metanol es el preferido. Las bases a usar en esto incluyen carbonato de potasio, carbonato de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, metóxido de sodio, etóxido de sodio, o Tert-BuOK. Se prefiere el metóxido de sodio.

15 La temperatura de la reacción es de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $60^{\circ}\text{C}$ , y el tiempo de la reacción es de 1 a 24 h.

[0109] Etapa 1-10

La etapa 1-10 es una etapa de producción del compuesto representado por la fórmula (XIV) como compuesto  
20 intermedio clave. El compuesto representado por la fórmula (XIV) constituye una estructura básica del compuesto representado por la fórmula (Ia). Por lo tanto, el compuesto representado por la fórmula (XIV) puede ser usado como un producto intermedio para la producción del compuesto  
25 representado por la fórmula (Ia) y sus derivados, y la presente invención incluye esta modalidad.

En la etapa 1-10 se remueven todos los grupos protectores en el compuesto representados por la fórmula (XIII),

y, adicionalmente, el grupo azido en la posición 3" se convierte en amino para dar un compuesto representado por la fórmula (XIV). Esta etapa se puede llevar a cabo haciendo reaccionar los radicales en el compuesto representado por la fórmula (XIII) con un metal alcalino para remover los grupos protectores de todos los grupos amino y un grupo hidroxilo en la posición 2" y convertir el grupo azido en la posición 3" en grupo amino, esto es, adoptando las llamadas "condiciones de reducción de Birch".

[0110] Los solventes a usar en el paso anterior incluyen amoniaco líquido, metilamina, etilamina, hexametilfosfoamida, éter etílico, , tetrahidrofurano, o una mezcla de solventes compuesta por ellos, de preferencia amoniaco líquido. Los metales alcalinos a usar en esto incluyen, litio, sodio o potasio, de preferencia sodio.

La temperatura de la reacción es de -20°C a 60°C, y el tiempo de la reacción es de 0.5 a 24 h.

[0111] Cuando el grupo protector para el grupo amino en el compuesto representado por la fórmula (XIII) es un grupo protector el cual puede ser removido por una reacción de reducción catalítica con hidrógeno, por ejemplo, benciloxicarbonilo, p-metoxibenciloxicarbonilo, o p-nitrobenciloxicarbonilo, la etapa anterior también ser llevada a cabo haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (XIII) con hidrógeno en la presencia de una catalizador para reducción catalítica con hidrógeno. Los catalizadores para reducción catalítica con hidrógeno a usar en esto incluyen paladio-carbón, negro de paladio, hidróxido de paladio y óxido de platino. El paladio-carbón es el preferido entre ellos. En

la reacción, se puede usar cualquier solvente sin una limitación particular en tanto que el solvente no esté involucrado en la reacción. Los preferidos son metanol, etanol, tetrahidrofurano, 1-4-dioxano, una mezcla de solventes compuesta por ellos, o una  
5 mezcla de solventes compuesta de los solventes mencionados anteriormente y agua.

La temperatura de la reacción es de 10°C a 30°C, y el tiempo de la reacción es, por lo general, de 1 a 8 h.

[0112] Cuando el grupo protector para el amino en el  
10 compuesto representado por la fórmula (XIII) es tert-butoxicarbonilo, se puede adoptar también un método en el cual el compuesto representado por la fórmula (XIII) reacciona con hidrógeno en presencia de un catalizador para reducción catalítica con hidrógeno para remover el grupo protector del  
15 grupo hidroxilo en la posición 2" y para convertir el grupo azido en la posición 3" a grupo amino, seguido por una reacción del compuesto resultante con un ácido para remover el tert-butoxicarbonilo. En este caso, los solventes a usar para remover el grupo protector del grupo amino incluyen acetato de  
20 etilo, cloruro de metileno, acetonitrilo, acetona, anisol, agua, o una mezcla de solventes compuesta por ellos. Se prefiere el agua entre ellos. Los ácidos a usar en esto incluyen ácido p-toluensulfónico, ácido metansulfónico, ácido acético, o ácido trifluoroacético, de preferencia el ácido trifluoroacético.

25 La temperatura de la reacción es generalmente de 0°C a 30°C, y el tiempo de la reacción es de 1 a 12 h.

[0113] Etapa 1-11

La etapa 1-11 es una etapa de introducción selectiva de un grupo protector ( $R^{2'}$  y  $R^{6'}$ ) en los grupos amino en las posiciones 2' y 6' del compuesto representado por la fórmula (XIV) para dar un compuesto representado por la fórmula (XV). Esta etapa se puede llevar a cabo por (reacción de) el compuesto representado por la fórmula (XIV) con un éster clorofórmico tal como cloroformato de bencilo, cloroformato de p-metoxibencilo, o cloroformato de p-nitrobencilo, un diéster carbónico tal como dicarbonato de di-tert-butilo, o una N-(benciloxicarboniloxi)succinimida en presencia de una sal metálica.

[0114] Los solventes a usar en esta etapa incluyen, por ejemplo, N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, metanol, etanol, o alcohol isopropílico, de preferencia metanol. Las sales de metales de transición a emplear en esto incluyen acetato de zinc, acetato de níquel, o acetato de cobalto, de preferencia acetato de níquel.

La temperatura de la reacción es de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ , y el tiempo de la reacción es de 1 a 24 h.

20 [0115] Etapa 1-12

La etapa 1-12 es una etapa para introducir selectivamente un grupo protector ( $R^{3''}$ ) en el grupo amino de la posición 3'' del compuesto representado por la fórmula (XV) para dar un compuesto representado por la fórmula (XVI). Esta etapa se puede llevar a cabo haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (XV), por ejemplo, con un anhídrido carboxílico halogenado tal como el anhídrido trifluoroacético o anhídrido tricloroacético, un éster carboxílico halogenado tal

como el trifluoroacetato de metilo o trifluoroacetato de etilo, o un haluro ácido de un ácido carboxílico halogenado.

[0116] En la etapa anterior, los reactantes preferidos para usar en esta incluyen trifluoroacetato de etilo.

5 Los solventes a usar en esta etapa incluyen, por ejemplo, N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano, o 1,4-dioxano, de preferencia N,N-dimetilformamida.

La temperatura de la reacción es de -20°C a 50°C, 10 y el tiempo de la reacción es de 1 a 24 h.

[0117] Etapas 1-13

La etapa 1-13 es una etapa para hacer reaccionar los grupos amino en la posición 1- del compuesto representado por la fórmula (XVI) con un derivado de un ácido  $\omega$ -amino- $\alpha$ -hidroxicarboxílico representado por la fórmula (XVII) para dar 15 un compuesto representado por la fórmula (XVIII), esto es, una etapa de manejo de una reacción de formación de un enlace péptido. El compuesto representado por la fórmula (XVII) es por ejemplo, un derivado del ácido 4-amino-2-hidroxibutírico el 20 cual puede ser preparado por síntesis orgánica convencional usando un compuesto inicial apropiado. Alternativamente, el compuesto puede ser sintetizado por referencia al proceso reportado por H. Kawaguchi et al. (Journal of antibiotics, vol. 25, pp 695 - 708 (1972)). En esta etapa, cuando se emplea un 25 compuesto representado por la fórmula (XVII) en donde F representa un átomo de hidrógeno, se usa un agente condensador de péptidos de uso común en síntesis orgánica. Los agentes condensadores de péptidos incluyen, por ejemplo,

diciclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida, N-etil-N'-dimetil aminopropilcarbodiimida y su clorhidrato, hexafluorofosfuro de benzotriazol-1-il-tris(dimetilamino)fosfonio, y difenilfosforilazida. Ellos pueden ser usados solos, o  
5 alternativamente pueden ser usados en combinación con N-hidroxisuccinimida, 1-hidroxibenzotriazol o similares. Cuando se usa una reacción que activa el grupo carboxilo para formar un enlace péptido (un método de esterificación activo), en la fórmula (XVII), F representa un grupo de activación del ácido  
10 carboxílico seleccionado entre un grupo succinimido, p-nitrofenilo, pentafluorofenilo, 1-hidroxibenzotriazol o similares. Esto es, se forma un compuesto llamado "éster activo". En algunos casos este éster activo es separado antes de usarlo.

15 [0118] Los solventes a usar en la etapa anterior incluyen N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano o 1,4-dioxano. Entre ellos se prefiere el tetrahidrofurano.

La temperatura de la reacción es de -20°C a 50°C,  
20 y el tiempo de la reacción es de 1 a 48 h.

[0119] Etapas 1-14

La etapa 1-14 es una etapa de remoción del grupo protector en el compuesto representado por la fórmula (XVIII) para dar un compuesto representado por la fórmula (Ia) en donde  
25 tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4'ax}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4'eq}$  representan un hidroxilo. Esta etapa puede lograrse haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (XVIII) con una base para remover el grupo protector del

grupo amino en la posición 3" y luego haciendo reaccionar el compuesto resultante con hidrógeno en presencia de un catalizador para reducción catalítica con hidrógeno para remover los restantes grupos protectores del grupo amino.

- 5 [0120] Los solventes a usar en la etapa anterior para remoción del grupo protector del grupo amino en la posición 3" incluyen metanol, etanol, alcohol isopropílico, alcohol tert-butílico, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, agua, o una mezcla de solventes compuesta por ellos. Entre ellos se prefiere una
- 10 mezcla de solventes compuesta por tetrahidrofurano y agua. Las bases a usar en esto incluyen amoníaco acuoso, carbonato de potasio, carbonato de sodio, hidróxido de potasio, o hidróxido de sodio. Entre ellas se prefiere el amoníaco acuoso.

- La temperatura de la reacción es de 0°C a 50°C, y
- 15 el tiempo de la reacción es de 1 a 48 h.

- [0121] El catalizador para reducción catalítica con hidrógeno a usar en la etapa de remover los grupos protectores remanentes para el grupo amino diferente al grupo amino de la posición 3" incluyen paladio-carbón, negro de paladio, hidróxido
- 20 de paladio, níquel Raney o el óxido de platino. Entre ellos se prefiere el negro de paladio. Se puede usar cualquier solvente sin una limitación particular en tanto que el solvente sea inerte a la reacción. Los solventes preferidos incluyen metanol, etanol, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, ácido acético,
- 25 una mezcla de solventes compuesta por ellos, o una mezcla de solventes compuesta del solvente orgánico y agua. Puede ser usado hidrógeno gaseoso como hidrógeno añadido. La presión del hidrógeno gaseoso puede ser de 1 atm, lo que es la presión



atmosférica. Si es necesario, un gas de hidrógeno presurizado puede ser usado también. Con respecto a fuentes de hidrógeno diferentes al hidrógeno gaseoso, se pueden usar también, si es necesario el ácido fórmico, una sal del ácido fórmico, 5 ciclohexano o similares.

La temperatura de la reacción es de 10°C a 30°C, y el tiempo de la reacción es de 1 a 8 h.

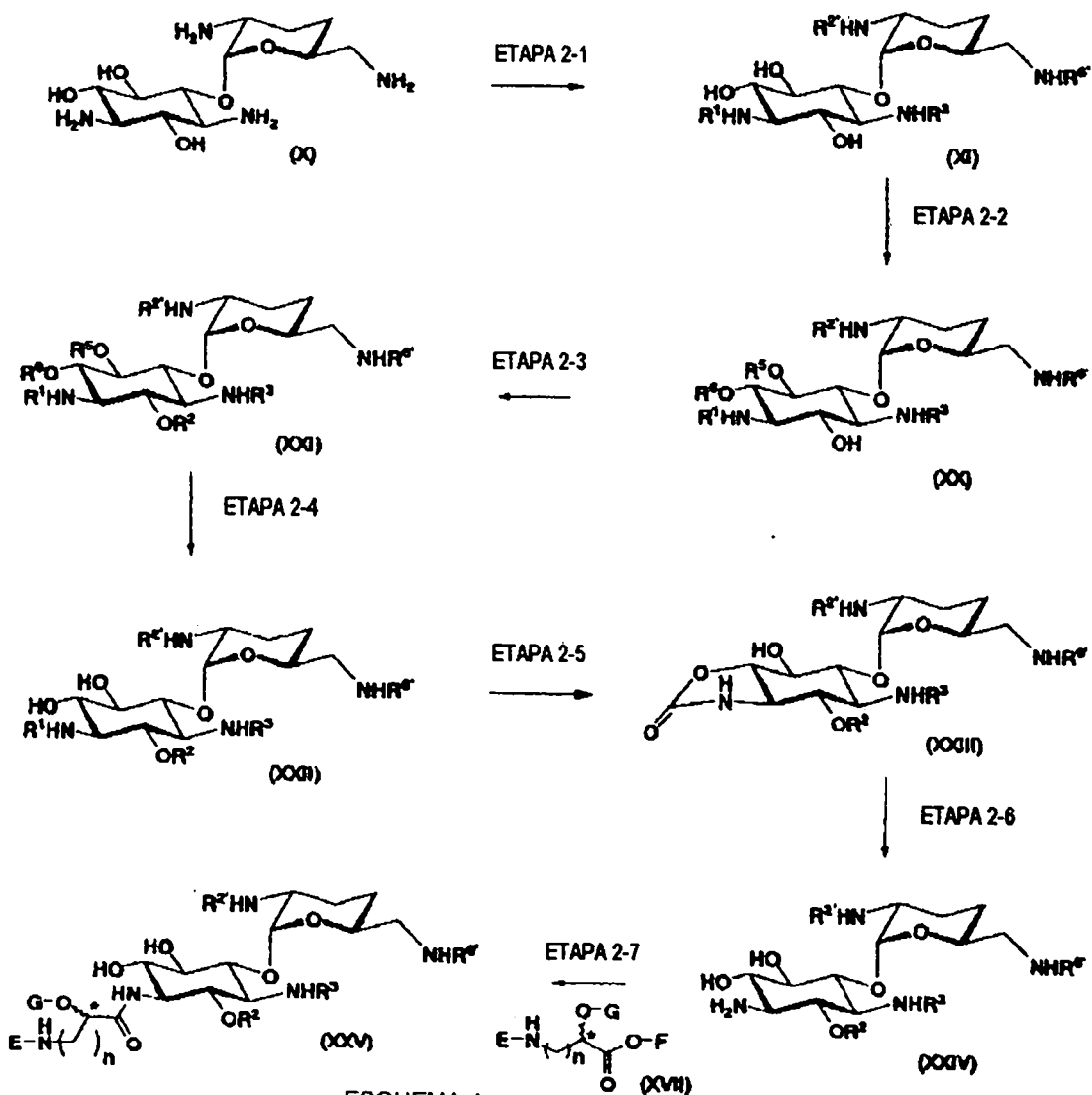
[0122] Cuando el grupo protector para el grupo amino en el compuesto representado por la fórmula (XVIII) es por ejemplo 10 tert-butoxicarbonilo o p-metoxibenciloxycarbonilo que puede ser removido bajo condiciones de acidez, el grupo protector remanente para el grupo amino diferente al grupo amino en la posición 3" puede también ser removido por reacción del compuesto, producido por remover el grupo protector para el 15 grupo amino en la posición 3", con ácido. En este caso, los solventes a usar en la etapa de remover el grupo protector para el grupo amino incluyen acetato de etilo, cloruro de metileno, acetonitrilo, acetona, anisol, agua o una mezcla de solventes compuesta por ellos. Entre ellos el preferido es el agua. Los 20 ácidos a usar en esto incluyen ácido p-toluensulfónico, ácido metansulfónico, ácido acético, o ácido trifluoroacético. Entre ellos es preferido el ácido trifluoroacético.

La temperatura de la reacción es generalmente de 0°C a 30°C, y el tiempo de la reacción es de 1 a 12 h.

25 [0123] (2) Producción de compuestos de los cuales las posiciones 5 y 4" son ecuatoriales: segundo proceso de producción

En el segundo proceso de producción de acuerdo con la presente invención, entre los compuestos representados por la fórmula (Ia), los compuestos en donde tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''ax}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4''eq}$  representan hidroxilo, pueden ser producidos de acuerdo al siguiente esquema 4 (Etapa 2-1 a etapa 2-7), esquema 5 (etapa 2-8 a etapa 2-10). En este caso, el compuesto inicial (X) es el mismo que el compuesto sintetizado del compuesto representado por (2-hidroxigentamicina Cla) representado por la fórmula (II) en el esquema 2.

[Fórmula química 28]



En donde

$R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ , E, F, G, n y la configuración estérica del átomo de carbón unido con \* son como se describe en los esquemas 1 y 2;  $R^2$  representa un grupo protector para el grupo hidroxilo comúnmente usado en síntesis orgánica, preferiblemente un grupo protector tipo bencilo que puede ser removido por una reacción para reducción catalítica con hidrógeno tal como bencilo, p-metoxibencilo o p-nitrobencilo, con mayor preferencia bencilo;  $R^5$  y  $R^6$  representan un grupo protector para el grupo hidroxilo y cada uno independientemente representa un grupo protector para el grupo hidroxilo, o  $R^5$  y  $R^6$  juntos representan un grupo protector cíclico que simultáneamente protege dos grupos hidroxilos, por ejemplo un acetal o cetal, preferiblemente ciclohexilideno acetal.

[0124] En el esquema 4, de la etapa 2-1 a la etapa 2-6 son etapas de introducción de un grupo protector en los grupos amino en las posiciones 3, 2' y 6' y el grupo hidroxilo en la posición 2 del compuesto representado por la fórmula (X).

#### 20                    Etapas 2-1

La etapa 2-1 es una etapa de introducción de un grupo protector idéntico en cuatro grupos amino en el compuesto representado por la fórmula (X) sintetizado en el esquema 2 para dar un compuesto representado por la fórmula (XI). Esta etapa puede llevarse a cabo haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (X) con un éster clorofórmico tal como cloroformato de bencilo, cloroformato de p-nitrobencilo, un

diéster carbónico tal como dicarbonato de di-tert- butilo o N-(benciloxicarboniloxi)succinimida en la presencia de una base.

[0125] Los solventes a usar en esta etapa incluyen por ejemplo 1,2-dimetoxietano, N,N-dimetilformamida,

5 dimetilsulfóxido, metanol, etanol, alcohol isopropílico, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, éter etílico, cloruro de metileno, cloroformo y agua. Entre ellos se pueden mezclar para usarse como mezcla solvente. Se prefiere una mezcla de solventes compuesta de 1,2-dimetoxietano o 1,4-dioxano y agua.

10 Las bases a usar en esto incluyen bases orgánicas tales como trietilamina, diisopropiletilamina, N-metilmorfolina, y piridina, y bases inorgánicas como carbonato de sodio, carbonato de potasio y bicarbonato de sodio. Entre ellos se prefiere a la trietilamina.

15 La temperatura de reacción es de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ , y el tiempo de reacción es de 1 a 24 h.

[0126] Etapas 2-2

La etapa 2-2 es una etapa de introducción de los grupos protectores ( $\text{R}^5$  y  $\text{R}^6$ ) en el grupo hidroxilo adyacente a  
20 las posiciones 5- y 6- del compuesto representado por la fórmula (XI) para dar un compuesto representado por la fórmula (XX).

El grupo protector para hidroxilo a ser seleccionado puede ser tal que  $\text{R}^5$  y  $\text{R}^6$ , cada uno independientemente, sirvan como grupo protector para el grupo hidroxilo. El grupo protector  
25 para el hidroxilo es preferiblemente tal que  $\text{R}^5$  y  $\text{R}^6$  juntos formen un grupo protector cíclico. Tales grupos protectores incluyen ciclohexilideno acetal, isopropilidenoacetal, y

bencilideno acetal. En este esquema se prefiere el ciclohexilideno acetal.

[0127] Los solventes a usar en esta etapa incluyen por ejemplo, N,N-dimetilformamida, cloruro de metileno, cloroformo, 5 1,2-dimetoxietano, 1,2-dicloroetano, acetato de etilo, o una mezcla de solventes compuesta por ellos. Entre ellos, el se prefiere el 1,2-dimetoxietano. Los ácidos a usar en esto incluyen ácido p-toluensulfónico, p-toluensulfonato de piridinium, ácido camforsulfónico o ácido clorhídrico. Entre 10 ellos se prefiere el p-toluensulfonato de piridinium.

La temperatura de la reacción está en el rango de 20°C a la temperatura de reflujo, y el tiempo de la reacción es por ejemplo de 1 a 24 h.

En esta reacción, cuando un acetal tal como 2,2- 15 dimetoxipropano o ciclohexanona dimetilacetal es usado, la reacción puede ser llevada a cabo mientras se remueve el alcohol como un subproducto del sistema de reacción, por destilación bajo presión reducida, para acelerar la reacción.

[0128] Etapas 2-3

20 La etapa 2-3 es una etapa para introducir un grupo protector ( $R^2$ ) en el grupo hidroxilo en la posición 2 del compuesto representado por la fórmula (XX) para dar un compuesto representado por la fórmula (XXI). Esta etapa puede llevarse a cabo por reacción del compuesto representado por la fórmula 25 (XX) con  $R^2-X$ , en donde  $R^2$  representa bencilo, p-metoxibencilo o p-nitrobencilo y X representa cloro, bromo, yodo o similares, en la presencia de una base.

[0129] Los solventes a usar en esta etapa incluyen piridina, N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, o cloruro de metileno. Entre ellos, la N,N-dimetilformamida y el tetrahidrofurano son los preferidos. Las bases a usar en esto  
5 incluyen piridina, lutidina, colidina, trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina, hidruro de sodio, o hidróxido de potasio. Entre ellos se prefiere el hidruro de sodio.

En esta reacción, por ejemplo, yoduros tales como  
10 yoduro de sodio y yoduro de tetrabutilamonio, sales de plata tales como óxido de plata, o nitrato de plata, o éter corona pueden ser añadidos desde el punto de vista de acelerar la reacción.

La temperatura de la reacción es de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ ,  
15 y el tiempo de la reacción es de 1 a 24 h.

[0130] Etapas 2-4

La etapa 2-4 es una etapa para remover los grupos protectores para el grupo hidroxilo en  $\text{R}^5$  y  $\text{R}^6$  introducidos en la etapa 2-3 para dar un compuesto representado por la fórmula  
20 (XXII). Las condiciones de la reacción usadas son aquellas comúnmente usadas en la síntesis orgánica dependiendo de los grupos protectores introducidos en  $\text{R}^5$  y  $\text{R}^6$ .

Cuando el grupo protector para el hidroxilo es tal que  $\text{R}^5$  y  $\text{R}^6$  en la fórmula (XXI) juntos forman un grupo  
25 protector cíclico, esta etapa puede llevarse a cabo haciendo reaccionar el compuesto representado por la fórmula (XXI) con un ácido.

[0131] Los solventes a usar en esta etapa incluyen tetrahidrofurano, éter etílico, 1,4-dioxano, metanol, cloruro de metileno, cloroformo, ácido acético, agua o una mezcla de solventes compuesta por ellos. Entre ellos se prefiere una  
5 mezcla de solventes compuesta de cloroformo y metanol o una mezcla de solventes compuesta de ácido acético y agua. Los ácidos a usar en esto incluyen ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido p-toluensulfónico, o tricloruro de boro. Entre ellos el ácido  
10 trifluoroacético o el ácido acético son preferidos.

La temperatura de la reacción esta en el rango de 0°C a la temperatura de reflujo. El tiempo de la reacción es de 0.1 a 12 h.

[0132] Etapa 2-5

15 La etapa 2-5 es una etapa de remoción del grupo protector ( $R^1$ ) para el grupo amino en la posición 1- del compuesto representado por la fórmula (XXI), y al mismo tiempo, formar un carbamato cíclico entre el grupo amino y un grupo hidroxilo adyacente en la posición 6- para dar un compuesto  
20 representado por la fórmula (XXIII).

Esta etapa se lleva a cabo tratando el compuesto representado por la fórmula (XXI) con una base. Las bases a usar en esto incluyen hidruro de sodio e hidróxido de potasio. Entre ellas se prefiere el hidruro de sodio. Los  
25 solventes a usar en esto incluyen N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano, 1,4 dioxano, o cloruro de metileno. Entre ellos se prefiere la N,N-dimetilformamida.

[0133] Etapa 2-6

La etapa 2-6 es una etapa para separar el carbamato cíclico formado en las posiciones 1 y 6 del compuesto representado por la fórmula (XXIII) para dar un compuesto representado por la fórmula (XXIV). Esta etapa puede llevarse a cabo tratando el compuesto representado por la fórmula (XXIII) con una base.

Las bases a usar en esto incluyen bases inorgánicas tales como carbonato de sodio y carbonato de potasio y alcóxidos metálicos tales como metóxido de sodio y etóxido de sodio.

Los solventes a usar en esto incluyen N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, cloruro de metileno, agua y una mezcla de solventes compuesta por ellos. Entre ellos una mezcla de solventes compuesta de 1,4-dioxano y agua es preferida.

La temperatura de la reacción está en el rango de 0°C a la temperatura de reflujo, y el tiempo de la reacción es de 0.1 a 12 h.

[0134] Etapas 2-7

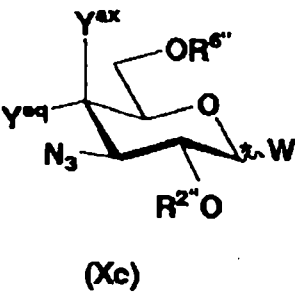
La etapa 2-7 es una etapa de condensación del grupo amino en la posición 1- del compuesto representado por la fórmula (XXIV) producido en la etapa 2-6 con el compuesto representado por la fórmula (XVII) para dar el compuesto representado por la fórmula (XXV).

Esta etapa puede llevarse a cabo bajo las mismas condiciones de reacción que las descritas para la reacción de la etapa 1-13 o condiciones de reacción similares a las condiciones de reacción descritas en la etapa 1-13 en el esquema 3.



[0135] El esquema 5 muestra la etapa para hacer reaccionar el compuesto representado por la fórmula (XXV) con el compuesto representado por la fórmula (Xc) (etapa 2-8),

[Fórmula química 29]



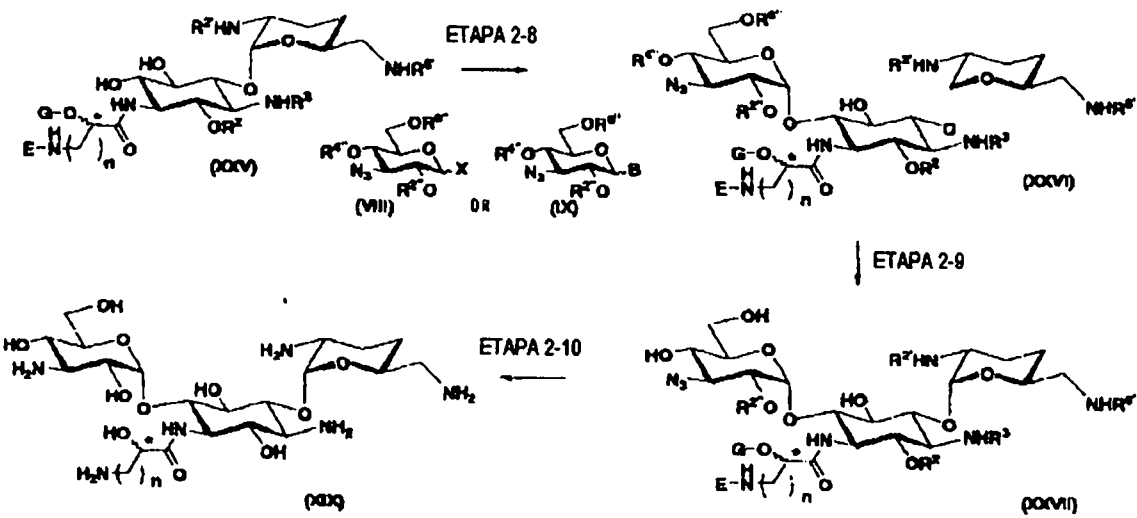
5

En donde W, Y<sup>ax</sup>, Y<sup>eq</sup>, R<sup>6''</sup>, R<sup>2''</sup>, y la configuración estérica del átomo de carbón unido con \* son como se definieron anteriormente, y

[0136] Adelante se explicarán, la etapa de remoción del grupo protector del compuesto resultante (etapa 2-9 y etapa 2-10) y la etapa de reducción del grupo azido del compuesto para dar un compuesto representado por la fórmula (Ia) (etapa 2-10).

10

[Fórmula química 30]



ESQUEMA 5

En donde  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$ ,  $R^{6''}$ , B, X, E, G, n y la configuración estérica del átomo de carbón unido con \* son como se definieron anteriormente.

[0137]            Etapa 2-8

5            La etapa 2-8 es una etapa de condensación del compuesto representado por la fórmula (XXV) producido en el esquema 4 con el compuesto representado por la fórmula (Xc), (el compuesto representado por la fórmula (VIII) o el compuesto representado por la fórmula (IX)) para dar un compuesto  
10 representado por la fórmula (XXVI).

Esta etapa puede llevarse a cabo bajo las mismas condiciones de reacción que las condiciones descritas en la etapa 1-8 o condiciones de reacción similares a las condiciones de reacción descritas en la etapa 1-8 en el esquema 3.

15 [0138]            Etapa 2-9

La etapa 2-9 es una etapa de remoción de dos grupos protectores ( $R^{4''}$  y  $R^{6''}$ ) para el grupo hidroxilo en el compuesto representado por la fórmula (XXVI) para dar un compuesto representado por la fórmula (XXVII).

20            Esta etapa puede llevarse a cabo por hidrólisis bajo condiciones básicas o bajo condiciones ácidas, o tratando el compuesto con una base nucleofílica, por ejemplo, metóxido de sodio o etóxido de sodio bajo condiciones anhidras.

25            En el caso de hidrólisis, además del agua, pueden usarse como el solvente de la reacción, solventes alcohólicos tales como metanol o etanol y solventes miscibles con agua, por ejemplo, con tetrahidrofurano o 1,4-dioxano. Además solventes inmiscibles con agua, por ejemplo, acetato de etilo y cloruro de

metileno, pueden usarse adoptando una reacción tipo doble capa con agua. Los solventes comúnmente usados en síntesis orgánica pueden ser usados como solventes bajo condiciones anhidras.

[0139] Etapas 2-10

5 La etapa 2-10 es una etapa de reducción del grupo azido en el compuesto representado por la fórmula (XXVII) producido en la etapa 2-9 a grupo amino y adicionalmente remover tres grupos protectores ( $R^3$ ,  $R^{2'}$ , y  $R^{6'}$ ) para el grupo amino y el grupo protector ( $R^2$ ) para el grupo hidroxilo en la posición 2-  
10 para dar un compuesto representado por la fórmula (XIX) el cual es compuesto representado por la fórmula (Ia) en donde tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''ax}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4''eq}$  representan un hidroxilo.

[0140] En esta reacción, la reacción de reducción del  
15 grupo azido y la desprotección pueden llevarse a cabo separadamente una de la otra por medio de una pluralidad de etapas. Alternativamente, cuando ambas reacciones pueden ser llevadas a cabo bajo las mismas condiciones de reacción, esta etapa puede ser llevada a cabo con una reacción sencilla.

20 Una reacción con hidrógeno en presencia un catalizador para reducción catalítica con hidrógeno puede ser mencionada como la reacción a través de la cual el grupo azido es reducido y convertido a grupo amino. Los catalizadores para reducción catalítica con hidrógeno a usar en esto incluyen  
25 paladio-carbón, negro de paladio, hidróxido de paladio, níquel Raney u óxido de platino. Entre ellos se prefiere el negro de paladio. Cualquier solvente puede ser usado sin una limitación particular en tanto que el solvente sea inerte a esta reacción.

Los solventes preferidos incluyen metanol, etanol, tetrahidrofurano, dioxano, ácido acético o una mezcla de solventes compuesta por ellos o una mezcla de solventes compuesta de solvente orgánico y agua. Hidrógeno gaseoso puede  
5 usarse para ser añadido como hidrógeno. La presión del hidrógeno gaseoso puede ser 1 atm que es la presión atmosférica. Si es necesario, puede usarse también hidrógeno gaseoso presurizado. De acuerdo con la necesidad pueden usarse fuentes de hidrógeno diferentes al hidrógeno gaseoso, como ácido  
10 fórmico, sales del ácido fórmico y ciclohexano.

Los métodos para reducir el grupo azido para la conversión a grupo amino incluyen el método de Staudinger et al. en el cual el compuesto azido se hace reaccionar con fosfina o fosfito para dar iminofosforano el cual es hidrolizado para su  
15 conversión a amino (Helvetica Chemica Acta Vol. 2, p. 635 (1919)). Los fosfinos reactivos a usar en este método incluyen trifenilfosfino y trimetilfosfino. Por ejemplo el fosfito de trimetilo puede ser mencionado como el fosfito reactante. Los solventes a usar en la reacción incluyen tetrahidrofurano, 1,4-  
20 dioxano, éter etílico, acetonitrilo, cloruro de metileno, agua y una mezcla de solventes compuesta por ellos. El iminofosforano producido como un intermedio puede ser separado antes de la hidrólisis. La producción del iminofosforano y la hidrólisis pueden ser llevadas a cabo en una etapa al añadir agua a un  
25 solvente de la reacción.

[0141] El método para remover los tres grupos protectores ( $R^3$ ,  $R^{2'}$ , y  $R^{6'}$ ) para el grupo amino y el grupo protector ( $R^2$ ) para el grupo hidroxilo en la posición 2- puede

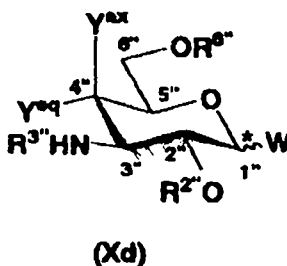
seleccionarse al tomar en cuenta las condiciones de desprotección comúnmente usadas en síntesis orgánica dependiendo del tipo del grupo protector. El método puede ser llevado a cabo por etapas o en una etapa.

5 Cuando el grupo protector, el cual se puede remover por una reacción de hidrogenación catalítica, se selecciona tanto para los tres grupos protectores ( $R^3$ ,  $R^{2'}$ , y  $R^{6'}$ ) para el grupo amino, como para el grupo protector ( $R^2$ ) para el grupo hidroxilo en la posición 2- y, en este caso, cuando  
10 todos los tres  $R^3$ ,  $R^{2'}$ , y  $R^{6'}$  representan benciloxicarbonilo mientras  $R^2$  representa bencilo, una reacción de reducción para convertir el grupo azido a grupo amino puede también puede llevarse a cabo simultáneamente con ventaja por una reacción de hidrogenación catalítica de una etapa.

15 [0142] (3) Producción de compuestos de los cuales la posición 5- y 4'' son ecuatoriales: segundo proceso de producción

En el segundo proceso de producción de acuerdo con la presente invención, el compuesto representado por la fórmula (Ia) también puede ser producido usando un compuesto  
20 representado por la fórmula (Xd) en lugar del compuesto representado por la fórmula (Xc).

[Fórmula química 31]

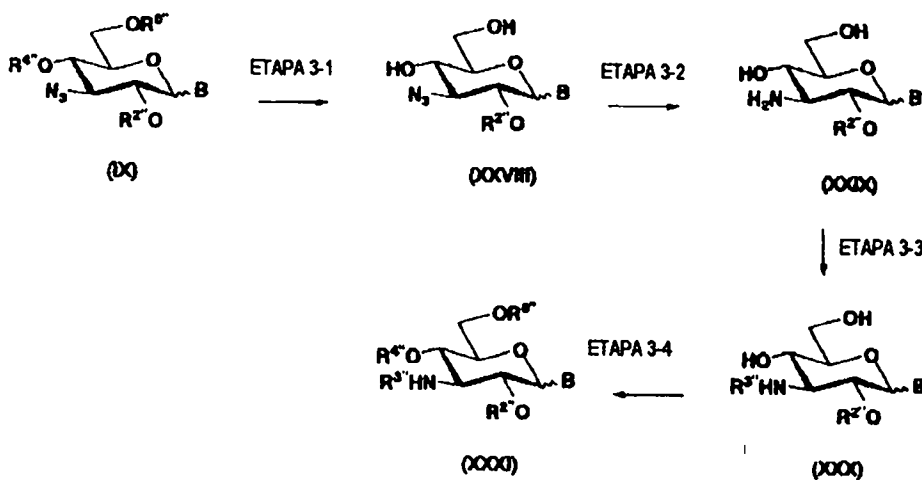


En donde  $W$ ,  $Y^{ax}$ ,  $Y^{eq}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{3''}$ ,  $R^{6''}$ , y la configuración estérica del átomo de carbón unido con  $*$  son como se definieron anteriormente.

El segundo proceso de producción será descrito con referencia al esquema 6 (etapa 3-1 a etapa 3-4) y al esquema 7 (etapa 3-5 a etapa 3-7).

[0143] En el siguiente esquema 6, los compuestos representados por la fórmula (Xd), en donde  $Y^{ax}$  representa un átomo de hidrogeno,  $Y^{eq}$  representa un hidroxilo y  $W$  representa un grupo saliente (B), son descritos como compuestos representados por la fórmula (XXXI) y se describirá el proceso de producción de estos.

[Fórmula química 32]



ESQUEMA 6

15 en donde

$R^{2''}$ ,  $R^{3''}$ ,  $R^{4''}$ ,  $R^{6''}$ , y  $B$  son como se definieron anteriormente y  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  representan preferiblemente un grupo protector tipo éster.

[0144] Etapa 3-1

20 La etapa 3-1 es una etapa para remover los dos grupos protectores ( $R^{4''}$  y  $R^{6''}$ ) para el grupo hidroxilo en el

compuesto representado por la fórmula (IX) para dar un compuesto representado por la fórmula (XXVIII).

Cuando  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  representan un grupo protector tipo éster, puede aplicarse una reacción de hidrólisis o  
5 reacción de solvólisis. Con preferencia es una reacción de solvólisis.

Más específicamente, la reacción de solvólisis puede ser llevada a cabo usando metóxido de sodio, etóxido de sodio o similares. Cualquier solvente puede ser usado sin una  
10 limitación en tanto que el solvente sea inerte a la reacción. Se prefieren los solventes alcohólicos tales como el metanol y el etanol.

La temperatura de la reacción está en el rango de  $0^{\circ}\text{C}$  a la temperatura del reflujo, y el tiempo de la reacción es  
15 de 0.1 a 12 h.

[0145]            Etapas 3-2

La etapa 3-2 es una etapa de reducción del grupo azido en el compuesto representado por la fórmula (XXVIII) a grupo amino para dar un compuesto representado por la fórmula  
20 (XXIX).

En la etapa 2-10 en el esquema 5, la etapa de reducción del grupo azido a grupo amino se describió en detalle.

Las mismas condiciones pueden ser aplicadas a la etapa 3-2. En el esquema 6, se usa con preferencia el método de  
25 Staundinger et al. (Helvetica Chemica Acta, Vol. 2, p. 635(1919)). El compuesto representado por la fórmula (XXIX) producido en esta etapa puede ser separado para usarlo en la etapa 3-3. Alternativamente, el compuesto como tal puede ser

usado subsecuentemente como el compuesto inicial para la etapa 3-3 sin separación.

[0146] Etapla 3-3

La etapa 3-3 es una etapa de protección de un grupo amino del compuesto representado por la fórmula (XXIX) para dar el compuesto representado por la fórmula (XXX).

Los grupos protectores para el grupo amino usados en síntesis orgánica pueden ser usados como el grupo protector. Preferiblemente el grupo protector puede ser uno que pueda ser removido por reacción de hidrogenación catalítica. Específicamente los grupos protectores tipo bencilo tal como benciloxycarbonilo pueden ser mencionados como los grupos protectores. El grupo protector puede ser introducido, por ejemplo, por un método descrito en conexión con la etapa 1-7 en el esquema 2, un método que usa un éster clorofórmico descrito en conexión con la etapa 2-1 en el esquema 4, o un método que usa un reactivo para benziloxycarbonilación tal como un grupo N-(benciloxycarboniloxi)succinimido.

[0147] Etapla 3-4

La etapa 3-4 es una etapa para proteger simultáneamente el grupo hidroxilo en la posición 4- y el grupo hidroxilo en la posición 6- en el compuesto representado por la fórmula (XXXI).  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  en el esquema 6 representan preferiblemente un grupo protector tipo éster particularmente preferible el acetilo.

El grupo protector tipo éster puede ser introducido por un método comúnmente usado en síntesis orgánica usando el ácido anhídrido o el haluro ácido en presencia o

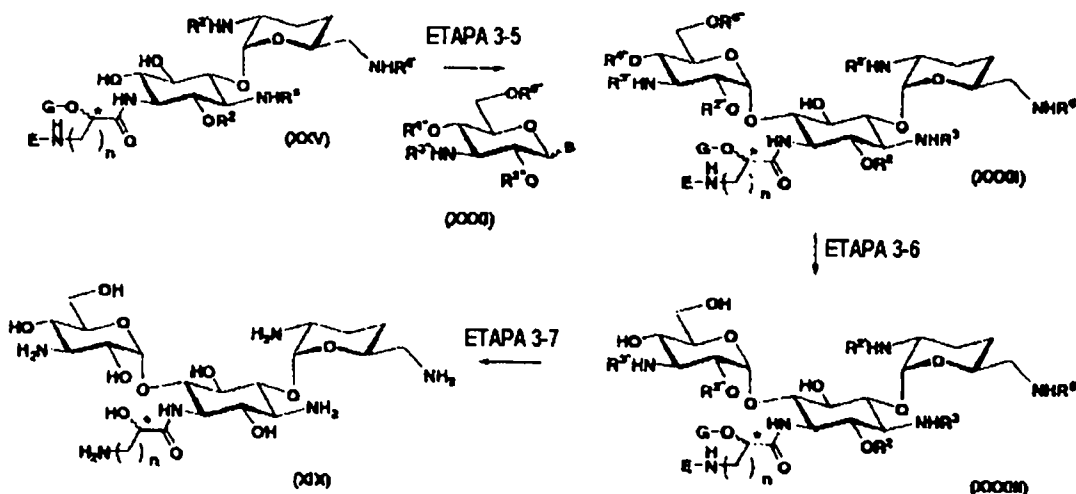


ausencia de una base. Cualquier solvente puede ser usado sin una limitación particular en tanto que el solvente sea inerte a la reacción. Se prefiere un solvente el cual pueda servir tanto de solvente como de base tal como la piridina.

5 La temperatura de la reacción está en el rango de 0°C a la temperatura de reflujo, y el tiempo de la reacción es de 0.1 a 72 h.

[0148] En seguida, el esquema 7 muestra la etapa de hacer reaccionar el compuesto representado por la fórmula (XXV) con el compuesto representado por la fórmula (XXXI) (etapa 3-5) y la etapa de remover el grupo protector del compuesto resultante para dar un compuesto representado por la fórmula (XIX) (etapas 3-6 y 3-7).

[Fórmula química 33]



ESQUEMA 7

15 en donde  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{3''}$ ,  $R^{4''}$ ,  $R^{6''}$ , B, E, G, n y la configuración estérica del átomo de carbón unido con \* son como se definió anteriormente.

[0149] Etapa 3-5

20 La etapa 3-5 es una etapa de condensación del compuesto representado por la fórmula (XXV) producida en el

esquema 4 con el compuesto representado por la fórmula (XXXI) en el esquema 6 para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXII).

Específicamente, la condensación puede ser llevada a cabo en la misma manera que en la etapa 2-8 en el esquema 5.

[0150] Etapas 3-6

La etapa 3-6 es una etapa para remover los dos grupos protectores  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  para el grupo hidroxilo en el compuesto representado por la fórmula (XXXII) producido en la etapa 3-5 para convertir el compuesto representado por la fórmula (XXXIII)

Específicamente, esta etapa puede ser llevada a cabo en la misma manera que en la etapa 2-9 en el esquema 5.

15 [0151] Etapas 3-7

La etapa 3-7 es una etapa para remover todos los grupos protectores ( $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{3''}$ , E, y G) en el compuesto representado por la fórmula (XXXIII) producido en la etapa 3-6 para dar el compuesto representado por la fórmula (XIX) el cual es un compuesto representado por la fórmula (Ia) en la cual tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''ax}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4''eq}$  representan un hidroxilo.

Todos los grupos protectores ( $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{3''}$ , E y G) en el compuesto representado por la fórmula (XXXIII) pueden ser removidos por etapas o en una etapa (si es posible) bajo condiciones de desprotección de la síntesis orgánica convencional. Por ejemplo cuando todos los grupos protectores en el compuesto representado por la fórmula (XXXIII) puedan ser

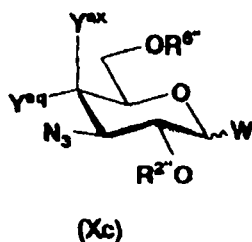
removidos por una reacción de hidrogenación catalítica, los grupos protectores pueden ser removidos en un paso aplicando las mismas condiciones de reacción de hidrogenación catalítica que en la etapa 1-14 en el esquema 3 o en condiciones similares a las condiciones de reacción de hidrogenación catalítica de la etapa 1-14 en el esquema 3.

[0152] (4) Producción de compuestos de los cuales la posición 5- es ecuatorial y la posición 4"- es axial: segundo proceso de producción

Además, de acuerdo al segundo proceso de producción de la presente invención, los compuestos representados por la fórmula (Ia) en donde tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''eq}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4''ax}$  representan un hidroxilo, pueden ser producidos de acuerdo al esquema 8 (etapa 4-1 a etapa 4-5a y etapa 4-5b) y el esquema 9.

[0153] El proceso de producir compuestos representados por la fórmula (Xc) será descrito en detalle con referencia al esquema 8.

[Fórmula química 34]



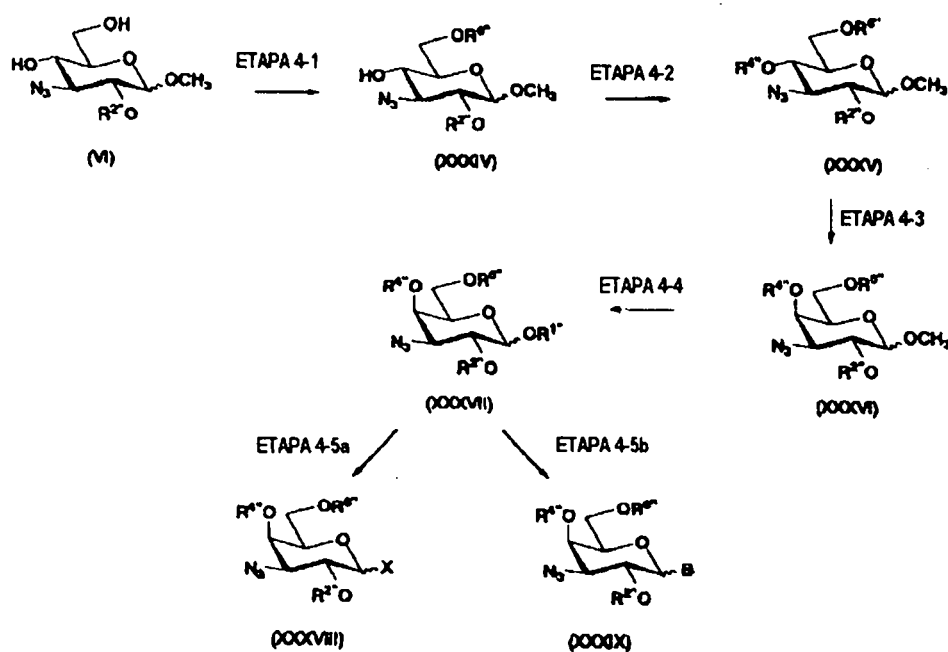
en donde W representa un grupo saliente;  $Y^{ax}$  representa el grupo  $-OR^{4''}$ ;  $y^{eq}$  representa un átomo de hidrógeno;  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  representan un grupo protector para el grupo

hidroxilo; y la configuración estérica del átomo de carbón unido con \* representa R o S.

En el esquema 8 los compuestos representados por la fórmula (Xc) están clasificados de acuerdo al tipo de grupo saliente representado por W en los grupos representados por la fórmula (XXXVIII) y los compuestos representados por la fórmula (XXXIX).

[0154]

[Fórmula química 35]



ESQUEMA 8

10

en donde

R<sup>2''</sup> representa un grupo protector para el grupo hidroxilo, preferiblemente un grupo seleccionado de grupos protectores tipo éter de bencilo tal como el bencilo y el p-metoxibencilo; R<sup>4''</sup> y R<sup>6''</sup> los cuales son diferentes entre si, representan un grupo protector para el grupo hidroxilo, por ejemplo, son seleccionados de los grupos protectores tipo éster tal como el acetil y el benzoilo y los grupos protectores tipo sulfonilo tal como p-toluensulfonilo, metansulfonilo y

trifluorometansulfonilo; y B y X son como se definieron anteriormente.

[0155] Etapla 4-1

La etapa 4-1 es una etapa para introducir selectivamente un grupo protector ( $R^{6''}$ ) solo en el grupo hidroxilo localizado en la posición 6- en los dos grupos hidroxilo en compuesto representado por la fórmula (VI) en el esquema 1 para dar el compuesto representado por la fórmula (XXXIV).

El grupo protector introducido es preferiblemente un grupo protector estructuralmente grande entre los grupos protectores usados como grupo protector para el grupo hidroxilo en síntesis orgánica, con especialidad se prefiere el benzoilo o el benzoilo sustituido.

La reacción puede ser llevada a cabo de la misma manera que en la etapa 3-4 en el esquema 6

[0156] Etapla 4-2

La etapa 4-2 es una etapa de introducción de un grupo saliente en el grupo hidroxilo en la posición 4- del compuesto representado por la fórmula (XXXIV) para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXV) el cual es un compuesto inicial en la etapa 4-3 para sintetizar un compuesto representado por la fórmula (XXXVI) en el cual el grupo hidroxilo en la posición 4- ha sido invertido.

Un grupo saliente que tenga una habilidad de salida superior a la del grupo protector introducido en  $R^{6''}$  en la etapa 4-2 se selecciona como el grupo saliente introducido, entre los grupos salientes para el grupo hidroxilo en síntesis

orgánica. Específicamente, se selecciona un grupo saliente tipo sulfonilo. Más específicamente, por ejemplo,  $R^{4''}$  en la fórmula (XXXV) es preferiblemente Trifluorometansulfonilo.

La reacción puede ser llevada a cabo de la misma manera que en la etapa 3-4 en el esquema 6.

[0157] Etapas 4-3

La etapa 4-3 es una etapa para utilizar el grupo saliente en la posición 4- del compuesto representado por la fórmula (XXXV) para dar el compuesto representado por la fórmula (XXXVI) del cual la configuración estérica en la posición 4- ha sido invertida.

$R^{4''}$  en el compuesto representado por la fórmula (XXXVI) es preferiblemente un grupo protector que sirve como grupo protector para el grupo hidroxilo en la posición 4- y puede ser removido en la misma forma que en  $R^{6''}$  como el grupo protector para el grupo hidroxilo en la posición 6-.  $R^{4''}$  es un grupo protector tipo éster, preferiblemente acetilo.

La reacción que puede suministrar el compuesto representado por la fórmula (XXXVI) puede llevarse a cabo haciendo reaccionar la sal metálica de un ácido carboxílico con el compuesto representado por la fórmula (XXXV). El grupo acetilo que es preferido como  $R^{4''}$  puede ser introducido con éxito usando una sal del ácido acético tal como el acetato de cesio.

Cualquier solvente puede ser usado sin limite particular en tanto que el solvente sea inerte a la reacción. El solvente preferido es la N,N-dimetilformamida.

La temperatura de la reacción está en el rango de 0°C a la temperatura de reflujo, y el tiempo de la reacción es de 0.1 a 72 h.

[0158]            Etapa 4-4

5            La etapa 4-4 es una etapa para convertir el grupo metóxido en la posición 1- del compuesto representado por la fórmula (XXXVI) a aciloxi (OR<sup>1</sup>) para dar el compuesto representado por la fórmula (XXXVII).

10           Esta etapa puede llevarse a cabo de la misma manera que en la etapa 1-4 en el esquema 1.

[0159]            Etapa 4-5a

15           La etapa 4-5a es una etapa de conversión del grupo aciloxi (OR<sup>1</sup>) en la posición 1- del compuesto representado por la fórmula (XXXVII) a un átomo halógeno para dar compuesto representado por la fórmula (XXXVIII).

La etapa es llevada a cabo de la misma manera que en la etapa 1-5a en el esquema 1.

[0160]            Etapa 4-5b

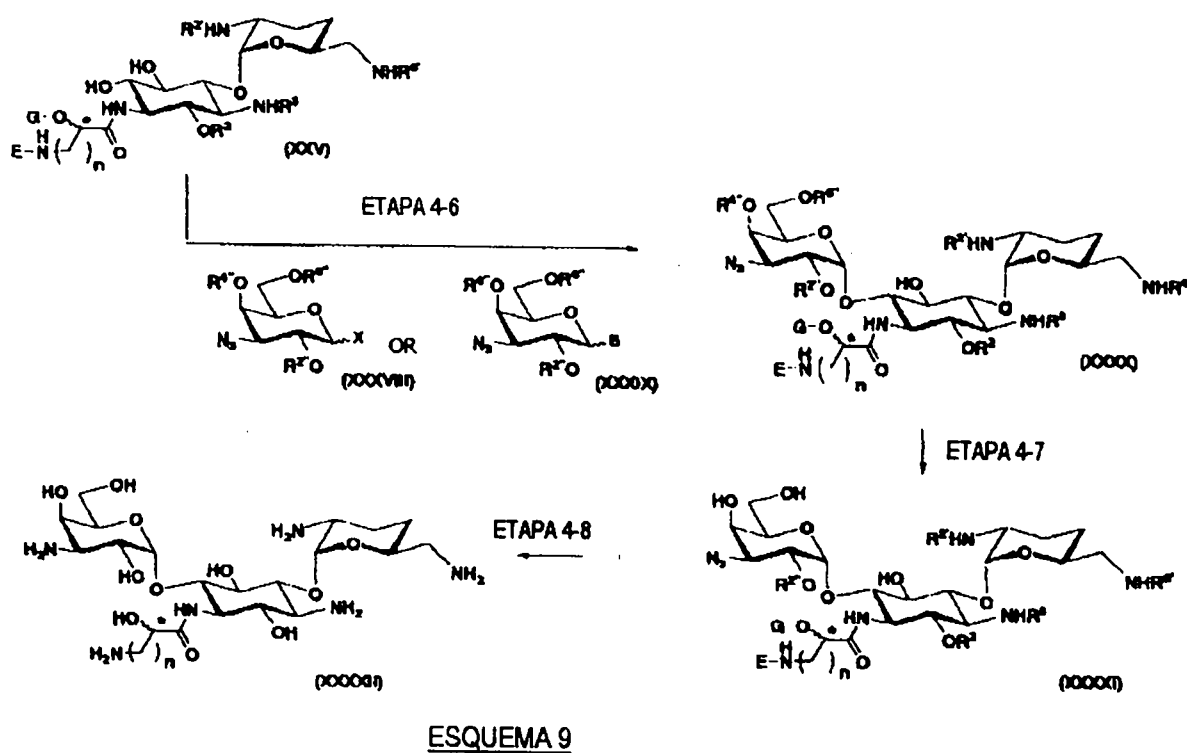
20           La etapa 4-5b es una etapa de conversión del grupo aciloxi (OR<sup>1</sup>) en la posición 1- del compuesto representado por la fórmula (XXXVII) a tioalquilo o tioarilo en presencia de un ácido de Lewis para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXIX).

25           Esta etapa puede llevarse a cabo de la misma manera que en la etapa 1-5b en el esquema 1.

[0161]           El sustituyente en la posición 1- del compuesto mostrado en el esquema 8 puede tomar dos configuraciones estéricas, esto es una forma ecuatorial y una forma axial. En

el esquema 8, pueden estar separados uno del otro antes del uso en la reacción, o alternativamente las dos configuraciones estéricas en una forma mezclada como tal puede ser usada en la reacción. Adicionalmente, el compuesto representado por la fórmula (XXXVIII) y el compuesto representado por la fórmula (XXXIX) producido en el esquema 8 pueden ser separados en una forma axial y una forma ecuatorial las cuales después son usadas separadas una de otra en el esquema 9. Alternativamente, esos compuestos pueden ser usados en una mezcla de la forma axial con la forma ecuatorial.

[Fórmula química 36]



15 en donde

$R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$ ,  $R^{6''}$ ,  $B$ ,  $E$ ,  $G$ ,  $X$ ,  $n$  y la configuración estérica del átomo de carbón unido con  $*$  son como se definió anteriormente.



[0162] Etapa 4-6

La etapa 4-6 es una etapa para condensar el compuesto representado por la fórmula (XXXV) producido en el esquema 4 con el compuesto representado por la fórmula (XXXVIII) o la fórmula (XXXIX) en esquema 8 para introducir un compuesto representado por la fórmula (XXXX).

La condensación puede ser llevada a cabo de la misma manera que en la etapa 2-8 en el esquema 5.

[0163] Etapa 4-7

La etapa 4-7 es una etapa para remover dos grupos protectores ( $R^{4''}$  y  $R^{6''}$ ) para el grupo hidroxilo en el compuesto representado por la fórmula (XXXX) producido en la etapa 4-6 y conversión al compuesto representado por la fórmula (XXXXI).

Específicamente, esta etapa puede ser llevada a cabo de la misma manera que en la etapa 2-9 en el esquema 5.

[0164] Etapa 4-8

La etapa 4-8 es una etapa para remover todos los grupos protectores ( $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ , E, y G,) en el compuesto representado por la fórmula (XXXXI) producida en la etapa 4-7 para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXII) el cual es un compuesto representado por la fórmula (Ia) en donde  $R^{5ax}$  y  $R^{4''eq}$  representan un átomo de hidrógeno y  $R^{5eq}$  y  $R^{4''ax}$  representan un hidroxilo.

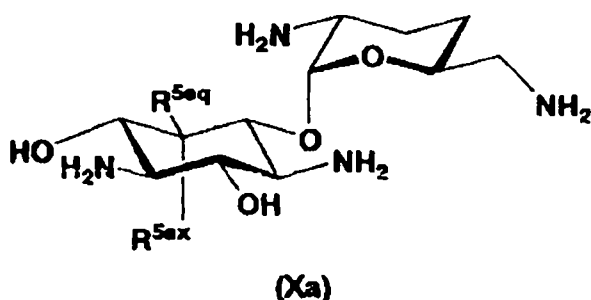
Específicamente, esta etapa puede ser llevada a cabo de la misma manera que en la etapa 2-10 en el esquema 5.

[0165] (5) Producción de compuestos de los cuales la posición 5- es axial y la posición 4''- es ecuatorial: Primer proceso de producción

En el primer proceso de producción de acuerdo a la presente invención, un compuesto representado por la fórmula (Ia), en donde tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4'ax}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''eq}$  representan un hidroxilo, puede ser producido de acuerdo al siguiente esquema 10 (etapa 5-1 a etapa 5-6) y el esquema 11 (etapa 5-7 a etapa 5-13).

[0166] El proceso de producción de los compuestos representados por la fórmula (Xa), en donde la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- es axial, será específicamente descrito con referencia a la etapa 5-1 hasta la etapa 5-6 en el esquema 10. En el esquema 10, el compuesto representado por la fórmula (Xa), en donde la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- es axial, corresponde al compuesto representado por la fórmula (XXXXVIII).

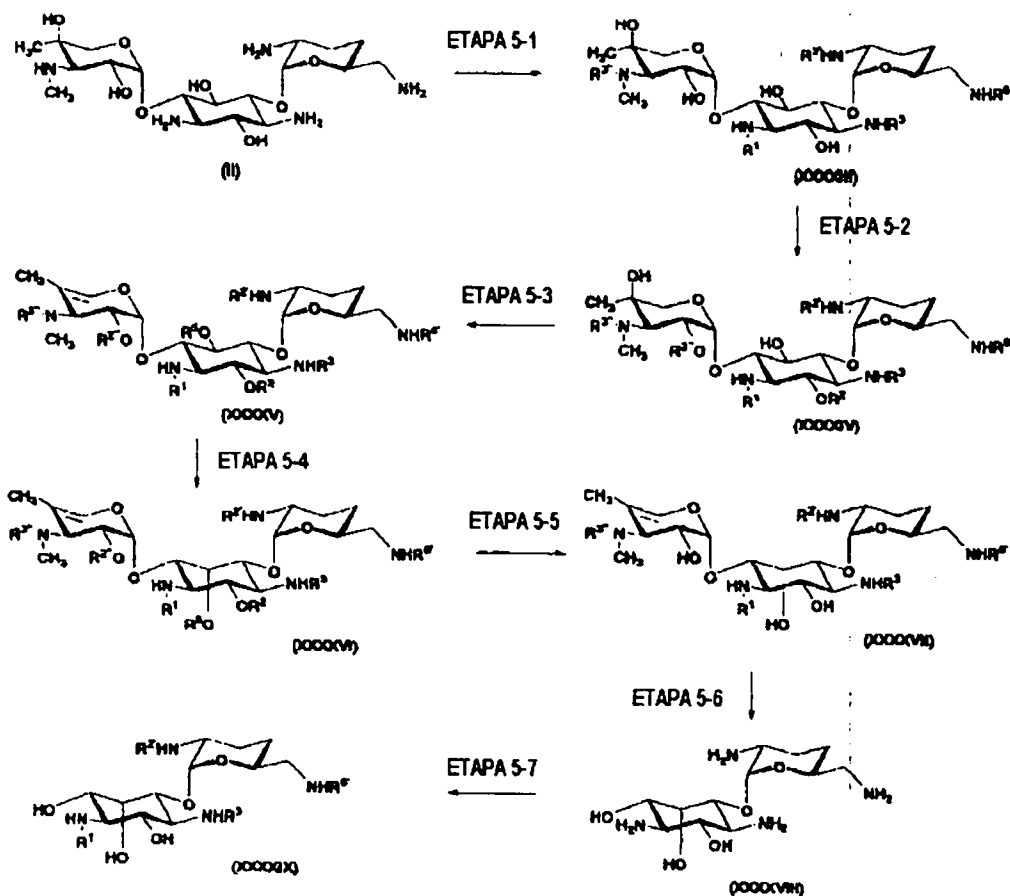
[Fórmula química 37]



en donde,  $R^{5ax}$  representa un hidroxilo;  $R^{5eq}$  representa un átomo de hidrógeno.

[0167]

[Fórmula química 38]



ESQUEMA 10

En donde  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ , y  $R^{3''}$  son como se definió anteriormente;  $R^5$  representa un grupo protector para el grupo hidroxilo y es seleccionado entre, por ejemplo, grupos protectores tipo éster tales como acetilo o benzoilo y grupos protectores tipo sulfonilo tales como p-toluensulfonilo, metansulfonilo o trifluorometansulfonilo; y  $R^2$  y  $R^{2''}$  son preferiblemente un grupo protector tipo éster.

#### [0168] Etapa 5-1

La etapa 5-1 es una etapa de introducción de grupos protectores en cinco grupos amino en 2-hidroxigentamicina Cla representada por la fórmula (II).

El grupo protector introducido es preferiblemente el grupo protector representado en el esquema 2. En esta etapa se prefiere particularmente el tert-butoxicarbonilo para

producir un compuesto representado por la fórmula (XXXXIII). El grupo protector puede introducirse bajo las condiciones descritas en detalle en conexión con la etapa 1-7 en el esquema 2.

5 [0169] Etapa 5-2

La etapa 5-2 es una etapa para introducir grupos protectores ( $R^2$  y  $R^{2'}$ ) en los grupos hidroxilo en el compuesto representado por la fórmula (XXXXIII). Un grupo protector tipo éster tal como acetilo es preferido como el grupo protector  
10 introducido, y un acetilo se seleccionó para el compuesto representado por la fórmula (XXXXIV).

El grupo acetilo puede ser introducido de la misma manera que en la etapa 3-4 en el esquema 6.

[0170] Etapa 5-3

15 La etapa 5-3 es una etapa de introducción de un grupo saliente en el grupo hidroxilo terciario del compuesto representado por la fórmula (XXXXIV) en presencia de una base para causar eliminación y así formar un enlace insaturado y al mismo tiempo, introducir un grupo saliente en el grupo hidroxilo  
20 en la posición 5- para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXV).

El grupo saliente a ser introducido puede ser seleccionado entre los grupos alquilsulfonilo tales como el metansulfonilo, y trifluorometansulfonilo o grupos  
25 arilsulfonilo tal como el p-toluensulfonilo. En la producción del compuesto representado por la fórmula (XXXXV), se prefiere el metansulfonilo. La reacción se lleva a cabo tratando el cloruro de sulfonilo y el compuesto representado por la fórmula

(XXXXIV) en presencia de una base. Las bases a usar en la reacción incluyen bases orgánicas tales como trietilamina o 4-dimetilaminopiridina. Se prefiere la 4-dimetilaminopiridina.

Puede ser usado cualquier solvente en la reacción sin un límite particular en tanto que el solvente sea inerte a la reacción. Se prefieren los solventes haluros tales como el cloruro de metileno.

[0171] Etapa 5-4

La etapa 5-4 es una etapa para invertir la configuración estérica en la posición 5- del compuesto representado por la fórmula (XXXXV) para introducir un grupo hidroxilo protegido y así sintetizar un compuesto representado por la fórmula (XXXXVI). Un grupo éster se prefiere como el grupo hidroxilo protegido en consideración a una etapa de desprotección la cual será descrita más tarde. Se prefiere un acetilo en el compuesto representado por la fórmula (XXXXVI).

Esta etapa de introducir un acetilo para invertir el grupo hidroxilo en la posición 5- puede ser llevada a cabo de la misma manera que en la etapa 4-3 en el esquema 8.

20 [0172] Etapa 5-5

La etapa 5-5 es una etapa para remover los tres grupos protectores ( $R^2$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^5$ ) para los grupos hidroxilo en el compuesto representado por la fórmula (XXXXVI) para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXVII).

25 En el compuesto representado por la fórmula (XXXXVI) los tres grupos protectores ( $R^2$ ,  $R^{2''}$ , y  $R^5$ ) para los grupos hidroxilo son acetilo. La desprotección de los mismos puede ser llevada a cabo bajo las mismas condiciones que en la

etapa 3-1 del esquema 6 o bajo condiciones similares a las condiciones en la etapa 3-1 del esquema 6.

[0173]            Etapa 5-6

5            La etapa 5-6 es una etapa para someter el compuesto representado por la fórmula (XXXXVII) a una reacción de hidrólisis ácida para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXVIII).

La reacción puede llevarse a cabo por referencia a las condiciones de reacción de la etapa 1-6 en el esquema 2.

10           Un solvente, que no inhiba la reacción, tal como metanol puede también adicionalmente ser usado desde el punto de vista de realzar la solubilidad del compuesto representado por la fórmula (XXXXVII) para acelerar la reacción.

[0174]            Etapa 5-7

15           La etapa 5-7 es una etapa para introducir grupos protectores en los cuatro grupos amino en el compuesto representado por la fórmula (XXXXVIII) producido en la etapa 5-6 para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXIX).

20           El grupo protector a ser introducido es preferiblemente un grupo protector representado en el esquema 2, más preferiblemente p-toluensulfonilo. Las condiciones descritas en detalle en la etapa 1-7 del esquema 2 pueden ser aplicadas a la introducción del grupo protector.

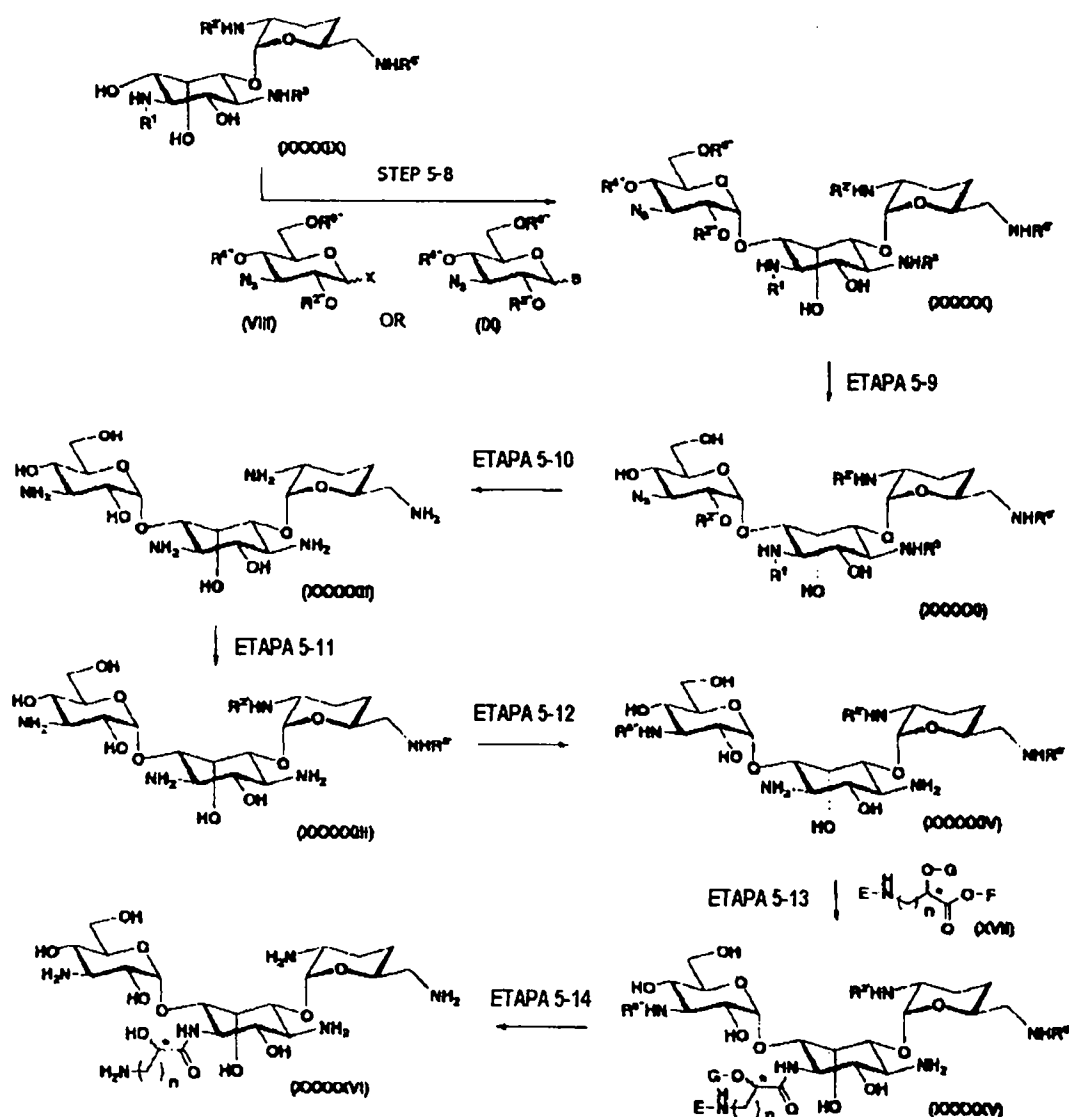
[0175]            El compuesto representado por la fórmula (Ia), en  
25            donde tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4''ax}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''eq}$  representan un hidroxilo, pueden ser producidos de acuerdo con el esquema 12 (etapa 5-8 a etapa 5-

14). En el esquema 12 el compuesto es representado por la fórmula (XXXXXXVI).

El esquema 11 incluye la etapa de reacción del compuesto representado por la fórmula (XXXXXIX) con el compuesto representado por la fórmula (Xc) (etapa 5-8), etapa de remoción de los grupos protectores del compuesto resultante y la conversión del grupo azido en el compuesto a grupo amino (etapa 5-9 y etapa 5-10), la etapa para introducir opcionalmente un grupo protector en los grupos funcionales diferentes al grupo amino en la posición 1- en el compuesto resultante (etapa 5-11 y etapa 5-12), la etapa de hacer reaccionar el compuesto resultante con el compuesto representado por la fórmula (XVII) (etapa 5-13), y la etapa para remover los grupos protectores en el compuesto resultante para dar el compuesto contemplado representado por la fórmula (XXXXXXVI) (etapa 5-14). En el esquema 11, el compuesto representado por la fórmula (Xc) corresponde al compuesto representado por la fórmula (VIII) o la fórmula (IX)

[0176]

[Fórmula química 39]



en donde  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{2''}$ , B, E, F, G, X, n y la configuración estérica del átomo del carbono unido con \* son como se definió anteriormente; y  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  independientemente representan grupos protectores para hidroxilo, los cuales son respectivamente los mismos grupos protectores para grupos hidroxilo como se definió en el esquema 1 y son seleccionados de los grupos protectores tipo éster tales como acetilo y benzoilo.

#### 10 [0177] Etapa 5-8

La etapa 5-8 es una etapa de condensación del compuesto representado por la fórmula (XXXXIX) producido en el



317

esquema 10 con el compuesto representado por la fórmula (VIII) producido en el esquema 1 o el compuesto representado por la fórmula (IX) para dar el compuesto representado por la fórmula (XXXXX). En la fórmula (VIII) o la fórmula (IX)  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  que son grupos protectores tipo éster para el grupo hidroxilo son preferiblemente acetilo.

La reacción en esta etapa puede llevarse a cabo bajo las mismas condiciones usadas en la etapa 1-8 en el esquema 3 o bajo condiciones similares a las condiciones usadas en la etapa 1-8 en el esquema 3.

[0178] Etapa 5-9

La etapa 5-9 es una etapa para remover los dos grupos protectores ( $R^{4''}$  y  $R^{6''}$ ) para los grupos hidroxilo en el compuesto representado por la fórmula (XXXXX) producido en la etapa 5-8 para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXI).

Los dos grupos protectores ( $R^{4''}$  y  $R^{6''}$ ) para los grupos hidroxilo en el compuesto representado por la fórmula (XXXXX) son acetilo y pueden ser removidos de la misma manera que en la etapa 3-1 en el esquema 6.

[0179] Etapa 5-10

La etapa 5-10 es una etapa de reducción del grupo azido en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXI), producido en la etapa 5-9, a grupo amino y además remover los cuatro grupos protectores ( $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ , y  $R^6$ ) para los grupos amino y el grupo protector ( $R^{2''}$ ) para el grupo hidroxilo en una etapa para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXII).

Esta etapa es la misma etapa que la etapa 1-10 en el esquema 3, y son aplicables las condiciones para la reducción Birch en las condiciones para la etapa 1-10.

5 [0180] Etapa 5-11

La etapa 5-11 es una etapa para introducir selectivamente grupos protectores ( $R^{2'}$  y  $R^{6'}$ ) en los grupos amino en las posiciones 2'- y 6'- en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXII) producido en la etapa 5-10 para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXIII). En la fórmula (XXXXXIII),  $R^{2'}$  y  $R^{6'}$  representan benciloxicarbonilo, y pueden aplicar las condiciones de la reacción descritas en la etapa 1-11 en el esquema 3.

[0181] Etapa 5-12

15 La etapa 5-12 es una etapa para introducir selectivamente un grupo protector ( $R^{3''}$ ) en el grupo amino en la posición 3''- del compuesto representado por la fórmula (XXXXXIII) para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXIV). En la fórmula (XXXXXIV), preferiblemente,  $R^{3''}$  representa trifluoroacetilo, y pueden aplicarse a la reacción las condiciones de reacción para la etapa 1-12 en el esquema 3.

[0182] Etapa 5-13

25 La etapa 5-13 es una etapa para hacer reaccionar el grupo amino en la posición 1 del compuesto representado por la fórmula (XXXXXIV) con un derivado del ácido  $\omega$ -amino- $\alpha$ -hidroxicarboxílico representado por la fórmula (XVII), para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXV) esto es, una etapa para manejar una reacción para la formación de un enlace

péptido. Esta etapa puede ser llevada a cabo de la misma manera que en la etapa 1-13 en el esquema 3.

[0183] Etapa 5-14

La etapa 5-14 es una etapa de remoción de todos los grupos protectores en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXV) para dar un compuesto representado por la fórmula (Ia) en donde tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4''ax}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''eq}$  representan un hidroxilo.

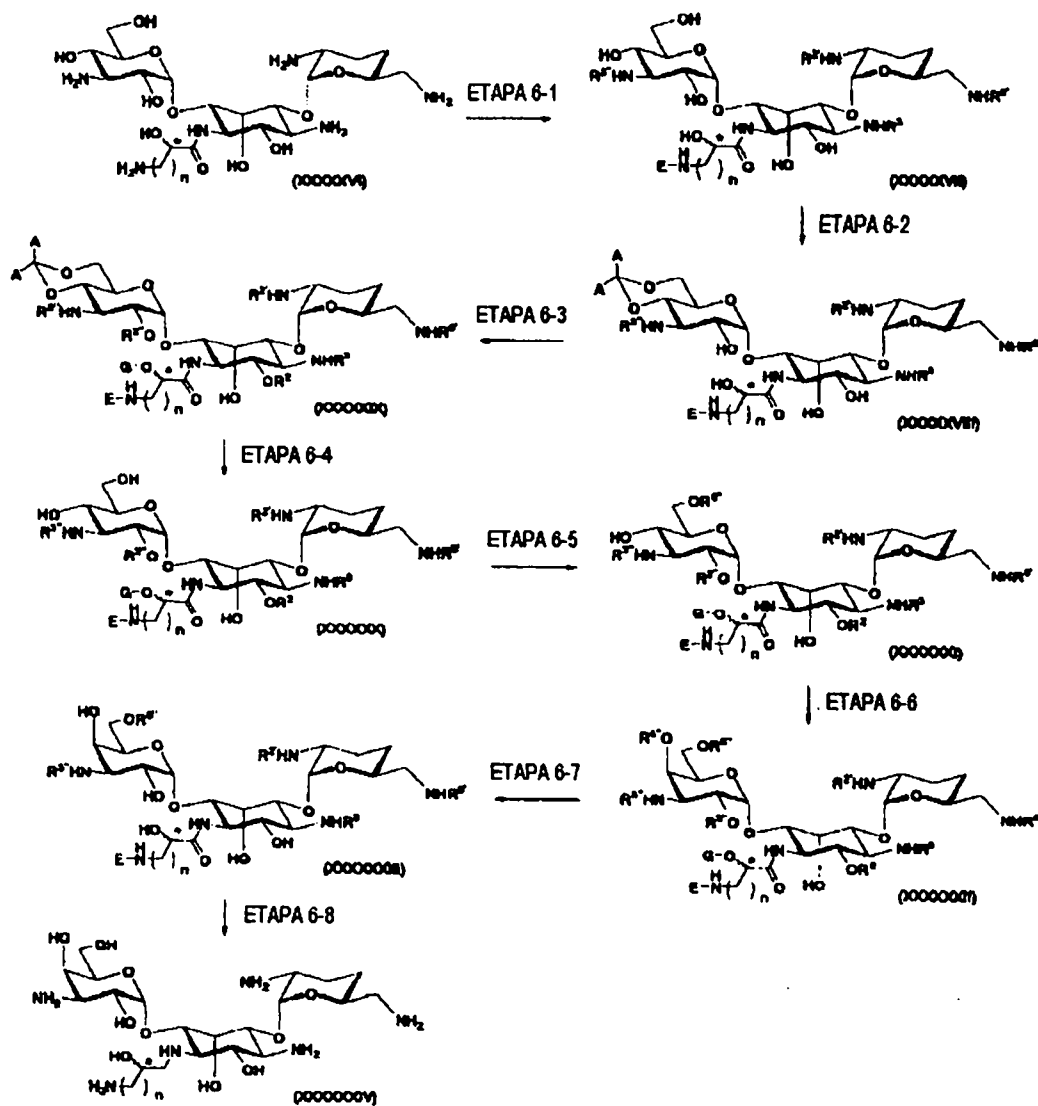
Esta etapa puede llevarse a cabo de la misma manera que en la etapa 1-14 en el esquema 3.

[0184] (6) Producción del compuesto del cual la posición 5- es axial y la posición 4''- es axial: reacción de inversión de la configuración estérica en la posición 4''-

El compuesto representado por la fórmula (Ia), en donde tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4''eq}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''ax}$  representan un hidroxilo, pueden ser producidos de acuerdo al esquema 12 (etapa 6-1 a 6-8). En el esquema 12, este compuesto es representado por la fórmula (XXXXXXXIV).

El esquema 12 incluye la etapa de introducir grupos protectores en los grupos funcionales diferentes al grupo funcional en la posición 4''- del compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVI) producido en el esquema 11 (etapa 6-1 a etapa 6-5), la etapa de invertir la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 4''- (etapa 6-6) y la etapa de remover los grupos protectores (etapa 6-7 y etapa 6-8)

[0185] [Fórmula química 40]



ESQUEMA 12

[0186] en donde  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{3''}$ , y E representan un grupo protector para un grupo amino, con preferencia t-butoxicarbonilo;  $R^2$ ,  $R^{2''}$  y G representa un grupo protector tipo éster tal como acetilo y benzoílo, preferiblemente acetilo;  $R^{4''}$  representa un grupo seleccionado del grupo que consta de grupos protectores tipo éster tales como grupos protectores acetilo, benzoílo y sulfonilo, tales como p-toluensulfonilo, metansulfonilo y trifluorometansulfonilo;  $R^{6''}$  representa un grupo protector para el grupo hidroxilo el cual puede ser removido bajo condiciones ácidas tales como trifenilmetilo; A

representa el alquilo inferior CI-6 , o dos A juntas pueden formar alquilo cíclico de cinco miembros o de ocho miembros; y n y la configuración estérica del átomo de carbón unido con \* son como se definió anteriormente.

5 [0187] Etapa 6-1

La etapa 6-1 es una etapa de introducción de grupos protectores en los grupos amino en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVI) producido en el esquema 11 para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVII).

10 Esta etapa puede ser llevada a cabo por el método descrito en detalle en la etapa 1-7 en el esquema 2.

[0188] Etapa 6-2

La etapa 6-2 es una etapa de introducción de un acetal cíclico de preferencia ciclohexileno acetal, como un grupo protector en los dos grupos hidroxilo en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVII). Esta etapa es similar a la etapa 2-2 en el esquema 4 y puede llevarse a cabo por la aplicación de las condiciones de reacción adoptadas en la etapa 2-2 en el esquema 4.

20 [0189] Etapa 6-3

La etapa 6-3 es una etapa para proteger los tres grupos hidroxilo en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVIII) producido en la etapa 6-2 por grupos protectores tipo éster.

25 Las condiciones para introducir un grupo protector tipo éster para el grupo hidroxilo en síntesis orgánica, por ejemplo, las condiciones aplicadas en la etapa 3-4 en el esquema 6, pueden ser aplicadas en esta etapa.

[0190]            Etapa 6-4

La etapa 6-4 es una etapa de remoción del acetal cíclico como grupo protector en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXIX) producido en la etapa 6-3 para dar un  
5 compuesto representado por la fórmula (XXXXXX).

Las condiciones adoptadas en la etapa 2-4 en el esquema 4 pueden ser aplicadas a esta etapa.

[0191]            Etapa 6-5

La etapa 6-5 es una etapa para introducir  
10 selectivamente un grupo protector en el grupo hidroxilo primario en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXX) producido en la etapa 6-4 para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXXI).

Un grupo protector particularmente grande  
15 seleccionado entre grupos protectores usados como grupos protectores para el grupo hidroxilo en síntesis orgánica convencional, específicamente, por ejemplo, trifenilmetilo, es seleccionado como el grupo protector a ser introducido. La reacción es llevada a cabo permitiendo que el cloruro de  
20 trifenilmetilo o el bromuro de trifenilmetilo (*cloruro sic*) actúen sobre el compuesto representado por la fórmula (XXXXXX) en presencia de una base. Se puede usar cualquier base sin una limitación particular en tanto que la base sea inerte a la reacción. Las bases preferidas son, por ejemplo, piridina y 4-  
25 dimetilaminopiridina. Además en esta reacción se puede usar cualquier solvente sin una limitación particular en tanto que el solvente sea inerte a la reacción.

[0192]            Etapa 6-6

La etapa 6-6 es una etapa de inversión del grupo hidroxilo en la posición 4"- en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXXI) producido en la etapa 6-5 para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXXII).

5 Esta etapa es una etapa similar a las dos etapas, la etapa 4-2 y la etapa 4-3 en el esquema 8 y puede ser llevada a cabo aplicando las condiciones de reacción. La etapa 6-6 puede también ser dividida en dos etapas como en el esquema 8.

[0193] Etapa 6-7

10 La etapa 6-7 es una etapa para remover los cuatro grupos protectores tipo éster ( $R^2$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$ , y G) entre los grupos protectores para el grupo hidroxilo en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXXII) producido en la etapa 6-6 para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXXIII). Esta etapa  
15 puede ser llevada a cabo aplicando la etapa 2-9 en el esquema 5.

[0194] Etapa 6-8

La etapa 6-8 es una etapa de remoción todos los grupos protectores en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXXIII) producida en la etapa 6-7 para dar un compuesto  
20 representado por la fórmula (XXXXXXIV) el cual es un compuesto representado por la fórmula (Ia) en donde tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4''eq}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''ax}$  representan un hidroxilo.

En la fórmula (XXXXXXIII), las condiciones de la  
25 reacción para desprotección dependen del grupo protector seleccionado. Por ejemplo, cuando  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{3''}$ , y E representan t-butoxicarbonilo mientras  $R^{6''}$  representa trifenilmetilo, la desprotección puede ser llevada a cabo bajo

condiciones de acidez, por ejemplo, usando ácido trifluoroacético.

[0195] Como se describió anteriormente, de acuerdo con la reacción mostrada en el esquema 12, en el compuesto 5 representado por la fórmula (Ia) producido en el primero o segundo proceso de producción de acuerdo con la presente invención, la configuración estérica del hidroxilo en la posición 4"- puede ser invertida a axial. Consecuentemente, el primer o segundo proceso de producción de acuerdo con la 10 presente invención puede comprender la introducción de un grupo protector en el grupo funcional diferente al grupo hidroxilo en la posición 4"- del compuesto representado por la fórmula (Ia), la inversión de la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 4"-, y la remoción del grupo protector para dar un 15 compuesto representado por la fórmula (Ia) en donde la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 4"- ha sido invertida. La presente invención incluye esta modalidad también.

[0196] (7) Producción de un compuesto del cual la 20 posición 5- es axial y la posición 4"- es axial: Producción de un intermedio para síntesis del cual la posición 5- es axial y la posición 4"- es axial (primer proceso de producción)

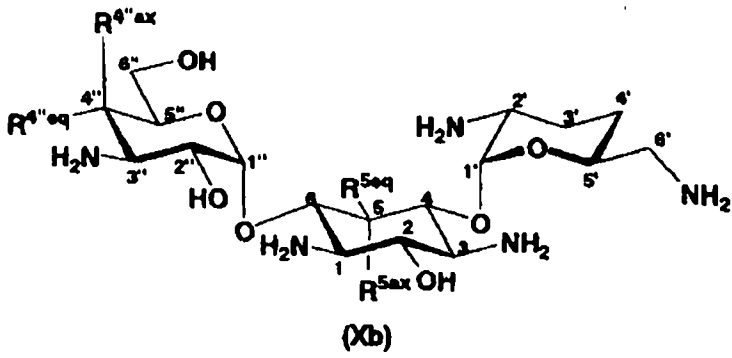
En el primer proceso de producción de acuerdo con la presente invención, el compuesto representado por la fórmula 25 (Ia) en donde tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4"eq}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4"ax}$  representan un hidroxilo, puede ser producido usando un intermedio para síntesis producido de acuerdo al esquema 13.



215

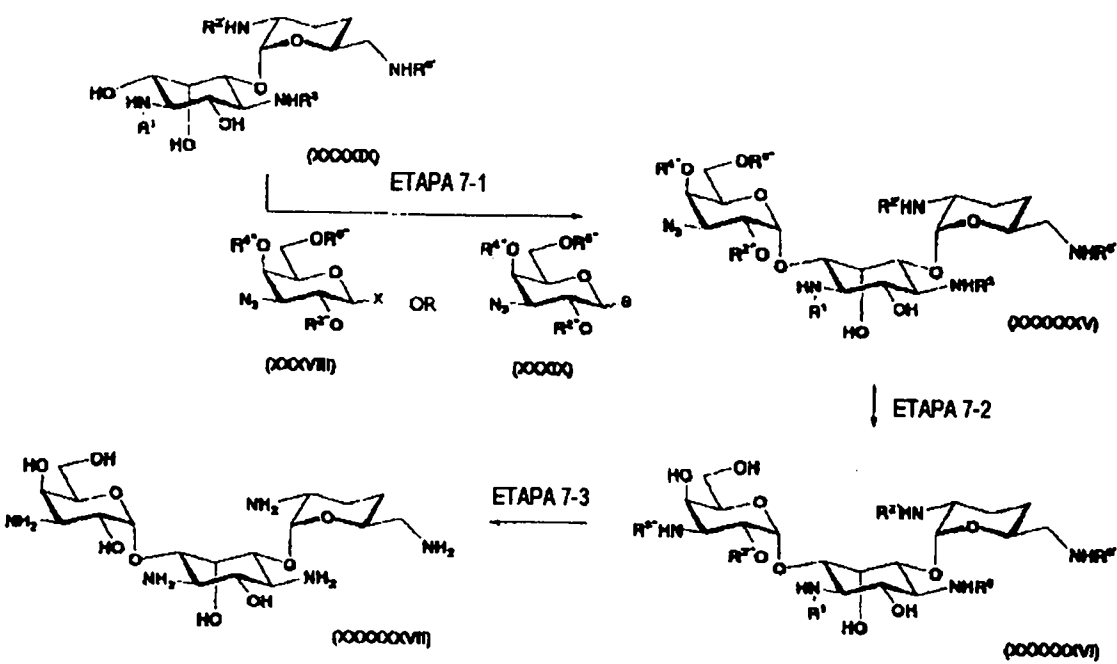
[0197] En el esquema 13 el compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVII) corresponde a un compuesto representado por la fórmula (Xb) el cual es un intermedio para síntesis en el primer proceso de producción de acuerdo con la presente invención y del cual la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- y en la posición 4"- es axial.

[Fórmula química 41]



en donde tanto  $R^{5eq}$  como  $R^{4''eq}$  representan un átomo de hidrógeno y tanto  $R^{5ax}$  como  $R^{4''ax}$  representan un hidroxilo.

[0198] [Fórmula química 42]



ESQUEMA 13

en donde  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ , y  $R^{6'}$  representan grupos protectores para los grupos amino, de preferencia p-toluensulfonilo;  $R^{2''}$  representa un grupo protector tipo éter tal como bencilo, 5 preferiblemente bencilo;  $R^{4''}$  representa un grupo protector tipo éster tal como acetilo o benzoílo, de preferencia acetilo;  $R^{6''}$  representa un grupo protector tipo éster tal como acetilo o benzoílo, preferiblemente benzoílo; B representa un grupo saliente conteniendo un átomo de azufre tal como metiltio, 10 etiltio o feniltio, de preferencia feniltio; y X representa un átomo de halógeno tal como cloro, bromo, o yodo, preferiblemente un átomo de bromo.

[0199]            Etapas 7-1

La etapa 7-1 es una etapa de condensación del 15 compuesto representado por la fórmula (XXXXIX) producido en el esquema 10 con el compuesto representado por la fórmula (XXXVIII) en el esquema 8 o con el compuesto representado por la fórmula (XXXIX) para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXXV). Esta etapa puede ser llevada a cabo por el 20 método que ha sido descrito en detalle en la etapa 2-8 en el esquema 5.

[0200]            Etapas 7-2

La etapa 7-2 es una etapa de remoción los dos grupos protectores tipo éster ( $R^{4''}$  y  $R^{6''}$ ) en el compuesto 25 representado por la fórmula (XXXXXXV) para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVI). Esta etapa es similar a la etapa 5-9 en el esquema 11 y puede ser llevada a cabo

aplicando las condiciones de reacción adoptadas en la etapa 5-9 en el esquema 11.

[201]            Etapas 7-3

La etapa 7-3 es una etapa de remoción de todos los grupos protectores en el compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVI) producido en la etapa 7-2 reduciendo el grupo azido a amino para dar un compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVII).

Las condiciones de reacción para la desprotección del compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVII) varían dependiendo del grupo protector seleccionado. Por ejemplo, cuando  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  representan el p-toluensulfonilo, la desprotección puede ser llevada a cabo, por ejemplo, por la reducción Birch en la cual una se lleva a cabo una reacción de radicales usando amoníaco líquido y sodio metálico.

[0202]            Sería aparente para una persona que tenga una experiencia ordinaria de la técnica, que después de la etapa 7-3 el compuesto representado por la fórmula (Ia) pueda ser producido aplicando de la etapa 1-11 a la etapa 1-14 en el esquema 3 al compuesto representado por la fórmula (XXXXXXVII).

[0203]            Los compuestos de acuerdo con la presente invención y los compuestos producidos en las etapas de producción pueden ser purificados y separados por una operación de purificación convencional. La purificación y la separación pueden llevarse a cabo, por ejemplo por separación de líquidos, destilación, sublimación, precipitación, cristalización, cromatografía de columna sobre sílica gel en la cual la sílica gel es empacada normal o en fase invertida, cromatografía de

columna usando una resina de intercambio iónico tal como Amberlita CG-50, Dowex 50 W x 2 o CM-Sephadex C-25, cromatografía de columna usando celulosa o similares, cromatografía preparativa de capa delgada o cromatografía líquida de alta resolución. Alternativamente los compuestos producidos en las anteriores etapas de producción, pueden también ser usados apropiadamente en etapas subsecuentes sin separación y purificación.

[0204]            Agente antimicrobiano

10            Los compuestos representados por la fórmula (Ia) de acuerdo con la presente invención, o sus sales o sus solvatos farmacéuticamente aceptables, tienen excelente actividad antimicrobiana contra las bacterias que causan enfermedades infecciosas, por ejemplo, MRSA, *Stafilococcus Aureus*,  
15   colibacilo, y *Pseudomonas aeruginosa*, y preferiblemente son usados como agentes antimicrobianos, con mayor preferencia como agentes anti-MRSA. De este modo, de acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se estipula el uso de un compuesto suministrado de acuerdo con la presente invención, o sus sales o  
20   sus solvatos farmacéuticamente aceptables, para la elaboración de un agente antimicrobiano. Además de acuerdo con aún otro aspecto preferido de la presente invención, se estipula el uso de un compuesto proporcionado de acuerdo con la presente invención, o sus sales o sus solvatos farmacéuticamente  
25   aceptables, para la elaboración de un agente anti-MRSA.

[0205]            Medicamentos

Los compuestos representados por la fórmula (Ia) de acuerdo con la presente invención, o sus sales o sus solvatos

farmacéuticamente aceptables, opcionalmente junto con aditivos farmacéuticamente aceptables pueden ser usados como medicamentos. De este modo, de acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención se suministra una  
5 composición, especialmente una composición farmacéutica que contiene un compuesto representado por la fórmula (Ia), o sus sales o sus solvatos farmacéuticamente aceptables. Además, de acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se estipula el uso de un compuesto representado por la fórmula (Ia), o sus  
10 sales o sus solvatos farmacéuticamente aceptables para la fabricación de una composición farmacéutica. La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede ser usada específicamente para prevenir o tratar una enfermedad infecciosa. Enfermedades infecciosas preferentes, para las  
15 cuales la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención es muy efectiva en cuanto a tratamiento y prevención incluyen enfermedades infecciosas nosocomiales, y enfermedades infecciosas oportunistas. Las más preferidas son las enfermedades supurativas de la piel, timpanitis, sinusitis, conjuntivitis, neumonía, bronquitis, sepsia, cistitis,  
20 pielonefritis, enteritis (incluyendo envenenamiento por alimentos) y similares.

[0206] La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede ser administrada a los pacientes por  
25 vías de administración parenteral u oral, por ejemplo, administración parenteral (por ejemplo, administración intravenosa, administración intramuscular, administración subcutánea, administración rectal o administración percutánea) o

la administración oral dependiendo por ejemplo, del tipo de la bacteria patógena y las enfermedades y de la naturaleza del paciente. Además, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede ser formulada en una forma de dosificación apropiada dependiendo de la vía de administración. Ejemplos de dichas formas de dosificación incluyen, por ejemplo, inyecciones usadas principalmente, por ejemplo, para administración intravenosa y administración intramuscular; preparaciones externas para administración parenteral, por ejemplo, gotas para los ojos, gotas para los oídos, gotas para la nariz, ungüentos oftálmicos, absorbentes de la mucosa de la piel, preparaciones dermatológicas, inhaladores, o supositorios, y preparaciones para administración oral, como por ejemplo, cápsulas, tabletas, píldoras, polvo micronizado, gránulos, polvos, jarabes, o pastillas.

[0207] Las preparaciones anteriores pueden ser producidas por un método convencional empleando aditivos por ejemplo, excipientes, extensores, fijadores, agentes humectantes, desintegradores, surfactantes, lubricantes, dispersantes, búferes (reguladores), preservativos, solubilizantes, antisépticos, correctivos, agentes calmantes, y estabilizadores.

Ejemplos específicos de aditivos no tóxicos a emplear en esto, para inyecciones, gotas para los ojos, gotas para el oído, y gotas para la nariz incluyen agentes disolventes o solubilizantes que pueden constituir formas de dosificación acuosa o para disolución antes de uso (por ejemplo agua destilada para inyecciones, suero fisiológico, etanol,

glicerina, propilenglicol, aceites de maíz, y aceites de  
ajonjolí), los que ajustan el pH (por ejemplo sales de adición  
de ácido inorgánico tales como el ortofosfato trisódico y el  
bicarbonato de sodio, sales ácidas orgánicas tales como el  
5 citrato de sodio, y sales básicas orgánicas tales como L-lisina  
y L-arginina), agentes para ajustar la tonicidad (por ejemplo,  
cloruro de sodio, glucosa y glicerina) agentes reguladores (por  
ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de benzalconio, y citrato de  
sodio) surfactantes (por ejemplo, sorbitan monooleato y  
10 polisorbato 80), agentes dispersantes (por ejemplo D-manitol),  
estabilizadores (por ejemplo, antioxidantes tales como ácido  
ascórbico, sulfito de sodio, y pirosulfito de sodio y agentes  
para quelación tales como ácido cítrico, y ácido tartárico);  
para ungüentos oftálmicos, absorbentes de la mucosa de la piel y  
15 preparaciones dermatológicas incluye por ejemplo componentes de  
preparación apropiados como ungüentos, cremas y preparaciones  
para parches (por ejemplo, vaselina blanca, macrogol, glicerina,  
parafina líquida, y paños de algodón); para inhaladores  
líquidos, incluye por ejemplo los que ajustan el pH (por  
20 ejemplo, citrato de sodio e hidróxido de sodio), agentes para  
ajustar la tonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de  
benzalconio, y citrato de sodio) y agentes reguladores (búfer)  
(Por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de benzalconio, y  
citrato de sodio); para inhaladores en polvo, incluye por ejemplo  
25 lactosa como medio y, para la preparación para administración  
oral y supositorios incluye, por ejemplo excipientes (Por  
ejemplo, lactosa, D-manitol, almidón de maíz y celulosa  
cristalina), desintegradores (Por ejemplo, carboximetilcelulosa

y carboximetilcelulosa calcio), aglutinantes (Por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, y polivinil pirrolidona) lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, y talco) agentes para recubrimiento (por ejemplo, shelac, 5 hidroxipropilmetilcelulosa, sacarosa, y óxido de titanio), plastificantes (por ejemplo, glicerina y polietilenglicol), y sustratos (por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol y cebo).

[0208]           Adicionalmente, cuando se toma en consideración 10 una intensificación en el tratamiento o en la prevención de las enfermedades infecciosas, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede contener, en adición al compuesto de acuerdo con la presente invención, uno o más de los agentes antimicrobianos convencionales clínicamente útiles (por 15 ejemplo, agentes antimicrobianos  $\beta$ -lactama (por ejemplo, Carbapenems, cefalosporinas, cefamicinas, y penicilinas), agentes antimicrobianos glicopéptidos, agentes antimicrobianos de ansamicina, agentes antimicrobianos aminoglicósidos, agentes antimicrobianos de quinolona, agentes antimicrobianos de 20 monobactam, agentes antimicrobianos macrolida, agentes antimicrobianos de tetraciclina, agentes antimicrobianos de cloranfenicol, agentes antimicrobianos de lincomicina, agentes antimicrobianos de estreptogramina, agentes antimicrobianos de oxazolidinona, fosfomicinas, novobiocinas, cicloserinas y 25 moenomycininas). Además, cuando se toma en consideración el hecho de que la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede expandir o mejorar la efectividad contra las bacterias Gram-negativas y las bacterias resistentes



a los agentes microbianos existentes, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede contener, por ejemplo un inhibidor de bomba de descarga de droga (bomba de efluyentes) y un inhibidor (por ejemplo,  $\beta$ -lactamasa) de enzima degradante de agente antimicrobiano existente. Alternativamente, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención, junto con esos inhibidores o similares pueden ser administrados al ser viviente. Adicionalmente cuando se toma en consideración el hecho que la composición farmacéutica puede incrementar el efecto terapéutico o preventivo de enfermedades infecciosas, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede ser usada en combinación con compuestos que no tienen actividad antimicrobiana (por ejemplo, medicamentos para tratar complicaciones). La presente invención incluye esta modalidad.

[0209] Como se describió anteriormente, el compuesto representado por la fórmula (Ia) de acuerdo con la presente invención o sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, pueden ser utilizados ventajosamente como agente antimicrobiano o medicamento en la prevención o tratamiento de enfermedades infecciosas. De este modo, de acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se suministra un método para prevenir o tratar una enfermedad infecciosa que comprende la administración del compuesto representado por la fórmula (Ia) o sus sales o sus solvatos farmacéuticamente aceptables a un animal incluido un humano. Los animales que son candidatos para prevención y tratamiento son de preferencia mamíferos, más preferiblemente humanos. La dosis del compuesto representado por la fórmula (Ia)

o sus sales o sus solvatos farmacéuticamente aceptables puede ser determinada apropiadamente por una persona que tenga una practica ordinaria de la técnica, por ejemplo en consideración del régimen de dosificación, el tipo de bacteria patógena y la edad, sexo, y peso de los pacientes y la severidad de la enfermedad de los pacientes. En particular, la dosis por día y el número de dosis por día puede, si es necesario, ser variada apropiadamente.

## 10 EJEMPLOS

[0210] La presente invención se ilustra adicionalmente por los siguientes ejemplos que no intentan ser una limitación de la invención.

En la siguiente descripción, todas las temperaturas son expresadas en grados Celsius.

$^1\text{H}$ -NMR denota el método espectral de resonancia magnética nuclear con protones y  $^{13}\text{C}$ -NMR denota el método espectral de resonancia magnética nuclear con carbón. Además, los corrimientos químicos obtenidos de esa fuente están expresados en corrimientos (ppm) de tetrametilsilano (TMS) a un lado de almacenamiento magnético mas bajo.

MS denota un método de espectral de masas y los resultados obtenidos con el método de ionización por rociado de electrones (ESI), un método de ionización a presión atmosférica (API), un método de bombardeo rápido de átomos (FAB) y un método de análisis de masas por cromatografía líquida de alta resolución (LCMS) son expresados en m/z (masa/carga).

Los valores  $R_f$  en la cromatografía de capa delgada son valores medidos con una placa de silica gel ART5715 manufacturada por Merk y un solvente de desarrollo, el cual dio los valores  $R_f$ , son descritos dentro de paréntesis.

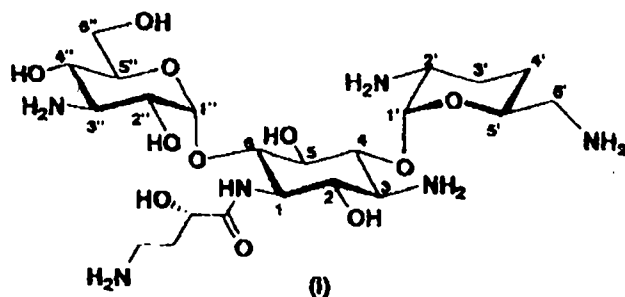
5 En la siguiente fórmula estructural, Bn representa bencilo, Ac acetilo, Ph fenilo, Ts p-toluensulfonilo, y Cbz benciloxycarbonilo.

[0211] Ejemplo 1

Producción de 2-hidroxiarbecacin

10

[Fórmula química 43]



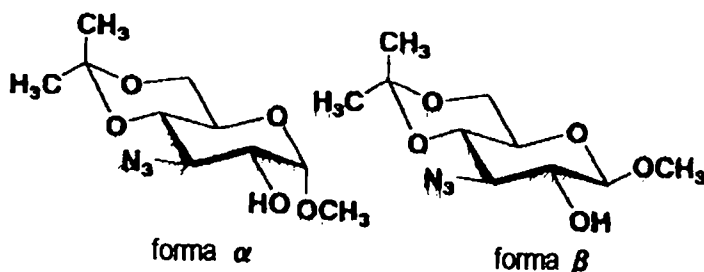
[0212] Etapas de producción 1-1

Metil

3-azido-3-deoxi-4-6-O-isopropiliden-D-glucopiranosido

15

[Fórmula química 44]



[0213] Metil 3-azido-3-deoxi-D-glucopiranoside (32.7 g)

20 sintetizado de acuerdo con la descripción del método de C. B.

Barlow et al. (J. Chem. Soc., Abstracts pp. 3870 - 3871, (June), (1965)) fue disuelto en 330 ml de N,N-dimetilformamida. A la solución se añadieron 2,2-Dimetoxipropano (26.8 ml) y 1.92 g de ácido p-toluensulfónico y la mezcla se agitó a 50°C. Tres h  
5 después de iniciar la agitación, 26.8 ml de 2,2-dimetoxipropano se agregaron adicionalmente a la solución de la reacción; después 5.5 h 2.10 g de ácido p-toluensulfónico se agregaron adicionalmente a la solución de la reacción; después de 6.5 h, 17.9 ml de 2,2-dimetoxipropano se agregaron adicionalmente a la  
10 solución de la reacción; y después de 24 h, 16.2 ml de trietilamina fueron añadidos bajo enfriamiento con hielo a la solución de la reacción, y la mezcla fue concentrada hasta sequedad con bomba de vacío. Se añadió cloroformo (1.5 l) al residuo. La solución se lavó dos veces con 500 ml de solución  
15 acuosa saturada de bicarbonato de sodio y además se lavó dos veces con 500 ml de salmuera saturada, se secó sobre sal de Glauber, y fue concentrada hasta sequedad para dar el compuesto del título (una mezcla de una forma  $\alpha$  y una forma  $\beta$ , 36.3 g, rendimiento del 96%) como un jarabe marrón.

20 ESIMS: m/z 282  $[M + Na]^+$

[0214] Forma  $\alpha$

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.74 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 3.88 (dd, 1H,  $J = 5, 10$  Hz), 3.72 (t, 1H,  $J = 10$  Hz), 3.65 (dddd 1H,  $J = 5, 9, 10$  Hz), 3.61 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.55 (dt, 1H,  $J = 4, 10, 10$  Hz), 3.45 (s, 3H), 3.47 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.35 (d, 1H,  $J = 10$  Hz), 1.51 (s, 3H), 1.44 (s, 3H).

[0215] Forma  $\beta$

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.27 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 3.95 (dd, 1H,  $J = 5, 10$  Hz), 3.78 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.64 (m 1H), 3.56 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.55 (s, 3H), 3.50 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.37 (dd, 1H,  $J = 8, 10$  Hz), 2.67 (br. s, 1H), 1.51 (s, 3H), 1.44 (s, 3H).

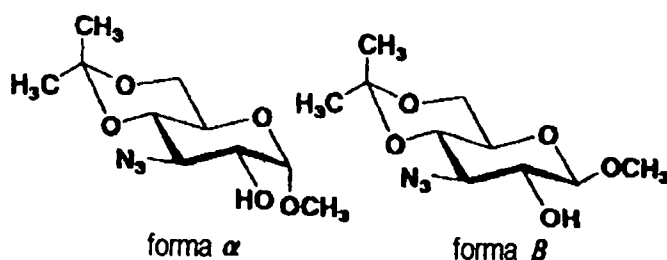
[0216] Etapa de producción 1-2

Metil

3-azido-2-O-bencil-3-deoxi-4-6-O-isopropilideno-D-glucopiranosido

10

[Fórmula química 45]



[0217] El compuesto anterior (46.0 g) producido en la etapa de producción 1-1 fue disuelto en 690 ml de N,N-dimetilsulformamida. Se añadió hidruro de sodio 11.4 g (suspensión en aceite al 60%) a la solución con agitación bajo enfriamiento con hielo y en atmósfera de nitrógeno, y la mezcla fue adicionalmente agitada bajo enfriamiento con hielo y atmósfera de nitrógeno por 30 min. Se añadió bromuro de bencilo (27.4 ml) a la solución de la reacción, y la mezcla fue agitada bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente por 1.5 h. La solución de la reacción entonces fue enfriada con hielo y fue ajustada a un pH de 4 a 5 por adición de una

solución acuosa de ácido acético al 50%. Después la mezcla de la reacción fue concentrada a sequedad, y a esto se añadieron 2.0 l de cloroformo. La solución fue lavada dos veces con 500 ml de solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y fue lavada una vez con 500 ml de agua. El producto crudo fue purificado por cromatografía de columna sobre sílica gel (hexano: Acetato de etilo = 7 : 1 a 3:1) usando 350 g de sílica gel neutra para dar el compuesto del título (una mezcla de forma  $\alpha$  y una forma  $\beta$ : 55.1 g, rendimiento de 89%)

ESIMS: m/z 372 [M + Na]<sup>+</sup>

[0218] Forma  $\alpha$

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.30 - 7.40 (m, 5H), 4.70 - 4.90 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 4.52 (d, 1H, J = 4 Hz), 3.85 (dd, j = 2, 10 Hz), 3.82 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.66 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.65 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.36 (s, 3H), 3.39 (dt, 1H, J = 2, 10, 10 Hz), 3.37 (dd, 1H, j = 4, 10 Hz), 1.47 (s, 3h), 1.43 (s, 3H).

[0219] Forma  $\beta$

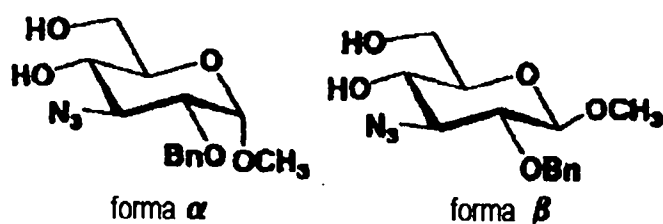
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.30 - 7.40 (m, 5H), 4.71 - 4.88 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 4.38 (d, 1H, J = 8 Hz), 3.93 (dd, j = 5, 10 Hz), 3.75 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.56 (s, 3H), 3.51 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.45 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.27 (dd, 1H, J = 8, 10 Hz), 3.26 (dt, 1H, J = 5, 10, 10 Hz), 1.49 (s, 3h), 1.44 (s, 3H).

[0220] Etapas de producción 1-3

Metil-3-azido-2-O-bencil-3-deoxi-D-glucopiranosido

25

[Fórmula química 46]



Una solución acuosa de ácido acético al 80% (186 ml) fue añadida a 37.3 g del compuesto producido en la etapa de producción 1-2. Se permitió continuar una reacción a 80°C, y, 30 min después de iniciada la reacción, la solución de la reacción fue enfriada a temperatura ambiente y fue concentrada a sequedad para dar 32.9 g del compuesto del título (una mezcla de forma  $\alpha$  y una forma  $\beta$ ) en un rendimiento cuantitativo.

ESIMS:  $m/z$  332  $[M + Na]^+$

[0221] Forma  $\alpha$

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 7.45 (m, 5H), 4.63 - 4.80 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.57 (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz), 3.78 - 3.85 (m, 2H), 3.63 (dt, 1H,  $J = 4, 4, 10$  Hz), 3.44 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.40 (dd, 1H,  $J = 3.5, 10$  Hz), 3.38 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.37 (s, 3H), 2.44 (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz), 1.82 (dd, 1H,  $J = 6, 7.5$  Hz).

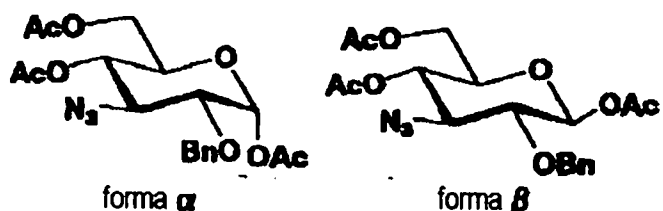
[0222] Forma  $\beta$

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 7.45 (m, 5H), 4.71 - 4.92 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.39 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 3.91 (m, 1H), 3.78 - 3.85 (m, 2H), 3.58 (s, 3H), 3.45 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.39 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.27 (dd, 1H,  $J = 8, 10$  Hz), 2.50 (d, 1H,  $J = 2.5$  Hz), 1.97 (d, 1H,  $J = 6, 7.5$  Hz).

[0223] Etapas de producción 1-4

1,4,6-Tri-O-acetil-3-azido-2-O-bencil-3-deoxi-D-glucopiranososa

[Fórmula química 47]



5

[0224] Se añadieron a y se disolvieron en ácido acético-anhídrido acético-ácido sulfúrico concentrado (50 : 50 : 1) (164  
 10 ml) con ultrasónico 32.8 g del compuesto producido en la etapa de producción 1-3, y se permitió continuar la reacción a temperatura ambiente por 5 h. La solución de la reacción se dejó gotear con agitación vigorosa sobre 1.7 l de una solución acuosa de acetato de sodio al 10% enfriada con hielo. Se añadió  
 15 Cloroformo (20 ml) por cuatro veces a la solución de la reacción y la mezcla fue vigorosamente agitada por 20 min bajo enfriamiento con hielo. La solución de la reacción fue llevada de nuevo a temperatura ambiente y adicionalmente se agitó vigorosamente por 1 h. La solución de la reacción entonces fue  
 20 extraída con 2.5 l de cloroformo (una vez con 900 ml y dos veces con 800 ml). La capa de cloroformo fue lavada una vez con 500 ml de salmuera saturada, dos veces con 500 ml solución acuosa de bicarbonato de sodio saturada y una vez con 500 ml de salmuera saturada. El producto crudo obtenido así fue adicionalmente  
 25 secado sobre sal de Glauber y fue concentrado a sequedad para



348

dar 48.4 g de un producto crudo. El producto crudo obtenido fue purificado por cromatografía de columna sobre silica gel (250 g) (hexano : acetato de etilo = 5 : 1) para dar el compuesto del título (una mezcla de forma  $\alpha$  y una forma  $\beta$ : 41.3 g, 5 rendimiento: 92%) como un jarabe amarillo claro.

ESIMS m/z 444  $[M + Na]^+$

[0225] Forma  $\alpha$

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 7.40 (m, 5H), 6.32 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.90 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.62 - 4.71 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} =$  10 12 Hz), 4.22 (dd, 1H,  $J = 5, 13$  Hz), 4.01 (dd, 1H,  $J = 2.5, 10$  Hz), 3.98 (m, 1H), 3.88 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.58 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 2.06, 2.12, 2.17 (cada uno s, cada uno 3H).

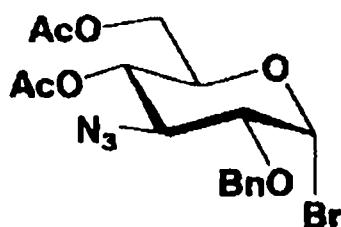
[0226] Forma  $\beta$

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 7.40 (m, 5H), 5.62 (d, 1H,  $J = 9$  15 Hz), 4.91 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.72 - 4.82 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.25 (dd, 1H,  $J = 5, 13$  Hz), 3.99 (dd, 1H,  $J = 2.5, 10$  Hz), 3.74, (ddd, 1H,  $J = 2.5, 5, 10$  Hz), 3.66 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.59 (dd, 1H,  $J = 9, 10$  Hz), 2.07, 2.12, 2.22 (cada uno s, cada uno 3H).

20 [0227] Etapas de producción 1.5a

4,6-Di-O-acetil-3-azido-2-O-bencil-1-bromo-3-deoxi- $\alpha$ -D-glucopiranososa

[Fórmula química 48]



[0228] El compuesto (347 mg) sintetizado en el paso de producción 1-4 fue disuelto en una solución mezclada compuesta por 6.2 ml de cloruro de metileno y 0.69 ml de acetato de etilo.

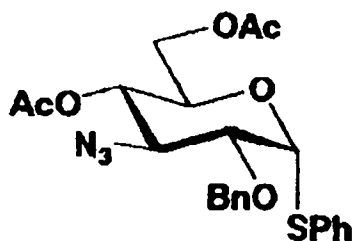
5 Se añadió tetrabromuro de titanio (605 mg) a la solución mezclada con agitación bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente por 14.5 h. La solución de la reacción fue enfriada con hielo y a esto se añadieron 30 ml de cloruro de metileno enfriado con hielo. La solución fue  
10 lavada ocho veces con 15 ml de agua enfriada con hielo hasta que la capa de agua tuvo un pH de 7. La solución entonces se secó sobre sal de Glauber bajo enfriamiento con hielo y fue concentrada a sequedad para dar el compuesto del título (352 mg, rendimiento: 97%) como un jarabe amarillo claro.

15 [0229]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.20 - 7.45 (m, 5H), 6.32 (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz), 4.92 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.68 - 4.74 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.27 (dd, 1H,  $J = 4.5, 12.5$  Hz), 4.17 (ddd, 1H,  $J = 2.5, 4.5, 10$  Hz), 4.03 (dd, 1H,  $J = 2.5, 12.5$  Hz), 3.98 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.43 (dd, 1H,  $J = 3.5, 10$  Hz), 2.13 (s,  
20 3h), 2.06 (s, 3H).

[0230] Etapas de producción 1-5b

4,6-Di-O-acetil-3-azido-2-O-bencil-3-deoxi-1-tiofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosas

[Fórmula química 49]



[0231] El compuesto (19.9 g) producido en la etapa de producción 1-4 se disolvió en 200 ml de cloruro de metileno. Se añadieron a la solución trimetilsililtiofenol (26.8 ml) y 5 11.0 ml de trimetilsililtriflato y la mezcla se sometió a reflujo. La mezcla de la reacción fue enfriada con hielo por 41 h después de iniciar el reflujo. Adicionalmente, a esta se le añadió cloroformo enfriado con hielo (1.8 l). Entonces la mezcla de la reacción fue lavada tres veces con 1 l de una 10 solución acuosa de NaOH al 5% enfriada con hielo y dos veces con 1 l de agua enfriada con hielo. La mezcla de la reacción se secó luego sobre sal de Glauber, se concentró a sequedad para dar un producto crudo (22.1 g). El producto crudo se disolvió luego en 20 ml de acetato de etilo. Adicionalmente se añadió 15 Hexano (120 ml) a la solución para recristalización. Los cristales resultantes fueron lavados con acetato de etilo: hexano (1 : 9), enfriado con hielo, para dar el compuesto del título (17.7 g, rendimiento: 79%). Además, el licor madre y el líquido del lavado de los cristales se combinaron y se 20 concentraron a sequedad para dar el compuesto del título (4.3 g).

ESIMS:  $m/z$  494  $[M + Na]^+$

[0232]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.20 - 7.48 (m, 10H), 5.59 (d, 1H,  $J = 5$  Hz), 4.83 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.68 - 4.78 (ABq,

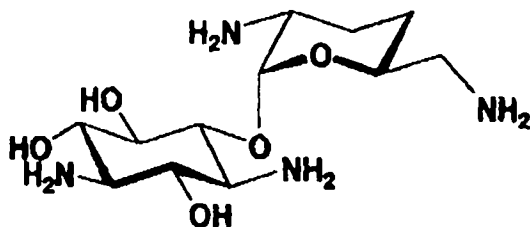
344

2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.46 (ddd, 1H,  $J = 2.5, 5, 10$  Hz), 4.22 (dd, 1H,  $J = 5, 12$  Hz), 3.96 (t, 1H,  $J = 2.5, 12$  Hz), 3.86 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.79 (dd, 1H,  $J = 5, 10$  Hz), 2.13 (s, 3H), 1.99 (s, 3H).

5 [0233] Etapas de producción 1-6

3',4'-Dideoxi-2-hidroxineamina

[Fórmula química 50]



[0234]                    Proceso A: la 2-Hidroxigentamicina Cla (18.8 g)

10 representada por la fórmula (II) fue producida de acuerdo con la divulgada Patente Japonesa No. 108041/1976 y se purificó. En seguida se añadió HCl 3 M (360 ml) a la 2-Hidroxigentamicina Cla resultante, y la mezcla se sometió a reflujo por 1.5 h. La solución de la reacción fue retornada a la temperatura ambiente,

15 entonces se enfrió con hielo, se le ajustó el pH alrededor de 6.8 por la adición de NaOH 4 M, se diluyó con 1.8 l de agua y fue añadida a una columna de 500 l de Amberlita CG-50 (previamente equilibrada con amoníaco acuoso 0.005 M). Esta columna fue lavada con 1 l de amoníaco acuoso 0.005 M. La

20 elución se llevó a cabo con 2 l de amoníaco acuoso 0.1 M y 2 l amoníaco acuoso 0.3 M. Las fracciones conteniendo el compuesto del título fueron combinadas y se concentraron a sequedad para dar 6.1 g del compuesto del título. Las fracciones que

25 contenían las impurezas se purificaron de nuevo por la columna de Amberlita CG-50 para dar 0.6 g del compuesto del título.

345

Por lo tanto se obtuvieron 6.7 g en total del compuesto del título (monocarbonato, rendimiento: 72%).

[0235] Proceso B: 2-Hidroxigentamicina Cla (600 g) representada por la fórmula (II) se produjeron y fueron purificadas de acuerdo con la descripción de la divulgada Patente Japonesa No. 108041/1976. A continuación, la 2-hidroxigentamicina Cla (300 g, 483 mmol como 2.5 carbonato) fue disuelta en HCl 3 N (3 l) y la solución fue agitada a 95°C por 70 min. En quietud se dejó enfriar, la solución se enfrió con hielo a 10°C y fue neutralizada y ajustada a pH 6.88 por la adición de NaOH 5 N. Adicionalmente, la misma reacción de nuevo se llevó a cabo usando 2-Hidroxigentamicina Cla (33 g, 483 mmol como 2.5 carbonato). Las dos mezclas de reacción resultantes fueron combinadas y se purificaron con Amberlita CG-50 (tipo NH<sub>4</sub>; equilibrada con NH<sub>3</sub> 0.005 M, 10 l). Solvente de elución: NH<sub>3</sub> 0.1 M → 0.2 M → 0.3 M. El producto purificado fue liofilizado para dar el compuesto del Título (335.9 g; 781 mmol como dicarbonato; rendimiento: 81%).

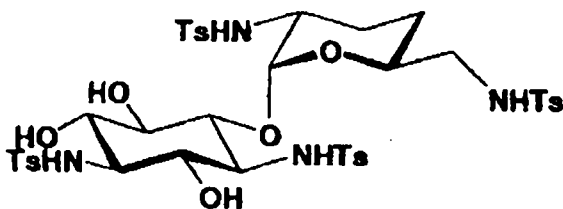
[0236] ESIMS: m/z 329 [M + Na]<sup>+</sup>

20 <sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 5.09 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 3.82 (m, 1H), 3.56 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.30 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.35 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.08 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.82 (dt, 1H, J = 3.5, 3.5, 12 Hz), 2.78 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.58 - 2.68 (m, 2H), 2.63 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 1.67 - 1.79 (m, 2H), 1.60 (dq, 1H, J = 4, 12, 12, 12 Hz), 1.36 (dq, 1H, J = 4, 12, 12, 12 Hz).

[0237] Etapas de producción 1-7

3',4'-dideoxi-2-hidroxil-1,3,2',6'-tetra-N-tosilneamina

[Fórmula química 51]



[0238] El compuesto, (6.7 g), producido durante la etapa de producción 1-6 se disolvió en 67 ml de agua. Se añadió

5 carbonato de sodio (11.6 g) a la solución y adicionalmente se le agregaron 134 ml de dioxano. Bajo enfriamiento con hielo se añadió cloruro de p-toluensulfonilo (20.8 g) a la mezcla y la mezcla fue agitada vigorosamente durante 15 minutos bajo enfriamiento con hielo. La solución fue retornada a la

10 temperatura ambiente y fue vigorosamente agitada durante la noche. Entonces a la solución de la reacción se le añadió Dioxano (134 ml); después de 42.5 h se le añadieron a la solución de la reacción 3.9 g de carbonato de sodio; después de 88 h se le añadieron a la solución de la reacción 3.5 g de

15 cloruro de p-toluensulfonilo; y después de 112.5 h se le añadieron a la solución de la reacción 8.5 ml de amoniaco acuoso concentrado y la mezcla fue agitada por 30 min. La solución de la reacción se concentró a sequedad. Al residuo se le añadió acetato de etilo (700 ml) y la mezcla fue lavada dos veces con

20 300 ml de agua, se secó sobre sal de Glauber y entonces fue concentrada a sequedad. El producto crudo fue purificado en cromatografía de columna sobre silica gel (Cloroformo : metanol = 20 : 1) sobre 250 g de silica gel para dar 3.47 g del compuesto del título. Una fracción que contenía impurezas

25 también fue sometida a cromatografía de columna sobre silica gel

347

para dar 7.05 g del compuesto del título. Como resultado se produjeron 10.52 g (cantidad total; rendimiento: 63%) del compuesto del título.

[0239] ESIMS:  $m/z$  945  $[M + Na]^+$

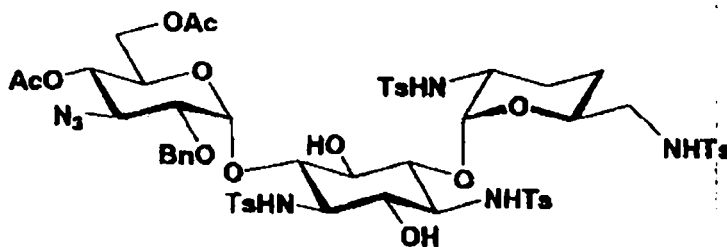
5  $^1H$ -NMR (Piridina- $d_5$ ):  $\delta$  9.20 (d, 1H,  $J = 7$  Hz), 9.15 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 8.80 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 8.46 (t, 1H,  $J = 6, 6$  Hz), 7.90 - 8.18 (m, 8H), 7.00 - 7.15 (m, 8H), 5.97 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 5.09 (m, 1H), 4.14 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.07 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.91 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.79 - 3.86 (m, 2H),  
10 3.74 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.73 (m, 1h), 3.30 - 3.47 (m, 2h), 2.40 (dq, 1H,  $J = 5, 12, 12, 12$  Hz), 2.17 (s, 6H), 2.16 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.77 (s, 1H), 1.58 - 1.72 (s, 2H).

[0240] Etapas de producción 1-8

4'',6''-Di-O-acetil-3''-azido-2''-O-bencil-3''-Deoxi-2-Hidroxil-

15 1,3,2',6'-tetra-N-tosildibecacina

[Fórmula química 52]



[0241] Proceso A: Una solución de 352 mg del compuesto  
20 producido en la etapa de producción 1-5a en 7.3 ml de 1,2-dicloroetano se añadió a 363 mg del compuesto producido en la etapa de producción 1-7. A esto se le añadió Diedrita (1070 mg) y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente por 30 min. A la solución de la reacción se le añadió cianuro de mercurio (397

mg) y la mezcla fue agitada bajo protección a la luz a 60°C hasta que el compuesto producido en la etapa de producción 1-5a desapareció cuando la reacción se rastreó por cromatografía de capa delgada (TLC). La solución de la reacción se llevó de nuevo a temperatura ambiente y se filtró por medio de Celita. Los insolubles se lavaron con 73 ml de cloroformo. El filtrado y el líquido del lavado fueron combinados, se lavaron tres veces con 36 ml de solución acuosa de bicarbonato de sodio saturada, tres veces con 36 ml de solución acuosa de yoduro de sodio al 10% y dos veces con 36 ml de agua, en ese orden; se secaron sobre sal de Glauber y fueron concentrados a sequedad. El residuo fue purificado en cromatografía de columna sobre sílica gel (cloroformo : acetato de etilo = 5 : 2) sobre 36 g de sílica gel para dar el compuesto del título (190 mg, rendimiento: 37.5%).

[0242] Proceso B: El compuesto (10.52 g) producido en la etapa de producción 1-7 y El compuesto (9.67 g) producido en la etapa de producción 1-5b fueron disueltos en 210 ml de cloruro de metileno. Se añadió a la solución polvo de tamiz molecular 4a (31.6 g) y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente por 30 min. A continuación, una solución de 5.54 g de N-yodosuccinimida y 0.55 ml de ácido trifluorometansulfónico en 9.45 ml de cloruro de metileno fue añadida a la solución de la reacción con agitación a -20°C bajo protección a la luz. Adicionalmente la mezcla fue agitada a -20°C por 30 min bajo protección a la luz. A continuación, 3.4 ml de trietilamina se añadieron a la solución de la reacción y se filtró la mezcla a través de Celita y los insolubles fueron lavados con 1.8 l de



cloroformo. Enseguida, el filtrado y el líquido de lavado fueron combinados, se lavaron dos veces con 1 l de una solución acuosa de bicarbonato de sodio saturada y dos veces con 1 l de una solución acuosa de tiosulfato de sodio al 10% y dos veces con 500 ml de agua, en ese orden; se secaron sobre sal de Glauber y se concentraron a sequedad para dar 20.2 g de un producto crudo. A continuación, el producto crudo se purificó con cromatografía de columna sobre 500 g de silica gel (cloroformo : etilo = 5 2) para dar el compuesto del título (5.4 g, rendimiento:37%).

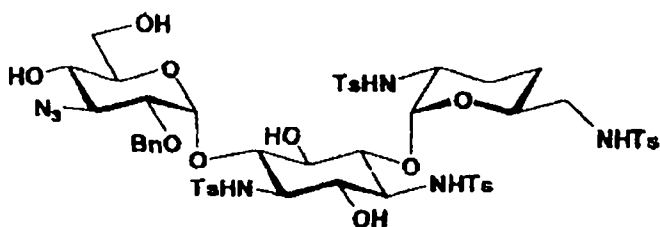
[0243] ESIMS: m/z 1306 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 9.22 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 8.82 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 8.73 (t, 1H, J = 6, 6 Hz), 8.25 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 7.80 - 8.1 (m, 10H), 7.0 - 7.45 (m, 11H), 6.75 (d, 1H, J = 3 Hz), 6.09 (d, 1H, J = 2 Hz), 5.51 (ABq, 1H, J<sub>gem</sub> = 11 Hz), 5.23 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 5.03 (m, 1H), 4.96 (m, 1H), 4.93 (ABq, 1H, J<sub>gem</sub> = 11), 4.41 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.38 (dd, 1H, J = 4, 12 Hz), 4.23 (m, 1H), 4.07 - 4.21 (m, 5H), 3.83 (dd, 1H, J = 3, 10 Hz), 3.78 (t, 1H, J = 9, 9 Hz), 3.72 (m, 1H), 3.27 (m, 1h), 3.17 (m, 1H), 2.35 (m, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.20 (s, 6H), 2.19 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.65 (m, 1H), 1.45 - 1.60 (m, 2H).

[0244] Etapas de producción 1-9

3''-Azido-2''-O-bencil-3''-deoxi-2-hidroxil-1,3,2',6'-tetra-N-tosildibecacina

[Fórmula química 53]



[0245] Una solución al 01% (118 ml) de metóxido de sodio en metanol fue añadida a 5.91 g del compuesto producido en la etapa de producción 1-8 y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente. Una solución al 28% (1.74 ml) de metóxido de sodio en metanol se añadió a la solución de la reacción 50 min después de iniciada la reacción. Después de 1.5 h, la solución de la reacción fue neutralizada y ajustada a pH de 6 a 7 con Dowex 50W x 2 (forma H<sup>+</sup>, tamiz 200 - 400, sustituido con MeOH). A continuación la resina fue removida de la solución de la reacción por filtración, y los insolubles fueron lavados cinco veces o más con metanol. El filtrado y los líquidos del lavado fueron combinados y se concentraron a sequedad para dar 5.2 g del compuesto del título crudo. Este compuesto como tal fue usado en la siguiente reacción.

Valor Rf 0.39 (Cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3)

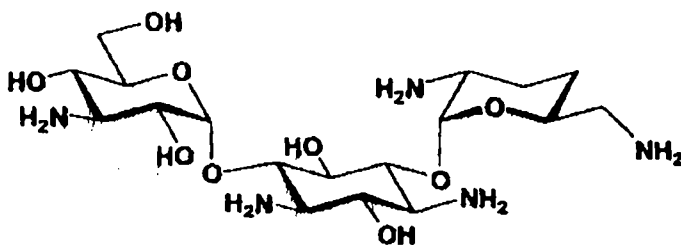
ESIMS: m/z 1222 [M + Na]<sup>+</sup>

[0246] Etapa de producción 1-10

2-hidroxidibecacina

20

[Fórmula química 54]



[0247] Se almacenó amoniaco líquido (alrededor de 10 ml) a  $-50^{\circ}\text{C}$  en una matraz con forma de berenjena conteniendo 45.7 mg del compuesto producido en la etapa de producción 1-9. A continuación, 70 mg de sodio metálico fue añadido al matraz con forma de berenjena a  $-50^{\circ}\text{C}$  y la mezcla fue vigorosamente agitada por 2 h con una varilla de vidrio para agitar. Se añadió lentamente metanol al matraz con forma de berenjena hasta que el color de los radicales desapareció. La mezcla fue llevada de nuevo a temperatura ambiente para evaporar el amoniaco y finalmente fue concentrada a sequedad con un evaporador. Se añadió agua (3 ml) al matraz con forma de berenjena y el contenido del matraz se ajustó a un pH de 4 a 5 con Dowex 50W x 2 (Forma  $\text{H}^{+}$ ). El contenido del matraz junto con la resina fueron añadidos a una columna equilibrada con 2 ml de la misma resina. La columna fue lavada con 20 ml de agua, se le hizo elución con amoniaco acuoso 1 M. Fueron combinadas las fracciones positivas a la Ninhidrina y se concentraron a sequedad para dar 20.1 mg de un producto crudo. Este fue llevado a una solución acuosa (10 ml) la cual fue añadida entonces a una columna CM-Sephadex C-25 (equilibrada con amoníaco acuoso 0.005 M, 10 ml). La columna fue lavada con agua (10 ml). En seguida, se llevó a cabo la elución mientras se cambiaba la concentración del amoníaco acuoso de 0.05M (50 ml) a 0.2M (100 ml, 2 ml corte) y la correspondiente fracción fue concentrada a sequedad para dar 16.4 mg del compuesto del título (monocarbonato-monohidrato, rendimiento: 79%).

[0248] Valor  $R_f$  0.35 (1-butanol : etanol : cloroformo : amoniaco acuoso al 17% = 4 : 7 : 2 : 7).

ESIMS:  $m/z$  490  $[M + Na]^+$

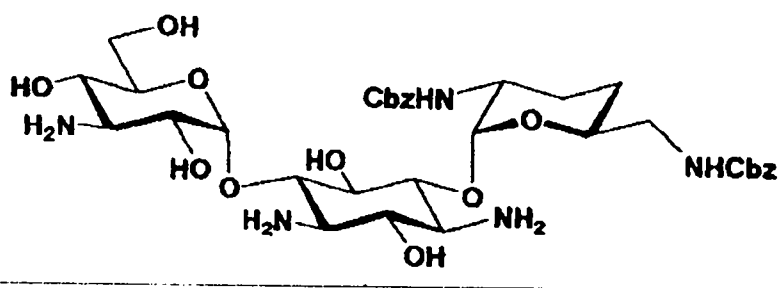
$^1H$ -NMR (26%  $ND_3-D_2O$ ):  $\delta$  5.12 (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz), 5.01 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 3.88 (m, 1H), 3.88 (m, 1H), 3.75 (dd, 1H,  $J = 2.5, 12$  Hz), 3.68 (dd, 1H,  $J = 5, 12$  Hz), 3.66 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.46 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.35 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.28 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.27 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.10 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.99 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.83 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.80 (m, 1H), 2.79 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.66 (dd, 1H,  $J = 4.5, 13$  Hz), 2.62 (dd, 1H,  $J = 7, 13$  Hz), 1.68 - 1.77 (m, 2H), 1.60 (m, 1H), 1.37 (m, 1H).

[0249]  $^{13}C$ -NMR (26%  $ND_3-D_2O$ ):  $\delta$  102.62, 101.41, 85.70, 84.53, 75.36, 74.00, 73.67, 72.89, 71.83, 70.35, 61.35, 57.67, 56.81, 55.65, 51.35, 46.60, 28.97, 27.45.

[0250] Etapas de producción 1-11

15 2',6'-Di-N-benciloxycarbonil-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 55]



[0251] Se añadió acetato de níquel tetrahidratado (1136 mg) al compuesto (625 mg; como se calculó como monocarbonato-monohidrato) producido en la etapa de producción 1-10. A este se le añadió metanol (25 ml) y la mezcla fue tratada con ultrasonido para dar una solución homogénea. Se añadió N-benciloxycarboniloxisuccinimida (626 mg) poco a poco a la

solución bajo enfriamiento con hielo durante un periodo de cerca de 2 min. Se agitó la mezcla bajo enfriamiento con hielo por 1 h. Se llevó de nuevo a temperatura ambiente, y adicionalmente fue agitada por 2.5 h. En seguida se añadieron 57 mg de N-benciloxicarboniloxisuccinimida a la solución de la reacción bajo enfriamiento con hielo, se llevo de nuevo a temperatura ambiente y adicionalmente fue agitada por 2 h. La solución de la reacción fue concentrada a sequedad. Al residuo se añadió amoníaco acuoso concentrado (30 ml) saturado con cloruro de sodio y la mezcla fue extraída tres veces con 20 ml de 1-butanol. La capa de butanol obtenida así se concentró a sequedad. Se añadió N-benciloxicarboniloxisuccinimida a 1423 mg del residuo y fue filtrado a través de Celita. La sustancia sobre la Celita se lavó con N,N-dimetilformamida (20 ml x 1, 10 ml x 4). El filtrado y el líquido del lavado fueron concentrados a sequedad para dar 1222 mg de un producto crudo.

[0252] Valor Rf 0.60 (1-butanol : etanol : cloroformo : amoniaco acuoso al 17% = 4 : 7 : 2 : 7)

ESIMS: m/z 758 [M + Na]<sup>+</sup>

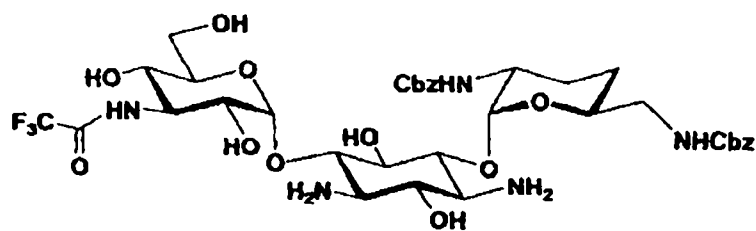
<sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 8.35 (br, s, 1H), 7.90 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.15 - 7.55 (m, 10H), 5.62 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.41 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.33 (s, 2H), 5.30 (ABq, 1H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 5.14 (ABq, 1H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 4.64 (m, 1 H), 4.44 (dd, 1H, J = 2, 12 Hz), 4.42 (m, 1H), 4.28 (dd, 1H, J = 5, 12 Hz), 4.24 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.20 (dd, 1H, J = 3, 10 Hz), 4.05 (m, 1H), 4.04 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.90 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.85 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.68 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.60 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.52 (m, 1H), 3.39 (m, 1H), 3.29 (t, 1H, J =

10, 10 Hz), 3.11 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.05 (m, 1H), 1.89 (dq, 1H, J = 3.5, 13, 13, 13 Hz), 1.64 (m, 1H), 1.43 (q, 1H, J = 13, 13, 13 Hz).

[0253] Etapa de producción 1-12

5      2',6'-Di-N-benciloxycarbonil-2-hidroxi-3"-N-trifluoroacetil dibecacina

[Fórmula química 56]



El producto crudo (1222 mg) producido en la etapa de  
10 producción 1-11 se disolvió en 17 ml de N,N-dimetilformamida  
anhidra . A la solución se le añadió Trifluoroacetato de etilo  
(0.15 ml) con agitación bajo enfriamiento con hielo. La mezcla  
fue llevada de nuevo a temperatura ambiente y se agitó por 8 h.  
La solución de la reacción se concentró a sequedad para dar 1416  
15 mg del producto.

Valor Rf 0.42 (se usó la parte de la capa inferior de una  
solución de cloroformo : metanol : amoníaco acuoso 15 M  
(amoníaco acuoso concentrado) = 1 : 1 : 1).

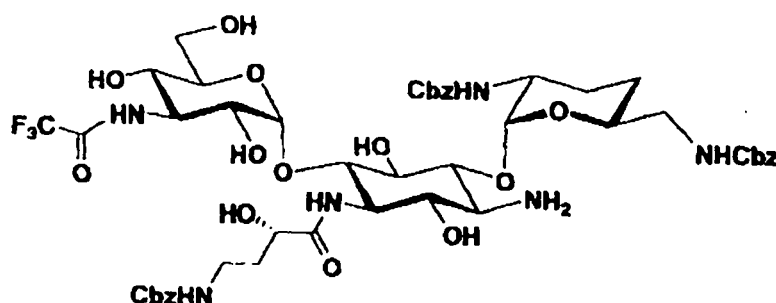
[0254]      <sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 10.65 (d, 1H, J = 9 Hz),  
20 8.35 (br, s, 1H), 7.89 (d, 1H, J = 8.5 Hz), 7.10 - 7.55 (m,  
10H), 5.70 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.41 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.33 (s,  
2H), 5.30 (ABq, 1H, Jgem = 12 Hz), 5.26 (ABq, 1H, Jgem = 12 Hz),  
5.18 (m, 1H), 4.77 (m, 1H), 4.58 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.50  
(dd, 1H, J = 3, 10 Hz), 4.31 - 4.46 (m, 3H), 4.18 (t, 1H, J =  
25 10, 10 Hz), 4.04 (m, 1H), 3.96 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.82 (t,

1H, J = 10, 10 Hz), 3.71 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.51 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.31 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.10 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.05 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 1.64 (m, 1H), 1.43 (m, 1H).

[0255] Etapas de producción 1-13

5        1-N-(4-benciloxycarbonilamino-2-(S)-hidroxibutiril)-2',6'-di-N-benciloxycarbonil-2-hidroxi-3"-N-trifluoroacetildibecacina

[Fórmula química 57]



10

[0256]        El producto (438 mg) obtenido en la etapa de producción 1-12 fue disuelto en 6.2 ml de tetrahidrofurano. Una solución (2 ml) de 149 mg del éster succinimídico del ácido (S)-4-N-benciloxycarbonilamino-2-hidroxiburtirico sintetizado de acuerdo con el informe de Kawaguchi et al. (Journal of antibiotics, vol 25, pp. 695 a 708 (1972)) en tetrahidrofurano fue añadida gota a gota a la solución bajo enfriamiento con hielo durante un periodo de 2 min, y la mezcla fue llevada de nuevo a temperatura ambiente y se agitó. Una solución (2 ml) de 149 mg del éster succinimídico del ácido N-benciloxycarbonil-4-amino-2-(S)-hidroxibutírico en tetrahidrofurano fue añadida a la solución de la reacción con agitación bajo enfriamiento con hielo 19 h después de iniciada la agitación y la mezcla fue llevada de nuevo a temperatura ambiente y fue agitada. Después

Al residuo se le añadió acetato de etilo (70 ml) y la mezcla fue lavada dos veces con 14 ml de solución acuosa de bicarbonato de sodio saturada y dos veces con 14 ml de agua y se concentró a sequedad para dar 571 mg de la mezcla de la reacción.

Valor Rf 0.59 (se usó la parte de la capa inferior de una solución de cloroformo : metanol : amoníaco acuoso 15 M (amoníaco acuoso concentrado) = 1 : 1 : 1).

2-Hidroxiarbecacina

15 [0258] A 571 mg de la mezcla de la reacción producida en la etapa de producción 1-13 se le añadieron tetrahidrofurano (22.8 ml) y 17.8 ml de amoníaco acuoso 3.5 M y la mezcla fue agitada por 20 h a temperatura ambiente. La solución de la reacción fue concentrada a sequedad. A 624 mg del residuo se  
20 le añadió tetrahidrofurano-ácido acético-agua (4 : 1 : 1) (22 ml). Adicionalmente 12 gotas de una suspensión de negro de paladio en agua fue añadida y la mezcla se agitó a presión atmosférica por 6 h, mientras se burbujeaba hidrógeno gaseoso al sistema. A continuación el negro de paladio fue removido por  
25 filtración. El negro de paladio removido fue lavado con agua y



el filtrado y el líquido del lavado fueron concentrados a sequedad. Al residuo se le añadió amoníaco acuoso 2 M (15 ml) y se dejó reposar la mezcla durante toda la noche a temperatura ambiente. Los insolubles fueron removidos por filtración a través de un tapón de algodón, seguido por concentración a sequedad para dar 467 mg del producto crudo. El producto crudo se disolvió en agua para dar 50 ml de una solución acuosa y la solución acuosa se añadió a una columna CM-Sephadex C-25 (Equilibrada con amoníaco acuoso 0.005 M, 50 ml). La columna fue lavada con 100 ml de amoníaco acuoso 0.005 M y la elución fue llevada a cabo con amoníaco acuoso 0.005 M (250 ml) a 0.5 M (500 ml) y adicionalmente 0.75 M (500 ml). Las correspondientes fracciones fueron concentradas para dar 39.1 mg del compuesto del título: 2-hidroxiarbecacina.

15 [0259]  $^1\text{H-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  5.13 (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz), 5.03 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.16 (d, 1H,  $J = 4, 9.5$  Hz), 3.98 (m, 1H), 3.83 - 3.90 (m, 2H), 3.65 - 3.77 (m, 4H), 3.37 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.34 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.32 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.25 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.97 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.86 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.82 (m, 1H), 2.70 - 2.78 (m, 2H), 2.65 (dd, 1H,  $J = 5, 13$  Hz), 2.62 (dd, 1H,  $J = 7, 13$  Hz), 1.86 - 1.96 (m, 1H), 1.69 - 1.80 (m, 3H), 1.61 (dq, 1H,  $J = 4, 13, 13, 13$  Hz), 1.37 (dq, 1H,  $J = 4, 13, 13, 13$  Hz).

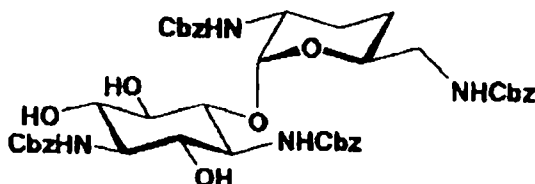
[0260]  $^{13}\text{C-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  177.84, 102.09, 98.99, 83.65, 78.17, 75.45, 72.87, 72.23, 71.71, 71.28, 70.45, 69.81, 60.79, 56.60, 56.15, 54.88, 50.71, 46.02, 38.26, 37.23, 28.39, 26.94.

[0261] Ejemplo 2

2-hidroxiarbecacina 2.5 sulfato trihidratado



[Fórmula química 61]



[0266]                   Proceso A:   El compuesto (16.5 g, 38.3 mmol:

5   calculado como dicarbonato) producido en la etapa de producción  
1-6 fue disuelto en agua (83 ml).   A la solución se le agregó  
dimetoxietano (165 ml) y entonces la mezcla fue agitada. Se  
agregó N-benciloxicarboniloxisuccinimida (66.8 g, 268 mmol) a  
esta, entonces se agregó trietilamina (56.0 ml, 402 mmol) y la  
10   mezcla fue agitada durante la noche (se generó calor para  
calentarla hasta cerca de 45°C). A la solución de la reacción  
se añadieron acetato de etilo (490 ml) y agua (83 ml) seguidos  
por separación. Se lavó la capa orgánica con una solución de  
bicarbonato de sodio saturada (247 ml) y una solución acuosa de  
15   tiosulfato de sodio al 10% (247 ml) es ese orden. La capa  
orgánica fue secada sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró  
y entonces fue concentrada bajo presión reducida. Metanol (133  
ml) se le añadió al residuo (como espuma), y la mezcla fue  
agitada en un baño de agua calentado a 60°C. Como resultado se  
20   precipitaron cristales. La mezcla fue agitada a temperatura  
ambiente durante toda la noche (lavado de lodos). Los cristales  
precipitados fueron colectados por filtración y se secaron  
bajo presión reducida a 40°C durante toda la noche para dar el  
compuesto del título (rendimiento: 33.8 g, cuantitativo).

25   [0267]                   Proceso B: El compuesto (303 g, 704 mmol: como  
dicarbonato) producido en la etapa de producción 1-6 fue

disuelto en agua (1.5 l), y se añadió a la solución 1,2-dimetoxietano (3.0 l). N-benciloxicarboniloxisuccinimida (1229 g, 4.93 mol, 7.0 eq.) se agregó a esta y entonces se agregó trietilamina (1013 ml, 7.40 mol, 10.5 eq.) y la mezcla se agitó  
5 durante la noche. Se añadieron acetato de etilo (9.1 l) y agua (1.5 l) a la solución de la reacción, seguidos por separación. Se extrajo de nuevo la capa de agua con acetato de etilo : 1,2-dimetoxietano = 3 : 1 (1.8 l). Las capas orgánicas fueron combinadas y se lavaron una vez con una solución acuosa de  
10 bicarbonato de sodio (4.6 l) y una vez con solución acuosa de tiosulfato de sodio (4.6 l) al 10%. La capa orgánica fue secada sobre sulfato de magnesio anhidro, y el solvente se removi6 por destilación bajo presión reducida. Metanol (2.4 l) se añadió al residuo y la mezcla fue agitada a temperatura  
15 ambiente durante la noche. Los cristales precipitados fueron filtrados para dar el compuesto del título (619.1 g, 734 mmol, rendimiento: 104%).

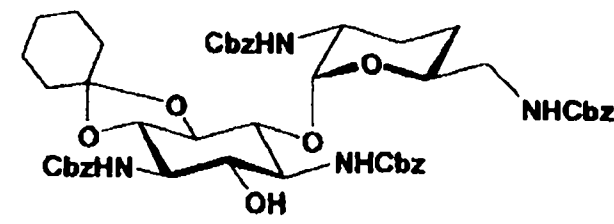
[0268] APIMS: m/z 843 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 7.73 (d, 1H, J = 6.9 Hz), 7.12 -  
20 7.56 (m, 22H), 6.82 - 6.95 (m, 1H), 5.67 (d, 1H, J = 2.9 Hz), 5.12 - 5.31 (m, 8H), 4.26 - 4.40 (m, 1H), 3.90 - 4.30 (m, 7H), 3.35 - 3.50 (m, 2H), 1.85 - 2.01 (m, 2H), 1.43 - 1.65 (m, 2H).

[0269] Etapas de producción 3-2

1,3,2',6'-Tetra-N-bencilocarbonil-5,6-O-ciclohexiliden-3',4'-  
25 dideoxi-2-hidroxineamina

[F6rmula qu6mica 62]



[0270]                   Proceso A: El compuesto (2.0 g, 2.4 mmol) producido en la etapa de producción 3-1 fue disuelto en dimetoxietano (40 ml). 1,1-dimetoxiciclohexano (0.54 ml, 3.56 mmol) y p-toluensulfonato de piridinium (PPTS) (0.060 g, 0.24 mmol) se añadieron a la solución y la mezcla fue agitada en baño de aceite a 110°C por 2 h con un aparato que tenía un embudo de goteo con tamices moleculares 5A 1/16 (30 g, 40 ml) y un condensador Dimroth suministrado con el embudo de goteo (temperatura interna de 85°C). Se añadieron a la reacción acetato de etilo (40 ml) y una solución acuosa de bicarbonato de sodio saturada (40 ml), seguidos por separación. La capa orgánica fue lavada con solución acuosa de NaCl saturada y fue secada sobre sulfato de magnesio anhidro y luego fue concentrada bajo presión reducida. El residuo fue purificado por cromatografía de columna sobre sílica gel (hexano : acetato de etilo = 2 : 1 a 1 : 3, cloroformo : metanol = 9 : 1) para dar el compuesto del título (1.75 g, 1.89 mmol, rendimiento: 80%).

[0271]                   Proceso B: El compuesto (150 g, 178 mmol) producido en la etapa de producción 3-1 se suspendió en 1,2-dimetohehexano (3.0 l). Se agregaron 1,1 dimetoxiciclohexano (38.5 g, 267 mmol, 1.5 eq.) y p-toluensulfonato de piridinium (4.47 g, 17.8 mmol, 0.1 eq.) y la mezcla se calentó y fue sometida a reflujo mientras pasaba a través de 1.5 kg de tamices moleculares 5a (1/16) por 4 h. La mezcla de la reacción fue diluida con acetato de etilo (3 l) y fue lavada una vez con una

solución acuosa de bicarbonato de sodio al 5% (4.6 l) y una vez con solución acuosa de tiosulfato de sodio al 10% (3 l). La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y entonces el solvente fue removido por destilación bajo presión reducida. La misma reacción fue adicionalmente llevada a cabo tres veces más. Los residuos fueron combinados y se purificaron por cromatografía en silica gel para dar el compuesto del título. Solvente de desarrollo = hexano : acetato de etilo ; 2 : 1 → 1 : 1 → 1 : 2 → 1 : 3. (557.93 g, 604 mmol, 10 rendimiento: 85%)

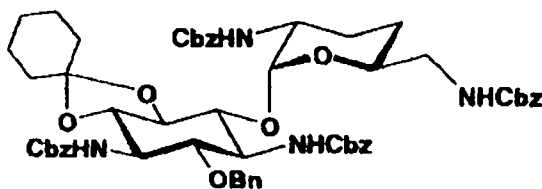
[0272] APIMS: m/z 923 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 7.96 (d, 1H, J = 6.2 Hz), 7.68 (d, 1H, J = 6.8 Hz), 7.22 - 7.57 (m, 20H), 6.75 - 7.05 (m, 2H), 5.57 (s, 1H), 5.12 - 5.35 (m, 8H), 3.96 - 4.45 (m, 6H), 3.92 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.79 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.30 - 3.47 (m, 2H), 1.77 - 2.00 (m, 2H), 1.45 - 1.70 (m, 10H), 1.16 - 1.35 (m, 2H).

[0273] Etapas de producción 3-3

20 2-benciloxi-1,3,2',6'-tetra-N-benciloxicarbonil-5,6-O-ciclohexiliden-3',4'-dideoxineamina

[Fórmula química 63]



[0274] Proceso A: Al compuesto (4.970 g, 5.38 mmol) producido en la etapa de producción 3-2 se le agregó 25 tetrahidrofurano (99 ml). Una dispersión al 60% de hidruro de sodio (0.26 g, 6.50 mmol) en parafina líquida y bromuro de

bencilo (1.15 ml, 9.67 mmol) se agregó a una temperatura interna de 4°C, y la mezcla fue agitada a una temperatura interna de 7 a 8°C por 21 h. A esta se agregó una solución acuosa de cloruro de amonio saturada (10 ml) a una temperatura interna de 4°C y la  
5 mezcla fue ajustada a un pH de 7, seguido por separación con 100 ml de acetato de etilo y 50 ml de agua. La capa orgánica fue secada sobre sulfato de magnesio y el solvente fue removido por destilación bajo presión reducida. El residuo fue purificado con cromatografía de columna sobre silica gel (tolueno : acetato  
10 de etilo = 3 : 1) para dar el compuesto de título (4.492 g, 4.43 mmol, rendimiento: 83%).

[0275]           Proceso B: El compuesto (3.96 g, 429 mmol) producido en la etapa de producción 3-2 fue disuelto en una solución mezclada compuesta de tetrahidrofurano (8 l) y N,N-  
15 dimetilformamida (158 ml) y la solución fue enfriada a 5°C. Se agregaron a la solución hidruro de sodio (dispersión en parafina líquida al 60%; 20.6 g, 515 mmol, 1.2 eq.) y bromuro de bencilo (91.8 ml, 772 mmol, 1.8 eq.) y la mezcla fue agitada a la misma temperatura por 6 h. Una solución acuosa de cloruro de amonio  
20 al 10% (8 l) se agregó a esta para detener la reacción, y la mezcla fue extraída con acetato de etilo (8 l). La capa orgánica se lavó una vez con salmuera al 20% (8 l) y una vez con solución acuosa de tiosulfato de sodio al 10% (8 l) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Entonces el solvente fue  
25 removido por destilación bajo presión reducida. El residuo fue purificado por cromatografía sobre silica gel para dar el compuesto del título. El solvente del desarrollo = hexano :

[0276] APIMS: m/z 1014 [M + Na]<sup>+</sup>

5

2-benciloxi-1,3,2',6'-tetra-N-benciloxicarbonil-3',4'-  
dideoxineamina

15

20



insolubles por 2 h, seguido de filtración para dar el compuesto del título (19.47 g, 0.9 mmol, rendimiento: 93%).

[0279] Proceso B: El compuesto (376 g, 371 mmol) producido en la etapa de producción 3-3 fue disuelto en una solución mezclada compuesta de cloroformo (7.5 l) y metanol (750 ml) y la mezcla fue enfriada a 10°C. Ácido trifluoroacético (750 ml) al 90% se agregó a la solución enfriada y la mezcla fue agitada a 20°C por 3 h 20 min. El solvente fue removido por destilación bajo presión reducida. Al residuo se le agregó metanol y los lodos se agitaron durante toda la noche y fueron filtrados para dar el compuesto del título (313 g, 335 mmol, rendimiento: 90%).

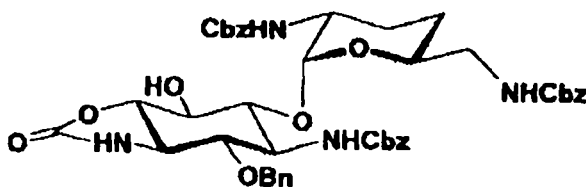
[0280] APIMS: m/z 933 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 7.86 (d, 1H, J = 6.6 Hz), 7.62 - 7.70 (m, 1H), 7.10 - 7.55 (m, 26H), 6.80 - 6.95 (m, 1H), 5.64 (d, 1H J = 2.9 Hz), 5.13 - 5.37 (m, 8H), 4.91 (AB, 2H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 4.29 - 4.37 (m, 3H), 3.90 - 4.17 (m, 3H), 4.02 (dd, 1H J = 9.1, 10 Hz), 3.94 (dd, 1H, J = 8.8, 9.0 Hz), 3.92 - 3.52 (m, 2H), 1.86 - 2.04 (m, 2H), 1.47 - 1.66 (m, 2H).

[0281] Etapa de producción 3-5

2-benciloxi-3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-1,6-N,O-carbonil-3',4'-dideoxineamina

[Fórmula química 65]



[0282]           Proceso A: El compuesto (19.291 g, 20.7 mmol) producido en la etapa de producción 3-4 se disolvió en N,N-dimetilformamida (390 ml) y la solución se enfrió a 3°C. A la solución enfriada se agregó hidruro de sodio (60%, en aceite; 5 4.968 g, 0.124 mol) y la mezcla fue agitada a la misma temperatura por 1.5 h. La mezcla de la reacción se ajustó a un pH cercano a 7 bajo enfriamiento con hielo por adición de una solución acuosa de cloruro de amonio saturada (400 ml). A esta se agregaron acetato de etilo (800 ml) y una solución acuosa de 10 cloruro de amonio saturada (400 ml) y la mezcla se agitó y enseguida se separó. La capa orgánica fue lavada dos veces con solución acuosa de cloruro de amonio al 5% (800 ml) y entonces fue secada sobre sulfato de magnesio. El solvente fue removido por destilación bajo presión reducida. Al residuo se le agrego 15 metanol (400 ml). Un cristal semilla fue agregado a esta y el producto previsto se cristalizó con agitación suave. Los cristales fueron recolectados por filtración para dar el compuesto del título. El licor madre se concentró bajo presión reducida y el residuo fue sometido a lavado de insolubles con 20 metanol/éter diisopropilo (1/1; 100 ml) para adicionalmente dar el compuesto del título (15.70 g, 19.0 mmol, rendimiento: 92%).

[0283]           Proceso B: El compuesto (293 g, 314 mmol) producido en la etapa de producción 3-4 fue enfriado en N,N-dimetilformamida (5.9 l) y la solución se enfrió a 3°C. A la 25 solución enfriada se le agregó hidruro de sodio (dispersión en parafina líquida, 60%; 75.4 g, 1.88 mol, 6.0 eq.) y la mezcla fue agitada a la misma temperatura por una hora. La mezcla de la reacción fue vertida en una solución de dos capas de una

solución acuosa de cloruro de amonio al 20% (12 l) y acetato de etilo (5 l) con agitación vigorosa bajo enfriamiento con hielo. Además a esta se agregó, acetato de etilo (7 l) y la mezcla fue agitada seguida de separación. La capa orgánica se lavó dos veces con una solución acuosa de cloruro de amonio (12 l) al 5% y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El solvente fue removido por destilación bajo presión reducida. Al residuo se le agregó metanol (5.9 l) y los lodos de la mezcla se agitaron durante la noche y luego se filtraron para dar el compuesto del título (248 g, 301 mmol, rendimiento: 95%).

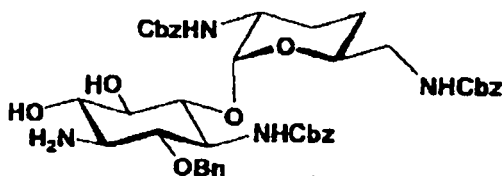
[0284] APIMS:  $m/z$  8.25  $[M + Na]^+$

$^1H$ -NMR (Piridina- $d_5$ ):  $\delta$  8.80 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.17 - 8.24 (m, 1H), 7.75 - 7.53 (m, 1H), 7.12 - 7.53 (m, 20H), 6.93 - 7.10 (m, 1H), 5.22 (d, 1H,  $J = 3.1$  Hz), 5.11 - 5.39 (m, 6H), 4.88 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 12$  Hz), 3.95 - 4.38 (m, 7H), 3.73 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.38 - 3.53 (m, 2H), 1.77 - 1.95 (m, 2H), 1.45 - 1.72 (m, 2H).

[0285] Etapas de producción 3-6

2-Benciloxi-3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3',4'-dideoxineamina

[Fórmula química 66]



[0286] Proceso A: El componente (822 mg, 0.997 mmol) obtenido en la etapa de producción 3-5 se disolvió en un líquido mezclado

compuesto de 1,4-dioxano (25 ml) y agua (25 ml). Se adicionó carbonato de sodio (127 mg, 1.20 mmol) a la solución y se agitó la mezcla a 80°C durante 5 h. La mezcla de la reacción fue enfriada y se extrajo una vez con cloroformo (50 ml) y una vez  
5 con un líquido mezclado compuesto de cloroformo (25 ml) y metanol (25 ml). El extracto se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente fue removido por destilación a presión reducida. Se disolvió el residuo en acetato de etilo (16 ml). Se adicionó un cristal semilla a la solución y el producto previsto se  
10 cristalizó con agitación suave, seguida de una filtración para obtener el compuesto 7. El licor madre fue concentrado a presión reducida y el residuo fue sometido a un lavado de lodos con (acetato de etilo/éter diisopropilo) (1/1; 4 ml) para obtener posteriormente el compuesto del título (617 mg, 0.772 mmol,  
15 rendimiento: 77%).

[0287] Proceso B: El compuesto (228 g, 276 mmol) obtenido en la etapa de producción 3-5 se disolvió en un líquido mezclado compuesto de 1,4 dioxano (6.8 l) y agua (6.8 l). Se le añadió  
20 carbonato de sodio (29.30 g, 276 mmol, 1.0 eq) a la solución, y la mezcla se agitó por 6 h a 80°C. La mezcla de la reacción se enfrió y luego se le disolvió cloruro de sodio (1,37 kg) y la mezcla se extrajo con cloroformo (13.7 l). El extracto se secó luego sobre sulfato de magnesio anhidro. El solvente se removió  
25 posteriormente por destilación a presión reducida para obtener el compuesto del título (157.87 g, 198 mmol, rendimiento: 71%)

[0288] FABMS: m/z 799 [M + H]<sup>+</sup>

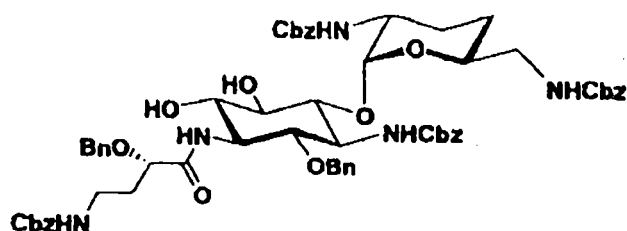
$^1\text{H-NMR}$  (Piridina- $d_5$ ):  $\delta$  7.10 - 7.60 (m, 22H), 6.65 - 6.90 (m, 1H), 5.66 (d, 1H,  $J = 2.9$  Hz), 5.34 (s, 2H), 5.24 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 13$  Hz), 5.21 (ABq, 2h,  $J_{\text{gem}} = 13$  Hz), 4.97 (ABq, 2h,  $J_{\text{gem}} = 11$  Hz), 3.64 - 4.36 (m, 5H), 3.89 (t, 1H,  $J = 9.0, 9.0\text{Hz}$ ), 3.54 (t, 1H,  $J = 10, 10\text{Hz}$ ), 3.39 - 3.50 (m, 2H), 3.07 (t, 1H,  $J = 10, 10\text{Hz}$ ), 1.87 - 2.02 (m, 2H), 1.45 - 1.65 (m, 2H).

[0289] Etapa de producción 3-7

1-N-[(S)-4-Benciloxycarbonilamino-2-benciloxibutiril]-2-benciloxi-3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3',4'-dideoxineamina

10

[Fórmula química 67]



[0290] Proceso A:

15 El ácido (S)-2-Benciloxi-4-benciloxycarbonilamino-butírico (9.065 g, 26.4 mmol) sintetizado en el ejemplo de referencia 1 se disolvió en tetrahidrofurano y la solución se enfrió a  $2^{\circ}\text{C}$ . Se añadieron a esta solución (3.38 g, 26.4 mmol) de N-Hidroxisuccinimida y (5.447 g, 26.4 mmol) de diciclohexilcarbodiimida y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 2 h. Los insolubles se filtraron para dar una solución de éster activo. El compuesto (10.552 g, 13.2 mmol) obtenido en la etapa de producción 3-6 se disolvió en tetrahidrofurano (210 ml). A esta solución se le adicionó

20

25 Trietilamina (3.7 ml, 27 mmol) y la solución activa de éster y

la mezcla resultante fue agitada a 50°C por 3.5 h. La mezcla de la reacción se diluyó con cloroformo (800 ml), se lavó con una solución saturada de bicarbonato de sodio (800 ml) y luego se secó sobre sulfato de magnesio. Se removió el solvente por destilación a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre sílica gel (cloroformo: acetato de etilo = 1 : 1 → cloroformo : metanol = 30 : 1 → 20 : 1) para obtener el compuesto del título (11.352 g, 10.1 mmol, rendimiento: 76%).

10 [0291]      Proceso B:

El ácido (S)-2-Benciloxi-4-benciloxicarbonilamino-butírico (101.78 g, 296 mmol, 1.5 eq) sintetizado en el Ejemplo de Referencia 1 se disolvió en tetrahidrofurano (2.04L) y la solución se enfrió a 3.4°C. A la solución enfriada se le 15 adicionó N-Hidroxisuccinimida (37.53 g, 326 mmol, 1.65 eq) y dicitclohexilcarbodiimida (67.28 g, 326 mmol, 1.65 eq) y la mezcla se agitó a 25°C durante 3 h. Los insolubles fueron filtrados para obtener una solución éster activa. El compuesto (157.87 g, 198 mmol) obtenido en la etapa de producción 3-6 se 20 disolvió en tetrahidrofurano (3.16 l). A la solución se le añadió trietilamina (41.34 ml, 296 mmol, 1.5 eq) y la solución de éster activo y la mezcla se agitó a 53°C por 4.5 h. La mezcla agitada fue luego diluida con cloroformo (12.63 l) y la solución diluida fue lavada con (12.63 l) de una solución acuosa al 5% de 25 bicarbonato de sodio y luego se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Se removió el solvente por destilación a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna en sílica gel para obtener el compuesto del título.

371

Solvente para el desarrollo = cloroformo : acetona = 3.5 : 1 →  
3 : 1 → cloroformo : metanol = 30 : 1 → 20 : 1. (158.45 g, 140  
mmol, rendimiento: 71%).

[0292] LCMS: m/z 1124 [M + H]<sup>+</sup>

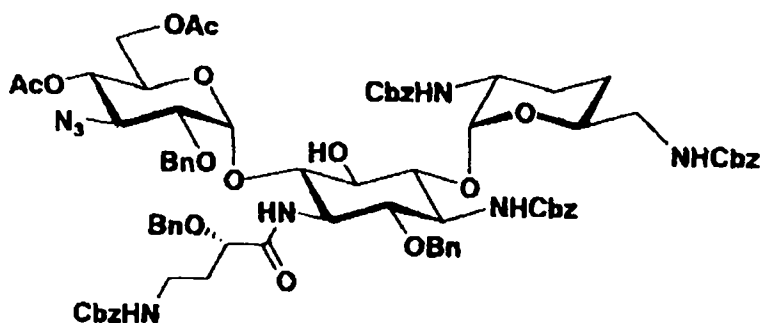
5 <sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 8.15 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 7.60 -  
7.72 (m, 1H), 7.10 - 7.55 (m, 32H), 6.83 - 7.00 (m, 1H), 5.65  
(d, 1H, J = 2.9 Hz), 5.12 - 5.36 (m, 8H), 4.98 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> =  
11, 11 Hz), 4.60 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12, 12 Hz), 3.90 - 4.49 (m,  
8H), 4.08 (t, 1H, J = 9.8, 9.8 Hz), 3.38 - 3.70 (m, 4H), 2.20 -  
10 2.36 (m, 2H), 1.85 - 2.01 (m, 2H), 1.45 - 1.65 (m, 2H).

[0293] Etapas de producción 3-8

4'',6''-Di-O-acetil-3''-azido-2'',2'''-di-O-bencil-1,3,2',6'-  
tetra-N-benciloxicarbonil-3''-deoxi-2-hidroxilarbecacina

[Fórmula química 68]

15



[0294] El compuesto (11.249 g, 10.0 mmol) obtenido en la  
etapa de producción 3-7 y (9.440 g, 20.0 mmol) de 4,6-di-O-  
20 acetil-3-azido-2-O-bencil-1,3-dideoxi-1-feniltio- α-D-  
glucopiranososa, que se habían secado a presión reducida por 2 h,  
se disolvieron en cloruro de metileno (225 ml). Se adicionó a la  
solución (polvo 33.7 g) de tamiz molecular 4A, el cual había  
sido secado a presión reducida por 2 h y la mezcla se agitó a

temperatura ambiente por una hora bajo una atmósfera de argón. El recipiente de la reacción se colocó en un estado protegido de la luz y se enfrió a  $-20^{\circ}\text{C}$ . A esto se añadió N-Yodosuccinimida (10.811 g, 48.1 mmol) y ácido trifluorometansulfónico (178 ml, 2.01 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por dos horas. Se adicionó N-Yodosuccinimida (5.405 g, 24.0 mmol) y ácido trifluorometansulfónico (88 ml, 0.99 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 2 h más. Se adicionó Trietilamina (431 ml, 3.09 mmol) bajo enfriamiento con hielo para parar la reacción. Los insolubles fueron filtrados y la capa orgánica se lavó una vez con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (500 ml) y dos veces con una solución acuosa al 10% de tiosulfato de sodio y luego se secó sobre sulfato de magnesio. Se removi6 el solvente mediante destilación a presión reducida. El residuo fue purificado con cromatografía de columna sobre sílica gel (cloroformo : acetona = 10 : 1  $\rightarrow$  : /1  $\rightarrow$  cloroformo : metanol = 10 : 1) para producir el compuesto del título (9.388 g, 6.32 mmol, rendimiento: 63%). El compuesto (3.16 g, 2.81 mmol) obtenido en la etapa de producción 3-7 que no reaccionó fue recuperado.

[0295] LCMS:  $m/z$  1485  $[M + H]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (Piridina- $d_5$ ):  $\delta$  8.30 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz), 7.75 - 7.83 (m, 1H), 7.20 - 7.67 (m, 36H), 6.92 - 7.05 (m, 1H), 6.75 - 6.90 (m, 1H), 5.92 (d, 1H,  $J = 3.4$  Hz), 5.65 (d, 1H,  $J = 2.9$  Hz), 4.94 - 5.35 (m, 12H), 4.62 - 4.76 (m, 4H), 4.35 - 4.50 (m, 3H), 3.92 - 4.35 (m, 9H), 3.71 (dd, 1H,  $J = 3.4, 10$  Hz), 3.34 - 3.62 (m, 4H), 2.18 - 2.43 (m, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.80 - 1.93 (m, 2H), 1.43 - 1.65 (m, 2H).

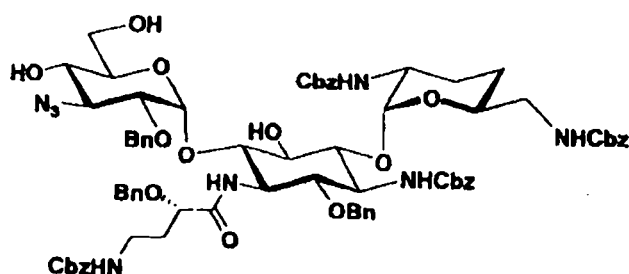


[0296] Etapas de Producción 3-9

3''-Azido-2'',2'''-di-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-benciloxicarbonil-3''-deoxi-2-hidroxilarbecacina

5

[Fórmula química 69]



[0297] El compuesto (8.819 g, 5.94 mmol) obtenido en la etapa de producción 3-8 se disolvió en un líquido mezclado compuesto de cloroformo (180 ml) y metanol (90 ml). Se le adicionó a esta solución 0.5 M de metóxido de sodio (una solución de metanol, 3.6 ml, 1.8 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 2 h. A eso se le adicionó ácido acético (0.14 ml, 2.4 mmol) y la mezcla fue lavada con una solución acuosa saturada de carbonato de sodio (250 ml). La capa acuosa fue nuevamente extraída con cloroformo (200 ml). Se secaron las capas orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio y se removi6 el solvente por destilación a presión reducida. El residuo fue purificado por cromatografía de columna sobre sílica gel (cloroformo : metanol = 30 : 1) para obtener el compuesto del título (7.263 g, 5.18 mmol, rendimiento: 87%).

[0298] LCMS:  $m/z$  1401  $[M + H]^+$

$^1H$ -NMR(Piridina- $d_5$ ):  $\delta$  8.11 (d, 1H,  $J = 8.3$  Hz), 7.50 - 7.62 (m, 1H), 7.10 - 7.58 (m, 35H), 6.96 - 7.10 (m, 1H), 6.80 - 6.96 (m,

314

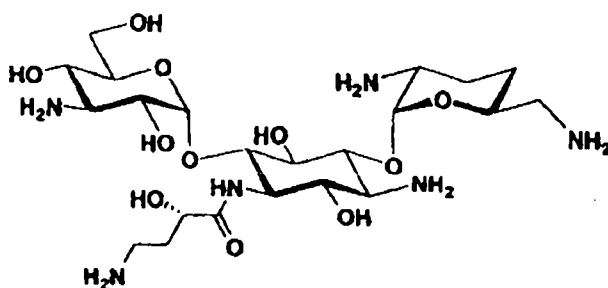
1H), 6.14 - 6.23 (m, 1H), 5.50 - 5.65 (m, 3H), 5.12 - 5.33 (m, 8H), 4.91 (ABq, 2H, Jgem = 11, 11Hz), 4.83 (ABq, 2H, Jgem = 12, 12 Hz), 4.58 (ABq, 2H, Jgem = 12, 12Hz), 3.85 - 4.51 (m, 14H), 3.37 - 3.64 (m, 5H), 2.20 - 2.42 (m, 2H), 1.80 - 1.95 (m, 2H)  
5 1.45 - 1.65 (m, 2H).

[0299] Etapas de producción 3-10

2-Hidroxiarbecacina

10

[Fórmula química 70]



[0300] El compuesto (154 mg, 0.110 mmol) obtenido en la etapa  
15 de producción 3-9 se disolvió en 3 ml de una solución de 1,4-  
dioxano : agua : 1 N ácido clorhídrico = 40 : 19 : 1. Se ajustó  
la solución hasta un pH 1.53, a eso se le adicionó un polvo  
negro de paladio (154 mg) y la mezcla se agitó vigorosamente  
bajo una atmósfera de hidrógeno. El valor del pH del sistema de  
20 la reacción alcanzó un nivel de 8.50 tres horas después de  
haberse empezado a agitar vigorosamente. La mezcla de la  
reacción se ajustó a un pH de 1.68 mediante la adición de ácido  
clorhídrico 1 N (500 µl) y se agitó vigorosamente durante 15 h  
bajo una atmósfera de H<sub>2</sub>. El polvo negro de paladio fue removido  
25 por filtración a través de un algodón y el catalizador fue

lavado con agua. El filtrado y el líquido de lavado se combinaron y concentraron a sequedad. El concentrado se disolvió en agua para dar una solución de 10-ml, la cual fue luego purificada en una columna de Bio Rex 70 (equilibrada con 0.005 M de amoníaco acuoso) para producir el compuesto del título (51.1 mg, 0.079 mmol, rendimiento: 72%).

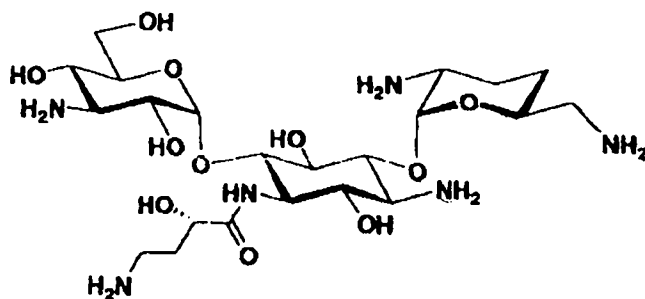
[0301] LCMS: m/z 569 [M + H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 5.13 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 5.03 (d, 1H, J = 4 Hz), 4.16 (dd, 1H, J = 4, 9.5 Hz), 3.98 (m, 1H), 3.83 - 3.90 (m, 2H), 3.65 - 3.77 (m, 4H), 3.37 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.34 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.32 (dd, 1H, J = 4, 10 Hz), 3.25 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.97 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.86 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.82 (m, 1H), 2.70 - 2.78 (m, 2H), 2.65 (dd, 1H, J = 5, 13Hz), 2.62 (dd, 1H, J = 7, 13Hz), 1.86 - 1.96 (m, 1H), 1.69 - 1.80 (m, 3H), 1.61 (dq, 1H, J = 4, 13, 13, 13 Hz), 1.37 (dq, 1H, J = 4, 13, 13, 13Hz).

[0302] Ejemplo 4

Producción de 2-hidroxiarbecacina

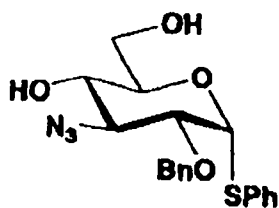
[Fórmula química 71]



[0303] Etapas de producción 4-1

3-Azido-2-O-bencil-3-deoxi-1-tiofenil-α-D-glucopiranososa

[Fórmula química 72]



5 Proceso A: Al compuesto (2.67 g) obtenido en la etapa de  
 producción 1-5b se le añadió una solución al 0.13% de metóxido  
 de sodio/ metanol (40.5 ml) y 13.5 ml de cloroformo, y la mezcla  
 se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 1.5 h. La  
 mezcla de la reacción se neutralizó (pH 6 a 7) mediante la  
 10 adición de Dowex 50 W x 2 (forma H<sup>+</sup>, substituida por metanol).  
 Se removi6 la resina por filtraci6n seguida de lavado con  
 metanol (4 ml x 5). El filtrado y el l6quido de lavado se  
 combinaron y concentraron a sequedad para producir un producto  
 crudo (2.193 g, cuantitativo).

15 [0304] Proceso B: El compuesto (26.0 g) obtenido en la etapa  
 de producci6n 1-5b se suspendi6 en 260 ml de metanol y se le  
 adicionaron 33.3 ml de una soluci6n de 0.5 M de met6xido de  
 sodio/ metanol. Se dej6 reaccionar la mezcla a temperatura  
 ambiente por 30 min, y se a6nadi6 1 ml de 6cido ac6tico gota a  
 20 gota. La soluci6n de la reacci6n se concentr6 a sequedad para  
 obtener un producto crudo el cual fue utilizado as6 en la  
 siguiente reacci6n.

[0305] ESIMS: m/z 388 [M + H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.28 - 7.47 (m, 10H), 5.56 (d, 1H, J =  
 25 4.6 Hz), 4.68 - 4.79 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 11.7, 12.3 Hz), 4.21 (dt,

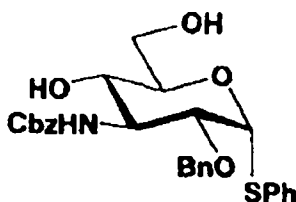
1H, J = 3.9, 9.7 Hz), 3.70 - 3.81 (m, 4H), 3.45 (t, 1H, J = 9.3, 9.5 Hz).

[0306] Etapa de producción 4-2

2-O-Bencil-3-benciloxicarbonilamino-1,3-dideoxi-1-feniltio-

5  $\alpha$ -D-glucopiranososa

[Fórmula química 73]



10                   Proceso A: El compuesto (2.19 g) obtenido en el  
proceso A en la etapa de producción 4-1 se disolvió en 44 ml (20  
v/w) de tetrahidrofurano anhidro. A la solución se le adicionó  
trifenilfosfamina, (7.43 g, 5 partes por mol) y la mezcla se  
dejó reaccionar a temperatura ambiente. A esto se le adicionó,  
15 18.5 h después de haber iniciado la reacción, agua, (0.71 ml, 7  
partes por mol), N-benciloxicarboniloxisuccinimida (1.83 g, 1.3  
partes por mol) y trietilamina (2.37 ml, 3 partes por mol) y la  
mezcla se agitó a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción  
se concentró a sequedad 2.5 h después de haber empezado a  
20 agitarla a temperatura ambiente para dar 12.6 g de un producto  
crudo.

[0307]           Proceso B: El compuesto (cerca de 22.0 g) obtenido en  
el proceso B en la etapa de producción 4-1 se disolvió en una  
mezcla líquida (550 ml, 10 v/mol) de tetrahidrofurano/agua

25    1 : 1. A la solución se le adicionó trifenilfosfina (36.1 g,  
2,5 partes por mol) y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura

ambiente. Luego se le adicionó N-benciloxicarboniloxisuccinimida (17.84 g, 1.3 partes por mol) y 10 ml (1.3 partes por mol) de trietilamina, 2 h después de haberse iniciado la reacción y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción fue concentrada hasta la sequedad 2.5 h después de haberse empezado la agitación y fue lavada con acetato de etilo/hexano para dar 23.7 g de un producto crudo (rendimiento: en tres etapas 87%).

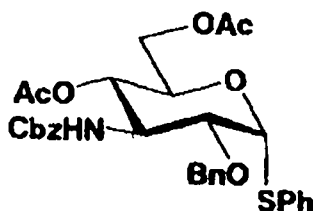
[0308] APIMS: m/z 496 [M + H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO): δ 7.52 (dt, 2H, J = 1.5, 7.0 Hz), 7.23 - 7.36 (m, 13H), 5.78 (d, 1H, J = 4.9 Hz), 5.18 (d, 1H, J = 6.8 Hz), 4.97 - 5.12 (ABq, 2H, Jgem = 12.7, 12.9 Hz), 4.48 - 4.71 (ABq, 2H, Jgem = 12.2 Hz), 4.55 (t, 1H, J = 5.8 Hz), 3.91 (m, 1H), 3.71 (dd, 1H, J = 5.1, 10.7 Hz), 3.53 (m, 2H).

[0309] Etapas de producción 4-3

4,6-Di-O-acetil-2-O-bencil-3-benciloxicarbonilamino-1,3-dideoxi-1-feniltio-α-D-glucopiranososa

[Fórmula química 74]



20

Proceso A: El producto crudo (12.61 g) obtenido en el proceso A en la etapa de producción 4-2 que se suministró anhidro, se disolvió en 56 ml de piridina anhidra. Se le adicionó (5.3 ml, 10 partes por mol) de anhídrido acético a la solución bajo enfriamiento en hielo, y la mezcla se dejó

reaccionar a temperatura ambiente por 16 h. Se le añadió metanol (4.5 ml) (2 partes por mol cuando se compara con el anhídrido acético) y se dejó que la mezcla reposara a temperatura ambiente por 30 min y se concentró a sequedad (destilación azeotrópica con tolueno tres veces). Además, se añadieron 330 ml de cloroformo al residuo y la mezcla se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (160 ml x 3), una solución acuosa de  $\text{KHSO}_4$  al 5% (160 ml x 3), y agua destilada (160 ml x 1) en ese orden, se secó sobre una sal de Glauber, y se concentró a sequedad para producir 13.3 g de un producto crudo. El producto crudo fue purificado por cromatografía de columna en sílica gel y luego se cristalizó a partir de cloroformo/hexano para dar 3.19 g del producto considerado, como cristal (rendimiento: 97%).

[0310] Proceso B: Una parte (493 g) del producto crudo obtenido en el proceso B en la etapa de producción 4-2 se suministró como anhídrido y se disolvió en 50 ml (10 v/w) de piridina. Se adicionó anhídrido acético (25 ml, 5 v/w) a la solución y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 3 h. Se le añadió Metanol (25 ml, 5 v/w) bajo enfriamiento con hielo y la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente por 30 min. A continuación, se adicionaron 150 ml de cloroformo y la mezcla se lavó con agua (150 ml x 1), ácido clorhídrico 2.5 N (150 ml x 1), ácido clorhídrico 0.5 N (150 ml x 1) y una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (150 ml x 1) en ese orden, se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró a sequedad y se cristalizó a partir del acetato/hexano etilo para obtener 5.39 g del producto previsto (rendimiento: 94%).

[0311] FABMS:  $m/z$  580  $[M + H]^+$

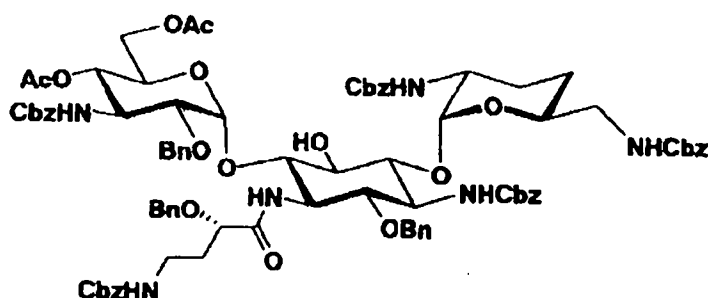
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.46 - 7.49 (m, 2H), 7.26 - 7.36 (m, 13H), 5.67 (d, 1H,  $J = 5.4$  Hz), 5.12 (bs, 2H), 4.89 (t, 1H,  $J = 9.9$ , 10.3 Hz), 4.74 - 4.50 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12.2$  Hz), 4.50 - 4.56 (m, 2H), 4.26 (dd, 1H,  $J = 5.4$ , 12.2 Hz), 4.07 (dd, 1H,  $J = 9.7$ , 10.3 Hz), 3.96 (dd, 1H,  $J = 2.2$ , 12.2 Hz), 3.77 (bs, 1H), 1.98 (s, 3H), 1.94 (s, 3H).

[0312] Etapas de producción 4-4

4'',6''-Di-O-acetil-2'',2'''-di-O-bencil-2-hidroxil-3,2',6',3''-

10 tetra-N-benciloxycarbonilarbecacina

[Fórmula química 75]



15 [0313] Proceso A: El compuesto (2.401 g, 2,14 mmol) obtenido en la etapa de producción 3-7 y 4,6-di-O-acetil-2-O-bencil-3-benciloxycarbonilamino-1,3-dideoxi-1-feniltio- $\alpha$ -D-glucopiranos (1.490 g, 2.57 mmol) la cual había sido secada bajo presión reducida por 2 h, se disolvieron en cloruro de metileno (48 ml).

20 Se adicionó a la solución el tamiz molecular 4A (polvo, 7.20 g) secado bajo presión reducida por 2 h, y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de argón a temperatura ambiente por una hora. El recipiente de la reacción se trajo a un estado protegido de la luz y se enfrió a  $-20^\circ\text{C}$ . Se le añadió N-Yodosuccinimida (1.390



g, 6.18 mmol) y ácido trifluorometansulfónico (38 ml, 0.43 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente por 2 h. Se le adicionó a la mezcla de la reacción N-Yodosuccinimida (0.700 g, 3.09 mmol) y ácido trifluorometansulfónico (19 ml, 0.22 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por dos horas más. Se añadió trietilamina (90 ml, 0.65 mmol) bajo enfriamiento en hielo para parar la reacción. Los insolubles fueron filtrados y la capa orgánica se lavó una vez con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (120 ml) y dos veces con una solución acuosa al 10% de tiosulfato de sodio y se secó sobre sulfato de magnesio. Se removi6 el solvente por destilación a presión reducida y se purific6 el residuo por cromatografía de columna sobre sílica gel (cloroformo : acetona = 10 : 1 → 7 : 1 → cloroformo : metanol = 10 : 1) para obtener el compuesto del título (2.350 g, 1.47 mmol, rendimiento: 69%).

[0314] Proceso B: Se adicion6 diclorometano (1.4 ml) al compuesto (70.0 g, 62.3 mmol) obtenido en la etapa de producción 3-7 y 4,6-Di-O-acetil-2-O-bencil-3-benciloxicarbonilamino-1,3-dideoxi-1-feniltio- $\alpha$ -D-glucopiranososa (43.3 g, 74.7 mmol, 1.2 eq.), el cual había sido secado bajo presión reducida durante la noche y el tamiz molecular 4A (polvo, 210 g) el cual había sido secado bajo presión reducida durante la noche. La mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo una atm6sfera de nitr6geno por una hora. La mezcla de la reacción se enfri6 a  $-15^{\circ}\text{C}$ . Se le adicion6 N-yodosuccinimida (67.2 g, 299 mmol, 4.8 eq) y ácido trifluorometansulfónico (1.1 ml, 12.5 mmol, 0.2 eq.) y la mezcla fue agitada bajo protección a la luz a  $-10^{\circ}\text{C}$  por 50 min. Se le adicion6 N-yodosuccinimida (33.6 g, 149 mmol, 2.4 eq.) y ácido

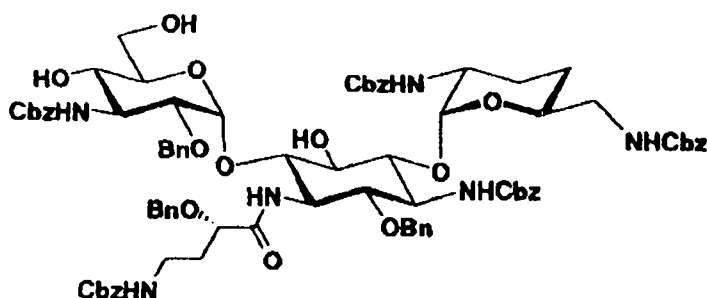
trifluorometansulfónico (0.55 ml, 6.23 mmol, 0.1 eq.) y la  
mezcla se agitó a  $-10^{\circ}\text{C}$  por 50 min más. Luego se adicionó  
triethylamina (3.47 ml, 24.9 mmol, 0.4 eq.) a la mezcla de la  
reacción para parar la reacción. Se filtraron los insolubles  
5 (lavados con 1.4 l de cloroformo) y la capa orgánica se lavó una  
vez con una solución acuosa al 10% de tiosulfato de sodio (2.8  
l) y una vez con solución acuosa al 5% de bicarbonato de sodio  
(2.8 l) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El residuo  
fue purificado por cromatografía en sílica gel para dar el  
10 compuesto del título. Solvente de desarrollo = cloroformo :  
acetona = 7/1  $\rightarrow$  5/1 (134.11 g, 84.2 mmol, rendimiento: 68%).

[0315] LCMS:  $m/z$  1593  $[\text{M} + \text{H}]^+$

$^1\text{H}$ -NMR (Piridina- $d_5$ ):  $\delta$  8.22 (d, 1H,  $J = 3.9$  Hz), 7.85 (d,  
1H,  $J = 7.6$  Hz), 7.67 - 7.77 (m, 1H), 7.13 - 7.56 (m, 40H), 7.05  
15 - 7.15 (m, 1H), 6.92 - 7.03 (m, 2H), 6.23 - 6.38 (m, 1H), 5.82  
(d, 1H,  $J = 3.2$  Hz), 5.62 (s, 1H), 5.40 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz),  
5.12 - 5.35 (m, 10H), 4.87 (ABq, 2H,  $J = 12, 12$  Hz), 4.95 (ABq,  
2H,  $J = 11$  Hz), 4.67 (q, 1H,  $J = 10, 10, 10$  Hz), 4.60 (ABq, 2H,  
 $J = 12, 12$  Hz), 3.92 - 4.58 (m, 13H), 3.37 - 3.61 (m, 4H), 2.18  
20 - 2.45 (m, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.87 (s, 3H), 1.82 - 1.96 (m, 2H),  
1.45 - 1.68 (m, 2H).

[0316] Etapas de producción 4-5

2'',2'''-Di-O-bencil-3''-deoxi-2-hidroxil-3,2',6'3''-tetra-N-  
benciloxicarbonilarbecacina



[0317] El compuesto (0.6422 g, 0.40 mmol) obtenido en la etapa de producción 4-4 se disolvió en un líquido mezclado compuesto de cloroformo (128 ml) y metanol (6.4 ml). Se adicionó a la solución 0.5 M de metóxido de sodio (solución en metanol, 0.26 ml, 0.13 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 2 h. Se le añadió ácido acético (7.4  $\mu$ l, 0.13 mmol) y la mezcla se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (40 ml). La capa acuosa se extrajo otra vez con cloroformo (40 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio. Se removi6 el solvente por destilación a presión reducida y se purific6 el residuo mediante cromatografía de columna sobre sílica gel (cloroformo : metanol = 30 : 1) para obtener el compuesto del título (0.5798 g, 0.38 mmol, rendimiento: 95%).

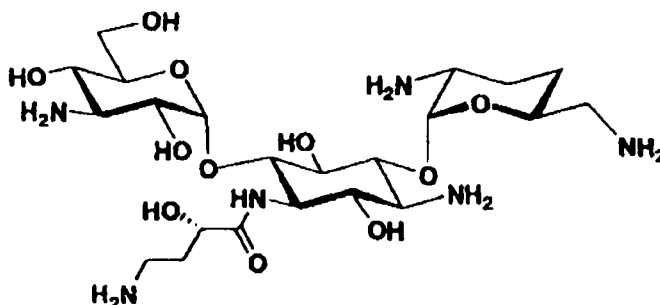
LCMS: m/z 1509  $[M + H]^+$

[0318]  $^1\text{H-NMR}$  (Piridina- $d_5$ ):  $\delta$  8.09 (d, 1H,  $J = 7.8$  Hz), 7.60 - 7.70 (m, 1H), 7.57 (d, 1H,  $J = 8.8$  Hz), 7.15 - 7.55 (m, 40H), 6.70 - 7.10 (m, 2H), 6.65 - 6.75 (m, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.47 - 5.58 (m, 3H), 5.15 - 5.35 (m, 10H), 4.93 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 11, 11$  Hz), 4.79 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12, 12\text{Hz}$ ), 4.61 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12, 12\text{Hz}$ ), 4.05 - 4.59 (m, 13H), 3.90 - 3.98 (m, 2H), 3.38 - 3.60 (m, 4H), 2.19 - 2.48 (m, 2H), 1.85 - 1.95 (m, 2H), 1.43 - 1.62 (m, 2H).

[0319] Etapa de producción 4-6

2-Hidroxiarbecacina

[Fórmula química 77]



5

[0320] El compuesto (290 mg, 0.192 mmol) obtenido en la etapa de producción 4-5 se disolvió en 6 ml de una solución de 1,4-dioxano/agua/ ácido clorhídrico 1 N = 40/19/1. Se ajustó el pH de la solución a 1.54, se le adicionó un polvo negro de paladio (145 mg) y la mezcla se agitó vigorosamente bajo una atmósfera de hidrógeno. El valor del pH del sistema de reacción alcanzó 8.50, 2 h después de haberse empezado a agitar vigorosamente. El sistema de reacción se ajustó a un pH 1.68 mediante la adición de ácido clorhídrico 1 N (860 µl) y se agitó vigorosamente bajo una atmósfera de hidrógeno por 39 h. El polvo negro de paladio se removió por filtración a través de un algodón y el catalizador se lavó con agua. El filtrado y el líquido de lavado se combinaron y se concentraron a sequedad. El residuo se disolvió en 10 ml de agua y la solución se purificó en una columna de Amberlite CG-50 (equilibrada con 0.005 M NH<sub>4</sub>OH) para dar el compuesto del título (0.1165 g, rendimiento: 72%).

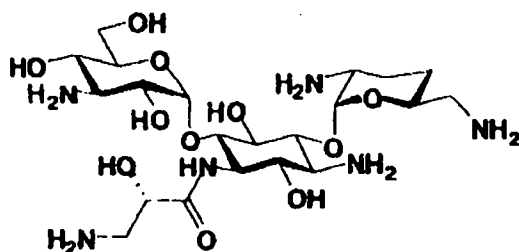
[0321] LCMS: m/z 569 [M + H]<sup>+</sup>

$^1\text{H-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  5.13 (d, 1H,  $J = 3.5$  Hz), 5.03 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.16 (dd, 1H,  $J = 4, 9.5$  Hz), 3.98 (m, 1H), 3.83 - 3.90 (m, 2H), 3.65 - 3.77 (m, 4H), 3.37 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.34 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.32 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.25 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.97 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.86 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.82 (m, 1H), 2.70 - 2.78 (m, 2H), 2.65 (dd, 1H,  $J = 5, 13$  Hz), 2.62 (dd, 1H,  $J = 7, 13$  Hz), 1.86 - 1.96 (m, 1H), 1.69 - 1.80 (m, 3H), 1.61 (dq, 1H,  $J = 4, 13, 13, 13$  Hz), 1.37 (dq, 1H,  $J = 4, 13, 13, 13$  Hz).

10 [0322] Ejemplo 5

1-N-[(S)-3-Amino-2-hidroxipropionil]-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 78]



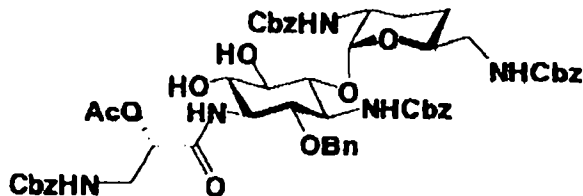
15

[0323] Etapas de producción 5-1

1-N-[(S)-2-Acetoxi-3-amino-N-benciloxicarbonilpropionil]-2-benciloxi-3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3',4'-dideoxinamina

[Fórmula química 79]

20



3/28

El ácido (S)-2-acetoxi-3-amino-N-benciloxicarbonilpropanóico (21.2 mg) producido en el Ejemplo de Referencia 2, y 43.2 mg de 2-benciloxi-3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3',4'-dideoxi-2-hidroxineamina obtenida en la etapa de producción 3-6 del ejemplo 3, se disolvieron en 0.6 ml de tetrahidrofurano. Se adicionó a la solución 2-Propanol (1.3 ml), 0.1 ml de agua y 22.4 mg de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinium (DMT-MM) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por una hora. La solución de la reacción fue concentrada bajo presión reducida, se añadieron 20 ml de cloroformo al residuo, se lavó la mezcla una vez con 15 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y tres veces con 15 ml de agua, se secó sobre una sal de Glauber y se concentró a sequedad. Se purificó el residuo con cromatografía de columna sobre sílica gel (3 g, cloroformo → cloroformo : metanol = → 100 : 1 → 100 : 5 → 10 : 1) para dar el compuesto del título (43.0 mg, rendimiento: 75%).

[0324] Valor Rf: 0.57 (cloroformo: metanol = 10 : 1)

ESIMS: m/z 1084 [M + Na]<sup>+</sup>

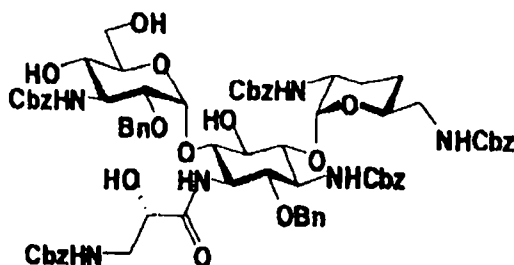
<sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 9.53(d, 1H, J = 6.5 Hz), 8.08 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.68 (d, 1H, J = 7.0 Hz), 7.49 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.21 - 7.45 (m, 26H), 5.72 (d, 1H, J = 5.8 Hz), 5.44 (d, 1H, J = 12.3 Hz), 5.39 (d, 1H, J = 12.1 Hz), 5.22 - 5.37 (m, 7H), 5.17 (d, 1H, J = 12.0 Hz), 5.02 (d, 1H, J = 10.5 Hz), 4.59 (br, 1H), 4.43 (dd, 1H, J = 8.9, 9.3 Hz), 4.29 - 4.39 (m, 3H), 4.19 - 4.22 (m, 2H), 4.08 (dd, 1H, J = 7.9, 9.3 Hz), 4.00 - 4.06 (m, 2H), 3.58 - 3.62 (m, 1H), 3.50 - 3.53 (m, 1H), 2.01 (br, 2H), 1.75 (s, 3H), 1.62 (br, 2H).

[0325] Etapa de producción 5-2

1-N-[(S)-3-Amino-N-benciloxycarbonil-2-hidroxiopropionil]-  
2,2''-di-O-bencil-3,2',6',3''-tetra-N-benciloxycarbonil-2-  
hidroxidibecacina

5

[Fórmula química 80]



[0326] El compuesto (225 mg) obtenido en la etapa de  
 10 producción 5-1 se disolvió en 7.0 ml de cloruro de metileno. El  
 compuesto (246 mg) obtenido en la etapa de producción 4-3 del  
 ejemplo 4 y 675 mg de un polvo de tamiz molecular 4A se  
 adicionaron a la solución y la mezcla se agitó durante una hora  
 a temperatura ambiente. La mezcla agitada se enfrió a  $-20^{\circ}\text{C}$  y se  
 15 le adicionaron 238 mg de N-yodosuccinimida y 5.5  $\mu\text{l}$  de ácido  
 trifluorometansulfónico y la mezcla fue agitada en condiciones  
 de protección a la luz a temperatura ambiente por 3 h. Se le  
 adicionó trietilamina (55  $\mu\text{l}$ ) bajo enfriamiento con hielo. Se  
 filtró la solución de la reacción a través de Celita y los  
 20 insolubles se lavaron con 30 ml de cloroformo. La solución así  
 obtenida se lavó una vez con 20 ml de una solución acuosa  
 saturada de bicarbonato de sodio y dos veces con 15 ml de una  
 solución acuosa al 10% de tiosulfato de sodio, se secó sobre sal  
 de Glauber y se concentró a sequedad. El residuo se purificó por  
 25 cromatografía de columna en sílica gel (16 g, cloroformo :

con hielo, se diluyó la mezcla con 20 ml de cloroformo y la solución de dilución fue lavada con 10 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, se secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad. Se purificó el residuo por  
5 cromatografía de columna sobre sílica gel (20 g, cloroformo → cloroformo : metanol = 99 : 1 → 97 : 3) para dar el compuesto del título (141 mg, rendimiento: 47%).

[0329] Valor Rf: 018 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3)

<sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 8.81 (d, 1H, J = 6.6 Hz), 8.40 (d, 1H, J  
10 = 7.5 Hz), 8.31 (d, 1H, J = 7.4 Hz), 7.91 (br, 1H), 7.65 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.22 - 7.51 (m, 36H), 5.78 (d, 1H, J = 5.8 Hz), 5.73 (d, 1H, J = 6.1 Hz), 5.44 (d, 1H, J = 12.1 Hz), 5.39 (d, 1H, J = 12.1 Hz), 5.18 - 5.38 (m, 10H), 5.11 (m, 1H), 5.07 (d, 1H, J = 10.5 Hz), 5.01 (d, 1H, J = 11.8 Hz), 4.94 (d, 1H, J =  
15 10.5 Hz), 4.78 (br, 1H), 4.69 - 4.75 (m, 4H), 4.45 (br, 1H), 4.42 (dd, 1H, J = 8.5, 9.2 Hz), 4.37 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 4.29 (dd, 1H, J = 7.7, 8.9 Hz), 4.26 (dd, 1H, J = 7.9, 9.5 Hz), 4.00 - 4.05 (m, 2H), 3.82 - 3.89 (m, 2H), 3.58 - 3.62 (m, 1H), 3.49 - 3.53 (m, 1H), 1.93 - 2.00 (m, 2H), 1.58 (br, 2H).

20 [0330] ESIMS: m/z 1427 [M + Na]<sup>+</sup>

[0331] Etapas de producción 5-3

1-N-[(S)-3-Amino-2-hidroxiopropionil]-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 81]



acetato de etilo = 30 : 1 → 20 : 1 → cloroformo : metanol = 20 : 1 → 10 : 1) para dar 320 mg de un producto crudo que contiene 4'',6''-di-O-acetil-1-N-[(S)-2-acetoxi-3-amino-N-benciloxicarbonilopropionil]-2,2''-di-O-bencil-3,2',6'3''-tetra-N-benciloxicarbonil-2-hidroxidibecacina como un producto previsto.

Valor Rf: 0.56 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3): del producto previsto

ESIMS: m/z 1553 [M + Na]<sup>+</sup> : producto previsto

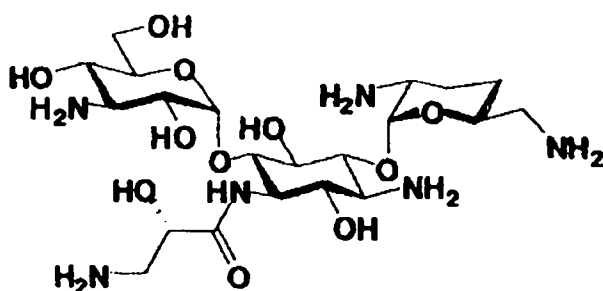
[0327] El producto crudo (320 mg) se disolvió en 6.0 ml de metanol. Se añadió borohidruro de sodio (7.1 mg) a la solución bajo enfriamiento con hielo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por una hora. Se le añadió acetona (0.5 ml) bajo enfriamiento con hielo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 15 min. Se diluyó luego la mezcla con 30 ml de cloroformo, se adicionaron 20 ml de agua a la solución diluida y a continuación se separó. La capa orgánica se secó sobre sal de Glauber y luego se concentró a sequedad para dar 272 mg de un producto crudo

(4'',6''-di-O-acetil-1-N-[(S)-2-acetoxi-3-amino-N-benciloxicarbonilopropionil]-2,2''-di-O-bencil-3,2',6'3''-tetra-N-benciloxicarbonil-2-hidroxidibecacina).

Valor Rf: 0.56 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3)

ESIMS: m/z 1553 [M + Na]<sup>+</sup>

[0328] El producto crudo (272 mg) se disolvió en 5.4 ml de cloroformo y 2.7 ml de metanol. Se adicionó a la solución, bajo enfriamiento con hielo, una solución al 28% (9 µl) de metóxido de sodio en metanol y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 2 h. Se le adicionó ácido acético (0.1 ml) bajo enfriamiento



[0332] El compuesto (141 mg) obtenido en la etapa de producción 5-2 se disolvió en 7 ml de tetrahidrofurano : agua : ácido acético (4 : 1 : 1). A continuación se adicionaron siete gotas de negro de paladio /agua como catalizador, y la mezcla fue agitada vigorosamente a temperatura ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno por 13 h en las cuales se reemplazó el catalizador una vez en el período de 13-h. La solución de la reacción fue filtrada a través de algodón, y el licor madre se concentró a presión reducida. Se adicionó agua al residuo, y la solución fue concentrada otra vez a sequedad bajo presión reducida. Se disolvió el residuo en 5 ml de agua. Se neutralizó la solución con amoníaco acuoso 0.1 M y se cargó en una columna de Amberlite CG-50 (equilibrada con amoníaco acuoso 0.005 M, 5 ml), y la columna se lavó con solución de amoníaco acuoso 0.005 M (5 ml). Se llevó a cabo la elusión con amoníaco acuoso 0.10 M → 0.25 M → 0.50 M → 0.75 M (10 ml cada uno). Las fracciones correspondientes fueron concentradas a sequedad para obtener el compuesto del título (1.5 carbonato 0.75 hidrato, 47 mg (71%)).

[0333] Valor RF: 018 (cloroformo : metanol : 28% amoníaco acuoso : etanol = 4 : 6 : 7 : 2)

$^1\text{H-NMR}$  (DCI-D<sub>2</sub>O, pD ~3):  $\delta$  5.86 (d, 1H,  $J$  = 3.4 Hz), 5.17 (d, 1H,  $J$  = 3.8 Hz), 4.56 (dd, 1H,  $J$  = 4.4, 7.8 Hz), 4.25 (dt, 1H,

4.0, 12.5), 4.16 (t, 1H, J = 10.1 Hz), 4.13 (t, 1H, J = 10.0 Hz), 4.05 (m, 1H), 3.97 (dd, 1H, J = 1.9, 8.9 Hz), 3.94 (dd, 1H, J = 1.8, 9.6 Hz), 3.88 (dd, 1H, J = 3.1, 8.9 Hz), 3.77 - 3.84 (m, 3H), 3.72 (t, 1H, J = 10.1 Hz), 3.60 - 3.64 (m, 1H), 3.49 (t, 1H, J = 10.5 Hz), 3.37 - 3.45 (m, 2H), 3.33 (dd, 1H, J = 2.1, 8.0 Hz), 3.27 (dd, 1H, J = 1.9, 6.5 Hz), 3.16 (dd, 1H, J = 6.9, 13.4 Hz), 2.07 - 2.13 (m, 2H), 1.92 - 1.98 (m, 1H), 1.60 - 1.66 (m, 1H).

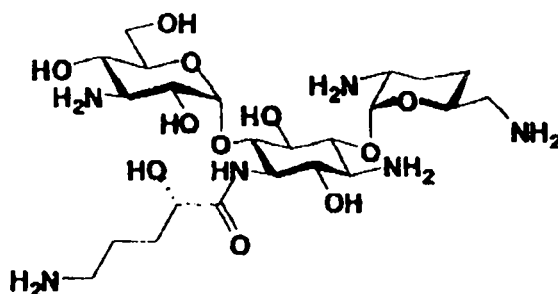
[0334]  $^{13}\text{C}$ -NMR (DCl-D<sub>2</sub>O, pD ~3):  $\delta$  174.06, 98.72, 95.19, 78.33, 74.95, 74.57, 72.41, 68.23, 68.06, 67.55, 66.38, 65.89, 60.10, 55.83, 55.50, 55.19, 49.07, 42.92, 42.22, 25.65, 20.84.

Calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_{11} \cdot 1.5\text{H}_2\text{CO}_3 \cdot 0.75\text{H}_2\text{O}$ : C, 40.87; H, 7.09; N, 12.71. Encontrado. C, 40.99; H, 7.07; N, 12.65.

[0335] Ejemplo 6

15 1-N-[(S)-5-Amino-2-hidroxipentanoil]-2-hidroxidibecacina

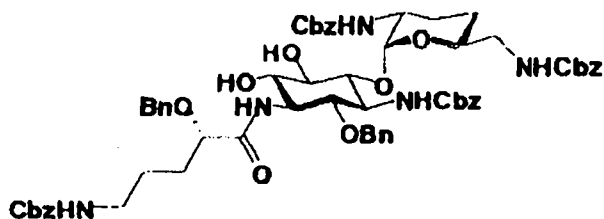
[Fórmula química 82]



20 [0336] Etapas de producción 6.1

1-N-[(S)-5-Amino-N-benciloxi-N-benciloxicarbonilpentanoil]-2-benciloxi-3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3',4'-dideoxineamina

[Fórmula química 83]



[0337]

5 El ácido (S)-5-Amino-2-benciloxi-N-benciloxicarbonilpentanóico (10 mg) producido en el Ejemplo de referencia 3, y 22 mg de 2-benciloxi-3,2',6'-tri-N-benciloxicarbonil-3',4'-dideoxi-2-hidroxineamina obtenida en la etapa de producción 3-6 del Ejemplo 3 se disolvieron en 0.33 ml de tetrahidrofurano. Se  
 10 adicionó a la solución 2-Propanol (0.70 ml, agua 40 µl) y 9 mg de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinium (DMT\_MM) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 2 h. La solución de la reacción se concentró bajo presión reducida. Se adicionó cloroformo (20 ml) al residuo y se  
 15 lavó la solución una vez con 10 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y tres veces con 10 ml de agua, se secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad. El residuo fue purificado por cromatografía de columna sobre sílica gel (5 g, cloroformo → ~~cloroformo~~ : metanol = 99 : 1 → 97 :  
 20 3 → 10 : 1) para dar el compuesto del título (22 mg, rendimiento: 72%)

[0338] Valor Rf: 0.60 (cloroformo : metanol = 10 : 1)

ESIMS: m/z 1160 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 8.66 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 8.43 (d, 1H, J  
 25 = 7.2 Hz), 8.11 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 7.87 (br, 1H), 7.70 (br,

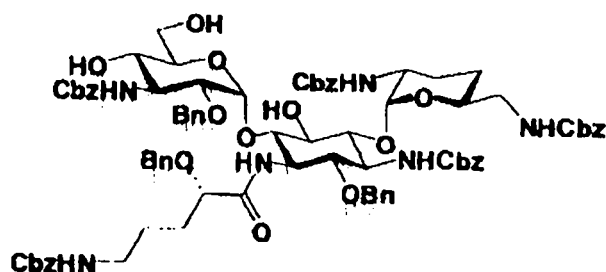
1H), 7.60 (d, 2H,  $J = 7.4$  Hz), 7.39 - 7.51 (m, 8H), 7.21 - 7.31 (m, 20H), 5.79 (d, 1H,  $J = 5.8$  Hz), 5.41 (d, 1H,  $J = 12.5$  Hz), 5.38 (d, 1H,  $J = 9.9$  Hz), 5.31 - 5.35 (m, 2H), 5.28 (br, 2H), 5.21 (d, 1H,  $J = 12.5$  Hz), 5.03 - 5.19 (m, 4H), 4.78 (d, 1H,  $J = 11.8$  Hz), 4.65 (q, 1H,  $J = 9.4$  Hz), 4.52 (t, 1H,  $J = 9.5$  Hz), 4.49 (d, 1H,  $J = 11.8$  Hz), 4.37 (br, 2H), 4.19 - 4.22 (m, 1H), 4.17 (t, 1H,  $J = 7.3$  Hz), 4.10 (t, 1H,  $J = 7.7$  Hz), 4.06 (dd, 1H,  $J = 7.7, 9.6$  Hz), 3.60 - 3.67 (m, 1H), 3.52 - 3.55 (m, 1H), 3.34 (m, 2H), 2.13 (br, 2H), 1.99 - 2.09 (m, 3H), 1.90 (dt, 1H,  $J = 5.9, 8.0$  Hz), 1.62 (br, 2H).

[0339] Etapas de producción 6-2

1-N-[(S)-5-Amino-2-benciloxi-N-benciloxicarbonilpentanoil]-2,2''-di-O-bencil-3,2',6',3''-tetra-N-benciloxicarbonil-2-hidroxidibecacina

15

[Fórmula química 84]



[0340] El compuesto (350 mg) obtenido en la etapa de producción 6-1 fue disuelto en 8.8 ml de cloruro de metileno. El compuesto (364 mg) obtenido en la etapa de producción 4-3 del Ejemplo 4 y 1000 mg de polvo de tamiz molecular 4A se adicionaron a la solución y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por una hora. La solución de la reacción se enfrió a  $-20^{\circ}\text{C}$ , se adicionaron 350 mg de N-yodosuccinimida y 8.1  $\mu\text{l}$  de ácido

trifluorometansulfónico a la solución enfriada, y la mezcla se agitó bajo condiciones de protección a la luz a temperatura ambiente por 5 h. Se le añadió trietilamina (8.1 µl) bajo enfriamiento con hielo y la mezcla de la reacción fue filtrada a través de Celita. Los insolubles fueron lavados con 20 ml de cloroformo. La solución así obtenida se lavó una vez con 15 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y dos veces con 15 ml de una solución acuosa al 10% de tiosulfato de sodio, se secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad.

10 El residuo fue purificado por cromatografía de columna sobre sílica gel (25 g, cloroformo : acetato de etilo = 4 : 1 → cloroformo : metanol : 20 : 1 → 10 : 1) para dar 467 mg de un producto crudo que contenía (4'',6''-di-O-acetil-1-N-[(S)-5-amino-2-benciloxi-N-benciloxicarbonilpentanoil]-2,2''-di-O-bencil-3,2',6',3''-tetra-N-benciloxicarbonil-2-hidroxidibecacina) como un producto previsto.

Valor Rf: 0.51 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3):  
producto previsto

ESIMS: m/z 1630 [M + Na]<sup>+</sup>: producto previsto

20 [0341] Se disolvió el producto crudo (467 mg) en 9.3 ml de metanol, se adicionó 20 mg de borohidruro de sodio bajo enfriamiento con hielo, a temperatura ambiente por 1.5 h(sic). Se le adicionó (1.0 ml) de acetona bajo enfriamiento con hielo, se agitó la mezcla a temperatura ambiente por 15 min y la mezcla fue diluida con 50 ml de cloroformo. Se le adicionó agua (25 ml) seguida por separación. La capa orgánica se secó sobre sal de Glauber y luego se concentró a sequedad para dar 381 mg de un producto crudo (4'',6''-di-O-acetil-1-N-[(S)-5-amino-2-benciloxi-

N-benciloxicarbonilpentanoil]-2,2''-di-O-bencil-3,2',6',3''-tetra-  
N-benciloxicarbonil-2-hidroxidibecacina.

Valor Rf: 0.51 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3)

ESIMS: m/z 1630 [M + Na]<sup>+</sup>

5 [0342] El producto crudo (381 mg) se disolvió en 7.6 ml de  
cloroformo y 3.8 ml de metanol. Una solución al 28% (13 µl) de  
metóxido de sodio en metanol se añadió a la solución bajo  
enfriamiento con hielo y se dejó que la reacción ocurriera a  
temperatura ambiente por 2 h. Se le adicionó ácido acético (0.1  
10 ml) bajo enfriamiento con hielo y la mezcla fue diluida con 25  
ml de cloroformo. A continuación la solución diluida se lavó con  
15 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio,  
se secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad. El  
residuo fue purificado por cromatografía de columna sobre sílica  
15 gel (30g, cloroformo → cloroformo : metanol = 99 : 1 → 97 : 3)  
para dar 229 mg del compuesto del título (rendimiento: 49%).

[0343] Valor Rf: 0.22 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3)

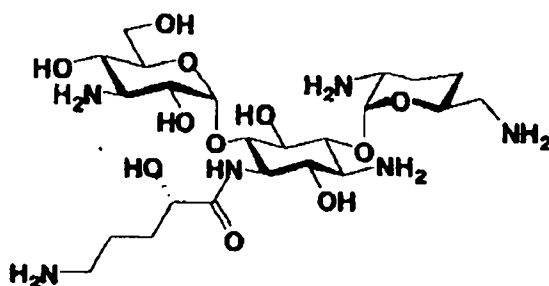
ESIMS: m/z 1545 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 8.69 (br, 1H), 8.38 (d, 1H, J = 7.9  
20 Hz), 7.65 - 7.72 (m, 2H), 7.60 (br, 4H), 7.20 - 7.52 (m, 38H),  
5.78 (br, 1H), 5.72 (d, 1H, J = 6.1 Hz), 5.20 - 5.39 (m, 13H),  
5.09 - 5.11 (m, 1H), 5.05 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 5.01 (t, 1H, J =  
8.0 Hz), 4.89 (d, 1H, J = 12.1 Hz), 4.68 - 4.80 (m, 6H), 4.48  
(d, 1H, J = 12.1 Hz), 4.15 - 4.34 (m, 5H), 4.06 (br, 2H), 3.93  
25 (br, 1H), 3.88 (t, 1H, J = 8.1 Hz), 3.52 - 3.59 (m, 1H), 3.31 -  
3.37 (m, 1H), 1.87 - 2.20 (m, 5H), 1.78 (br, 1H), 1.62 (br, 2H).

[0344] Etapas de producción 6-3

1-N-[(S)-5-Amino-2-hidroxipentanoil]-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 85]



5 [0345] El compuesto (229 mg) obtenido en la etapa de  
 producción 6-2 fue disuelto en 9.2 ml de 1,4-dioxano : agua :  
 ácido clorhídrico 1 N (40 : 19 : 1) y se adicionaron como  
 catalizador seis gotas de negro de paladio/agua. La mezcla fue  
 agitada vigorosamente a temperatura ambiente bajo una atmósfera  
 10 de gas hidrógeno por 14 h. En este caso, el catalizador se  
 reemplazó una vez durante el período de 14 h. Como paró el  
 progreso de la reacción, la solución de la reacción fue filtrada  
 a través de un algodón, se añadieron 6 ml de una solución acuosa  
 saturada de bicarbonato de sodio seguida por separación con 9  
 15 ml de acetato de etilo. La capa acuosa fue extraída nuevamente  
 con 9 ml de acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron,  
 se secaron sobre sal de Glauber y fueron concentradas a  
 sequedad. El residuo fue disuelto (161 mg) en 8 ml de  
 tetrahidrofurano : agua : ácido acético (4 : 1 : 1). Se adicionó  
 20 negro de paladio/agua (nueve gotas) como catalizador y la mezcla  
 se agitó vigorosamente bajo una atmósfera de gas hidrógeno a  
 temperatura ambiente por 19 h. En este caso, el catalizador se  
 reemplazó tres veces en el período de 19 h. La solución de la  
 reacción se filtró a través de un algodón y el licor madre se  
 25 concentró a presión reducida. A continuación se agregó agua



nuevamente y la mezcla fue concentrada bajo presión reducida otra vez. El residuo fue disuelto en 5 ml de agua. La solución fue neutralizada con amoníaco acuoso 0.1 M y se cargó en una columna de Amberlita CG-50 (balanceada con amoníaco acuoso 0.005 M, 5 ml), y la columna se lavó con amoníaco acuoso 0.005 M (5 ml). Se llevó a cabo la elución con amoníaco acuoso 0.10 M → 0.25 M → 0.59 M → 0.75 M (10 ml de cada uno). Las fracciones correspondientes fueron concentradas a sequedad para dar 48 mg (41%) del compuesto del título (2.25 carbonato 2.75 hidrato).

10 [0346] Valor Rf: 0.20 (cloroformo : metanol : amoníaco acuoso al 28% : etanol = 4 : 6 : 7 : 2)

$^1\text{H-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  5.05 (d, 1H,  $J = 3.3$  Hz), 4.95 (d, 1H,  $J = 3.75$  Hz), 4.02 (dd, 1H,  $J = 3.3, 8.0$  Hz), 3.89 (dt, 1H, 2.0, 8.1), 3.81 (t, 1H,  $J = 10.1$  Hz), 3.75 - 3.79 (m, 1H), 3.61 - 3.70 (m, 4H), 3.29 (t, 1H,  $J = 10.2$  Hz), 3.24 (t, 1H,  $J = 10.2$  Hz), 3.21 (t, 1H,  $J = 10.4$  Hz), 3.17 (t, 1H,  $J = 9.8$  Hz), 2.88 (t, 1H,  $J = 10.0$  Hz), 2.78 (t, 1H,  $J = 10.0$  Hz), 2.75 (dt, 1H,  $J = 1.7, 12.0$  Hz), 2.51 - 2.59 (m, 4H), 1.70 - 1.79 (m, 1H), 1.59 - 1.66 (m, 2H), 1.42 - 1.57 (m, 4H), 1.25 - 1.32 (m, 1H).

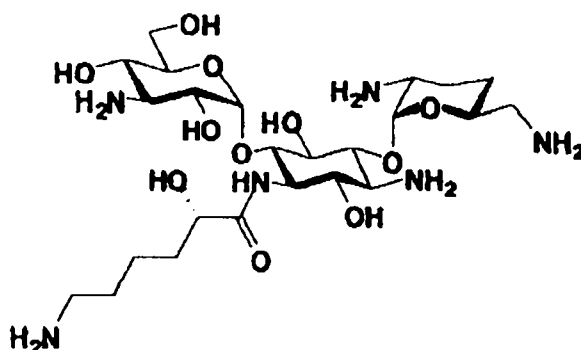
20 [0347]  $^{13}\text{C-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  178.16, 102.70, 99.16, 83.44, 78.36, 75.58, 72.92, 72.59, 72.26, 72.11, 71.48, 70.07, 61.08, 57.19, 56.63, 56.27, 54.97, 50.89, 45.99, 41.06, 32.03, 28.42, 26.94

Calculado para  $\text{C}_{23}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_{11} \cdot 2.25\text{H}_2\text{CO}_3 \cdot 2.75\text{H}_2\text{O}$ : C, 39.30; H, 7.31; N, 10.89. Encontrado. C, 39.08 H, 7.14; N, 11.05.

[0348] Ejemplo 7

1-N-[(S)-6-Amino-2-hidroxihexanoil]-2-hidroxidibecacina

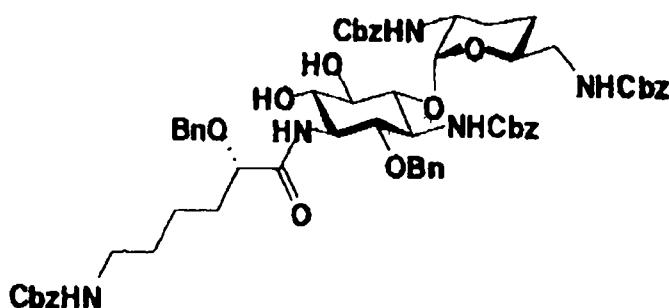
[Fórmula química 86]



5 [0349] Etapa de producción 7-1

1-N-[(S)-6-Amino-N-benciloxi-N-benciloxycarbonilhexanoil]-2-benciloxi-3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3',4'-dideoxineamina

[Fórmula química 87]



10

[0350]

El ácido(S)-6 Amino-2-benciloxi-N-benciloxycarbonilhexanóico (160 mg) obtenido en el Ejemplo de Referencia 4, y 344 mg de 2-benciloxi-3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3',4'-dideoxi-2-hidroxineamina producida en la etapa de producción 3-6 del Ejemplo 3, fueron disueltos en 5.2 ml de tetrahidrofurano. 2-Propanol (10.3 ml), 0.7 ml de agua y 155 mg de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinium (DMT-MM) se adicionaron a la solución y la mezcla fue agitada a

20

temperatura ambiente por 2 h. La solución de la reacción se concentró a presión reducida. Se agregó cloroformo (50 ml) al residuo y la mezcla fue lavada una vez con 25 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y tres veces con 20 ml de agua, fue secada sobre sal de Glauser y concentrada a sequedad. Se purificó el residuo por cromatografía de columna sobre sílica gel (25 g, hexano : acetato de etilo = 3 : 1) para dar el compuesto del título (355 mg, rendimiento: 72%)

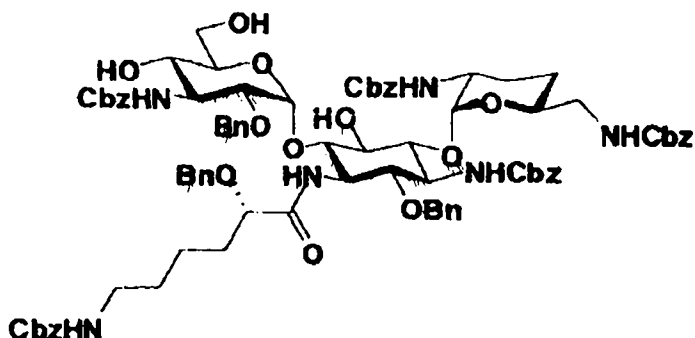
Valor Rf: 0.62 (cloroformo : metanol = 10 : 1)

10 ESIMS: m/z 1174 [M + Na]<sup>+</sup>

[0351] Etapa de producción 7-2

1-N-[(S)-6-Amino-N-benciloxi-N-benciloxicarbonilhexanoil]-2,2''-O-bencil-3,2',6',3''-tetra-N-benciloxicarbonil-2-hidroxidibecacina)

15 [Fórmula química 88]



[0352] El compuesto (350 mg) obtenido en la etapa de producción 7-1 fue disuelto en 8.8 ml de cloruro de metileno. El compuesto (352 mg) obtenido en la etapa de producción 4-3 del Ejemplo 4 y 1000 mg de un polvo del tamiz molecular 4A se adicionaron a la solución y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por una hora. La solución de la reacción fue enfriada a

-20°C. Se adicionaron N-yodosuccinimida (341 mg) y 7.9 µl de ácido trifluorometansulfónico a la solución enfriada. La mezcla se agitó bajo condiciones de protección a la luz a temperatura ambiente por 3 h. Se le añadió trietilamina (79 µl) bajo enfriamiento por hielo. Se filtró la mezcla de la reacción a través de Celita y los insolubles se lavaron con 20 ml de cloroformo. La solución así obtenida fue lavada una vez con 15 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y dos veces con 15 ml de una solución acuosa al 10% de tiosulfato de sodio, se secó sobre sal de Glauser y luego se concentró a sequedad. El residuo fue purificado por cromatografía de columna sobre sílica gel (25 mg, cloroformo : acetato de etilo = 4 : 1 → cloroformo : metanol = 20 : 1 → 10 : 1) para dar 433 mg de un producto crudo que contiene

4'',6''-O-acetil-1-N-[(S)-6-amino-2-benciloxi-N-benciloxicarbonilhexanoil]-2,2''-O-bencil-3,2',6',3''-tetra-N-benciloxicarbonil-2-hidroxidibecacina como producto previsto.

Valor Rf: 0.51 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3) : producto previsto

ESIMS: m/z 1643 [M + Na]<sup>+</sup>: producto previsto

[0353] El producto crudo (433 mg) fue disuelto en 8.7 ml de metanol. Se adicionó borohidruro de sodio (19 mg) a la solución bajo enfriamiento con hielo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 1.5 h. Se le adicionó acetona (1.0 ml) bajo enfriamiento con hielo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 15 min. A continuación, la mezcla de la reacción fue diluida con 50 ml de cloroformo. Se le adicionó agua (25 ml) y a continuación se separó. La capa orgánica se secó sobre sal

de Glauser y luego se concentró a sequedad para dar 357 mg de un producto crudo (4'',6''-O-acetil-1-N-[(S)-6-amino-2-benciloxi-N-benciloxi-carbonilhexanoil]-2,2''-O-bencil-3,2',6',3''-tetra-N-benciloxicarbonil-2-hidroxidibecacina).

5 ESIMS: m/z 1643 [M + Na]<sup>+</sup>

[0354] Se disolvió el producto crudo (357) en 7.2 ml de cloroformo y 3.6 ml de metanol. A la solución se le adicionó, bajo enfriamiento con hielo, una solución al 28% de metóxido de sodio- metanol (13 µl) y la mezcla fue agitada a temperatura  
10 ambiente por 2 h. Se le agregó ácido acético (0.5 ml) bajo enfriamiento con hielo y la mezcla fue diluida con 25 ml de cloroformo. La solución diluida se lavó con 15 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, se secó sobre sal de Glauser y se concentró a sequedad. Se purificó el  
15 residuo por cromatografía de columna sobre sílica gel (28 g, cloroformo → cloroformo : metanol = 99 : 1 → 97 : 3) para el compuesto del título (207 mg, rendimiento: 44%).

[0355] Valor R<sub>f</sub>: 0.22 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3)

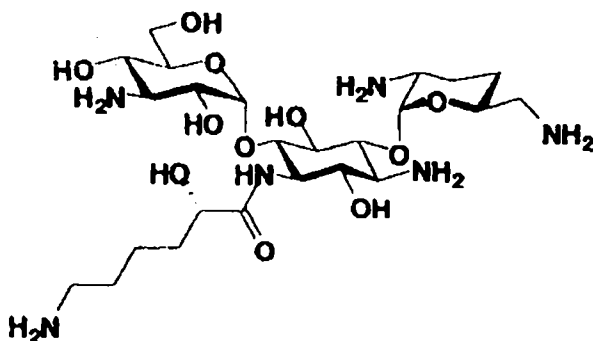
ESIMS: m/z 1560 [M + Na]<sup>+</sup>

20 <sup>1</sup>H-NMR (Piridina-d<sub>5</sub>): δ 8.39 (d, 1H, J = 7.9 Hz), 7.76 (d, 1H, J = 8.9 Hz), 7.63 (br, 2H), 7.21 - 7.55 (m, 42H), 5.81 (br, 1H), 5.74 (br, 1H), 5.40 (b3, 1H), 5.33 - 5.38 (m, 3H), 5.36 (t, 1H, J = 6.4 Hz), 5.21 - 5.27 (m, 3H), 5.19 (d, 1H, J = 11.9 Hz), 4.79 - 5.08 (m, 8H), 4.75 (d, 1H, J = 11.9 Hz), 4.69 (d, 1H, J =  
25 11.9 Hz), 4.22 - 4.51 (m, 8H), 3.95 - 4.13 (m, 4H), 3.50 - 3.61 (m, 2H), 3.27 (br, 2H), 2.02 (br, 2H), 1.94 (br, 2H), 1.42 - 1.64 (m, 6H).

[0356] Etapas de producción 7-3

1-N-[(S)-6-Amino-2-hidroxihexanoil]-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 89]



5

[0357] El compuesto obtenido (180 mg) en la etapa de producción 7-2 fue disuelto en 9.0 ml de tetrahidrofurano : agua : ácido acético (4 : 1 : 1). Se agregó a la solución Negro de paladio/agua (nueve gotas) como catalizador y la mezcla fue agitada vigorosamente bajo una atmósfera de gas hidrógeno a temperatura ambiente por 33 h. En este caso, el catalizador fue reemplazado seis veces durante el período de 33 h. La solución de la reacción fue filtrada a través de un algodón y el licor madre se concentró a presión reducida. A continuación, se agregó agua nuevamente al residuo y la solución fue concentrada nuevamente a presión reducida. El residuo fue disuelto en 5 ml de agua. La solución fue neutralizada con amoníaco acuoso 0.1 M y se cargó en una columna de Amberlita CG-50 (equilibrada con amoníaco acuoso 0.005 M, 5 ml) y la columna se lavó con amoníaco acuoso 0.005 M (5 ml). Se llevó a cabo la elución con amoníaco acuoso 0.10 M → 0.25 M → 0.50 M → 0.75 M , (10 ml de cada uno) y las fracciones correspondientes fueron concentradas

15

10

20

[0358]  $^1\text{H-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  5.16 (d, 1H,  $J = 3.2$  Hz), 5.05 (d, 1H,  $J = 3.3$  Hz), 4.05 (dd, 1H,  $J = 3.5, 8.8$  Hz), 4.00 (d, 1H, 9.8), 3.90 (t, 1H,  $J = 9.8$  Hz), 3.82 - 3.87 (m, 1H), 3.69 - 3.79 (m, 4H), 3.40 (t, 1H,  $J = 9.2$  Hz), 3.29 - 3.37 (m, 2H), 3.27 (t, 1H,  $J = 9.8$  Hz), 2.98 (t, 1H,  $J = 10.0$  Hz), 2.88 (t, 1H,  $J = 9.8$  Hz), 2.85 (dt, 1H,  $J = 4.0, 12.1$  Hz), 2.61 - 2.70 (m, 4H), 1.71 - 1.83 (m, 3H), 1.59 - 1.69 (m, 2H), 1.33 - 1.56 (m, 5H).

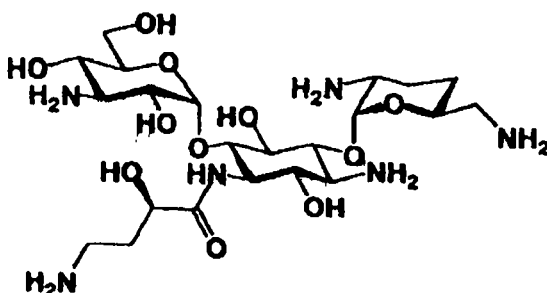
Calculado para  $C_{24}H_{48}N_6O_{11} \cdot 1.5H_2CO_3 \cdot 3H_2O$ : C, 41.18; H, 7.72; N, 11.30.

Encontrado. C, 41.20; H, 7.73; N, 11.43.

[0360] Ejemplo 8

1-N-[(R)-4-Amino-2-hidroxibutiril]-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 90]

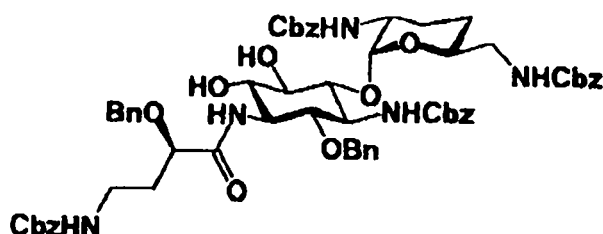


[0361] Etapas de producción 8-1

2-O-Bencil-1-N-[2-(R)-O-bencil-4-benciloxycarbonilaminobutiril]-3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3',4'-dideoxi-2-hidroxineamina

5

[Fórmula química 91]



[0362]

2-Benciloxi-3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3',4'-dideoxi-  
 10 2-hidroxineamina (420 mg) que fue obtenido en la etapa de  
 producción 3-6 del Ejemplo 3 y 216 mg de Ácido (R)-2-benciloxi-  
 4-benciloxycarbonilaminobutírico producido en el Ejemplo de  
 Referencia 5, fueron disueltos en 18 ml de un solvente (2-  
 propanol : tetrahidrofurano : agua = 30 : 10 : 3). Se le  
 15 adicionó a la solución cloruro de 4-(4,6-Dimetoxi-1,3,5-triacin-  
 2-il)-4-metilmorfolinium (en adelante referido como "DMT-MM")  
 (218 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. Se agregó  
 DMT-MM (146 mg) dos horas después de haberse empezado a agitar,  
 y la mezcla fue agitada; después de 3.5 h la mezcla de la  
 20 reacción fue concentrada a sequedad. Se adicionó cloroformo (50  
 ml) al residuo y la solución fue lavada una vez con 25 ml de una  
 solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y dos veces con  
 agua. La solución lavada se secó sobre sulfato de magnesio y se  
 concentró a sequedad para dar 686 mg de un producto crudo. El  
 25 producto crudo se purificó por cromatografía de columna sobre



405

sílica gel (50 g, cloroformo  $\rightarrow$  cloroformo : metanol = 99 : 1  $\rightarrow$  97 : 3  $\rightarrow$  95 : 5  $\rightarrow$  10 : 1) para dar el compuesto del título (528 mg, 85%).

[0363] Valor Rf: 0.71 (cloroformo : metanol = 10 : 1)

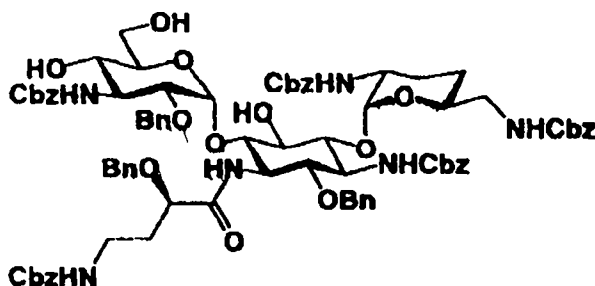
5 ESIMS: m/z 1146 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR(Piridina-d<sub>5</sub> a 80 °C):  $\delta$  8.04 (d, 1H, J = 7 Hz), 7.55 (br. d, 1H, J = 6 Hz), 7.12 - 7.50 (31H), 7.00 (br. s, 1H), 6.82 (br. s, 1H), 5.64 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.29 (s, 2H), 5.10 - 5.27 (4H), 4.95 (s, 2H), 4.50 - 4.80 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 11.5 Hz), 4.36 (t, 1H, J = 8.8 Hz), 4.28 (m, 1H), 4.20 - 4.25 (3H), 4.16 (t, 1H, J = 9.9 Hz), 4.08 (t, 1H, J = 9.9 Hz), 3.98 (m, 1H), 3.91 (t, 1H, J = 11, 11 Hz), 3.37 - 3.60 (m, 4H), 2.12 - 2.30 (m, 2H), 1.85 - 2.00 (m, 2H), 1.43 - 1.68 - (m, 2H).

[0364] Etapas de producción 8-2

15 2.2''-Di-O-bencil-1-N-[2-(R)-O-bencil-4-benciloxicarbonilaminobutiril]-3,2',6',3''-tetra-N-benciloxicarbonil-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 92]



20

[0365] El compuesto (497 mg) obtenido en la etapa de producción 4-3 del Ejemplo 4 y 482 mg del compuesto obtenido en la etapa de producción 8-1 se disolvieron en 20 ml de cloruro de

metileno. Se añadió tamiz molecular 4A en polvo (1.445 g) a la solución, y la mezcla se agitó bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente por 2 h. N-Yodosuccinimida (482 mg) y 7.6 µl de ácido trifluorometansulfónico se agregaron a la solución

5 agitada a -20°C con agitación. La mezcla de la reacción fue retornada a temperatura ambiente y agitada bajo condiciones de protección a la luz por 2 h. El compuesto (248 mg) obtenido en la etapa de producción 4-3 del Ejemplo 4, 241 mg de N-yodosuccinimida, y 3.8 µl de ácido trifluorometansulfónico se

10 agregaron a la solución de la reacción tres horas después de comenzar a agitar, y , después de 4 h, se le añadió 27 µl de trietilamina bajo enfriamiento con hielo. La mezcla fue filtrada con Celita para remover los insolubles. Los insolubles fueron lavados con 40 ml de cloroformo. Las capas orgánicas combinadas

15 fueron lavadas una vez con 50 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, tres veces con 50 ml de solución acuosa al 10% de tiosulfato de sodio y dos veces con 50 ml de agua, se secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad. El residuo fue purificado por cromatografía de columna sobre sílica gel

20 (130 g, cloroformo : acetona = 10 : 1 → 7 : 1 → 3 : 1) para dar 530 mg de un producto crudo que contiene 4'',6''-di-O-acetil-2,2''-di-O-bencil-1-N-[2-(R)-O-bencil-4-benciloxicarbonilaminobutiril]-3,2',6',3''-tetra-N-benciloxicarbonil-2-hidroxidibecacina como producto previsto.

25 Valor Rf: 0.42 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3): producto previsto

ESIMS: m/z 1615 [M + Na]<sup>+</sup> : producto previsto

40+

[0366] El producto crudo (527 mg) fue disuelto en 10.5 ml de metanol. Se adicionó borohidruro de sodio (24.2 mg) a la solución agitando bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por una hora. Se le añadió acetona  
5 (0.38 ml) bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente por 30 min. La mezcla de la reacción se concentró bajo presión reducida. El residuo fue disuelto en 50 ml de cloroformo, y la solución fue lavada tres veces con 25 ml de agua, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a  
10 sequedad para obtener 524 mg de un producto crudo (4'',6''-di-O-acetil-2,2''-di-O-bencil-1-N-[2-(R)-O-bencil-4-benciloxicarbonilaminobutiril]-3,2',6',3''-tetra-N-benciloxicarbonil-2-hidroxidebecacina).

El valor Rf: 0.42 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3) ESIMS:  
15 m/z 1615 [M + Na] +

[0367] Cloroformo (10.5mL), 5 ml de metanol, y una solución al 28% de sodio metóxido-metanol (21.2 mg)/metanol (0.24 ml) se agregaron al producto crudo, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. El ácido acético (6.3 µl) se adicionó a esto 2.5 h  
20 después de comenzar a agitar, y la mezcla fue lavada con 30 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La capa acuosa fue nuevamente extraída con 30 ml de cloroformo. Las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre sulfato de magnesio y concentradas a sequedad. El residuo se purificó por  
25 cromatografía de columna sobre sílica gel (50 g, cloroformo : metanol = 30 : 1) para dar el compuesto del título (337.5 mg, rendimiento: 50%).

[0368] Valor Rf: 0.56 (cloroformo : metanol = 10 : 1)

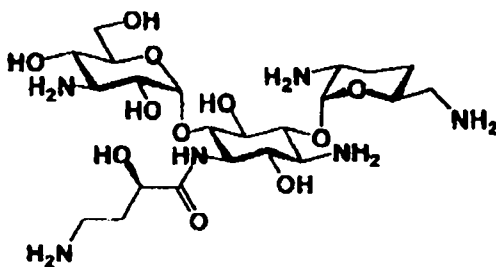
ESIMS:  $m/z$  1531  $[M + Na]^+$

$^1H$ -NMR (piridina- $d_5$  a  $80^\circ C$ ):  $\delta$  8.01 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 7.57 (br. s, 1H), 7.55 (br. s, 1H), 7.31 - 7.49 (m, 16H), 7.13 - 7.31 (m, 24H), 6.98 (br. s, 1H), 6.86 (br. s, 1H), 6.80 (br. s, 1H), 5.68 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 5.54 (d, 1H,  $J = 2.5$  Hz), 5.12 - 5.32 (m, 10H), 4.90 (s, 2H), 4.71 - 4.95 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 12$  Hz), 4.57 - 4.70 (ABq, 2H,  $J_{gem} = 12$  Hz), 4.58 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.47 (t, 1H,  $J = 9, 9$  Hz), 4.43 - 4.59 (m, 2H), 4.31 (m, 1H), 4.27 (dd, 1H,  $J = 6, 7$  Hz), 4.24 - 4.37 (m, 2H), 3.87 - 4.14 (m, 6H), 3.54 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.30 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 1.84 - 1.96 (m, 2H), 1.44 - 1.63 (m, 2H).

[0369] Etapas de producción 8-3

1-N-[(R)-4-Amino-2-hidroxibutiril]-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 93]



15

[0370] El compuesto (310 mg) obtenido en la etapa de producción 8-2 fue disuelto en 21.6 ml de tetrahidrofurano-ácido acético-agua (4 : 1: 1). Se adicionó Negro de paladio suspendido en agua (20 gotas) a la solución, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 6.5 h mientras se burbujeó hidrógeno dentro del sistema. El catalizador se removió por filtración, se añadió a esto Negro de paladio (20 gotas) nuevamente suspendido en agua y, la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 12 h mientras se burbujeó hidrógeno entre el sistema. El catalizador se removió por filtración, se agregó Negro de paladio (10 gotas)

25

nuevamente suspendido en agua, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 14.5 h mientras se burbujeó hidrógeno entre el sistema. El catalizador se removi6 por filtraci6n y fue lavado con agua. El filtrado y el l6quido de lavado fueron  
5 combinados y concentrados a sequedad. El residuo fue disuelto en 30 ml de agua. La soluci6n fue cargada en una columna de Amberlite CG-50 (equilibrada con amoniaco acuoso 0.005 M, 15 ml), y la columna fue lavada con 30 ml de amoniaco acuoso 0.005 M. La elusi6n fue llevada a cabo con amoniaco acuoso 0.1 M (30  
10 ml) → 0.25 M (30 ml) → 0.5 M (30 ml) → 0.75 M (30 ml) → 1.0 M (60 ml), y las fracciones correspondientes fueron concentradas a sequedad para dar el compuesto del t6tulo (112 mg, 0.5 carbonato dihidratado, 86%).

[0371] El valor Rf: 0.13 (cloroformo : metanol : amoniaco acuoso  
15 15 M (amoniaco acuoso concentrado) : etanol = 4 : 6 : 7 : 2)  
<sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O) : δ 5.16 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 5.01 (d, 1H, J = 4 Hz), 4.21 (dd, 1H, J = 3.5, 9 Hz), 3.98 (m, 1H), 3.93 (t, 1H, J = 10.5, 10.5 Hz), 3.87 (m, 1H), 3.75 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.72 - 3.80 (m, 2H), 3.69 (t, 1H, J = 10, 10 Hz),  
20 3.40 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.35 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.32 (dd, 1H, J = 4, 10.5 Hz), 3.28 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.96 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.88 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.84 (dt, 1H, J = 4, 4, 13 Hz), 2.76 (m, 2H), 2.66 (dd, 1H, J = 5, 13.5 Hz), 2.64 (dd, 1H, J = 7.5, 13.5 Hz), 1.92 (m, 1H), 1.70 - 1.84 (m,  
25 3H), 1.64 (dq, 1H, J = 3.5, 13, 13, 13 Hz), 1.39 (m, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 178.39, 102.05, 99.61, 83.52, 79.21, 75.49, 72.90, 72.38, 71.72, 71.47, 70.78, 70.02, 60.97, 56.33, 56.27, 54.97, 50.78, 45.98, 37.96, 37.08, 28.41, 26.94.

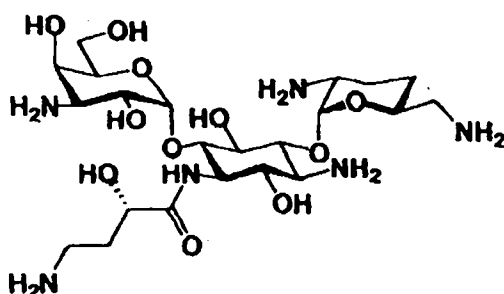
Calculado para  $C_{22}H_{44}N_6O_{11} \cdot 0.5H_2CO_3 \cdot 2H_2O$ . C, 42.51; H, 7.77; N, 13.22. encontrado, C, 42.51; H, 7.74; N, 13.26.

[0372] Ejemplo 9

Producción de 4"-epi-2-hidroxiarbecacina

5

[Fórmula química 94]

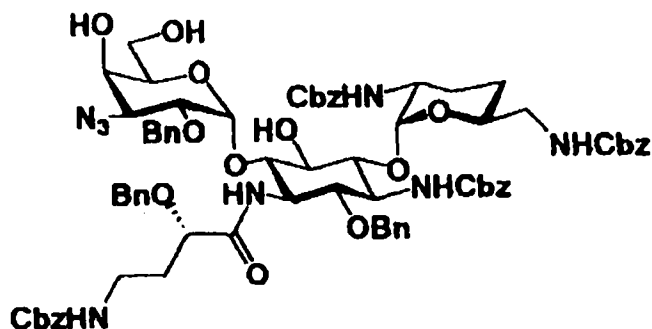


[0373] Etapa de producción 9-1

3''-Azido-3,2',6',4'''-tetra-N-benciloxycarbonil-2,2'',2'''-tri-O-bencil-3''-deoxi-4''-epi-2-hidroxiarbecacina

10

[Fórmula la química 95]



[0374]

2-O-Bencil-1-N-[2-(S)-O-bencil-4-benciloxycarbonilaminobutiril]-  
 15 3,2',6'-tri-N-benciloxycarbonil-3',4'-dideoxi-2-hidroxineamina  
 (39mg) obtenido en la etapa de producción 3-6 del Ejemplo 3 se  
 disolvió en 1.2 ml de cloruro de metileno. El compuesto (50.3  
 mg) obtenido en la etapa de producción 10-5b del Ejemplo 10 y  
 117 mg de tamiz molecular 4A en polvo se agregaron a la  
 20 solución, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 30  
 min. Se agregaron a esto N-Yodosuccinimida (39 mg) y 0.91µl de

411

ácido trifluorometansulfónico agitando a  $-20^{\circ}\text{C}$ , y la mezcla se agitó bajo condiciones de protección a la luz a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 3 h. Trietilamina (1.9  $\mu\text{l}$ ) fue añadida a  $-20^{\circ}\text{C}$ , y la mezcla de la reacción fue filtrada con Celita. Los insolubles fueron lavados  
5 una vez con 10 ml de cloroformo. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas una vez con 3 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y dos veces con 3 ml de una solución acuosa 10% de tiosulfato de sodio, se secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad. El residuo fue purificado por  
10 cromatografía de columna sobre sílica gel (4g, cloroformo : acetato de etilo = 30 : 1  $\rightarrow$  20 : 1, cloroformo : metanol = 20 : 1  $\rightarrow$  10 : 1 ) para dar 41 mg de un producto crudo.

Valor  $R_f$ : 0.65 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3)

[0375] El producto crudo (41 mg) fue disuelto en 1.2 ml de  
15 un líquido mezclado compuesto de cloruro de metileno y una solución al 0.1% de metóxido de sodio en metanol (cloruro de metileno : solución = 2 : 1 ) bajo enfriamiento con hielo, y la solución fue retornada a temperatura ambiente, y la reacción se dejó continuar por 2 h. Una solución acuosa de ácido acético al  
20 50% (0.8 ml) fue añadida a esto bajo enfriamiento con hielo. La mezcla fue diluida con 10 ml de cloroformo, y la solución diluida fue lavada con 3 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, se secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad. El residuo fue purificado por columna de  
25 cromatografía en sílica gel (4 g, cloroformo  $\rightarrow$  cloroformo : metanol = 99 : 1  $\rightarrow$  97 : 3 ) para dar el compuesto del título (24.1 mg, rendimiento: 51 %).

[0376] Valor Rf: 0.24 (cloroformo : acetato de etilo = 2 : 3)

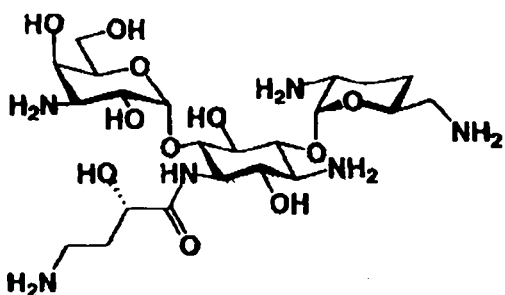
ESIMS: m/z 1423 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (piridina-d<sub>5</sub>): δ 8.79 (d, 1H, J = 7 Hz), 8.43 (d, 1H, J = 9 Hz), 7.90 (t, 1H, J = 6, 6 Hz), 7.76 (m, 1H), 7.18 - 7.71 (m, 35H), 7.04 (br. s, 1H), 6.59 (br. s, 1H), 6.07 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 5.74 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.06 - 5.44 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 5.24 - 5.41 (m, 4H), 5.04 (br. s, 1H), 4.70 - 4.80 (m, 3H), 4.57 (dd, 1H, J = 4, 10 Hz), 4.36 - 4.51 (m, 4H), 4.18 - 4.35 (m, 2H), 4.00 - 4.15 (m, 2H), 3.68 (m, 1H), 3.60 (m, 2H), 3.51 (m, 1H), 2.48 (m, 1H), 2.34 (m, 1H), 1.95 (m, 2H), 1.61 (m, 2H).

[0377] Etapas de producción 9-2

4"-Epi-2-hidroxiarbecacina

[Fórmula química 96]



15

[0378] Amoníaco líquido (cerca de 5 ml) fue envasado a -50°C en un matraz con forma de berenjena que contenía 24 mg de un compuesto obtenido en la etapa de producción 9-1. A esto se adicionó sodio metálico (31 mg) a -50°C, y la mezcla se agitó vigorosamente con una varilla de vidrio para agitar por 2 h. Se adicionó gradualmente cloruro de amonio sólido hasta que desapareció el color de los radicales. El sistema fue retornado a temperatura ambiente para evaporar el amoníaco. Finalmente, los contenidos del matraz fueron concentrados a sequedad en un



evaporador. Se añadió agua (2.4 ml) al residuo, y la solución fue ajustada a pH 7 por la adición de amoníaco acuoso 1 M. La solución neutralizada fue cargada en una columna de Amberlita CG-50 (equilibrada con amoníaco acuoso 0.005 M, 3 ml), y la  
 5 columna se lavó con amoníaco acuoso 0.005 M (6 ml). La elusión se llevó a cabo con amoníaco acuoso 0.1 M → 0.2 M → 0.3 M → 0.5 M → 0.8 M (cada uno 6 ml). Las fracciones correspondientes se concentraron a sequedad para dar 7.3 mg del compuesto del título (rendimiento: 53%, 2.5 carbonato 4.5  
 10 hidrato).

[0379] Valor RF: 0.16 (cloroformo : metanol : amoníaco acuoso 15 M (amoníaco acuoso concentrado) : etanol = 4 : 6 : 7 : 2)

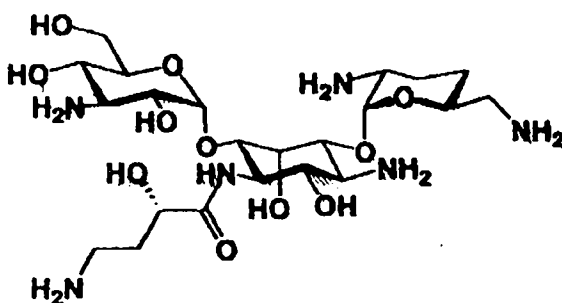
<sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 5.08 (br. s, 1H), 5.00 (br. s, 1H), 4.13 (m, 2H), 3.75 - 3.90 (m, 3H), 3.50 - 3.75 (m, 4H), 3.47 (br.  
 15 d, 1H, J = 10 Hz), 3.20 - 3.40 (m, 2H), 2.72 - 2.86 (m, 3H), 2.68 (m, 2H), 2.58 (br. s, 2H), 1.83 (m, 1H), 1.48 - 1.75 (m, 3H), 1.31 (m, 1H).

Calculado para C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>·2.5H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·4.5H<sub>2</sub>O. C, 36.57; H, 7.26; N, 10.44. Encontrado, C, 36.65; H, 7.01; N, 10.57.

20 [0380] Ejemplo 10

5-Epi-2-hidroxiarbecacina

[Fórmula química 97]



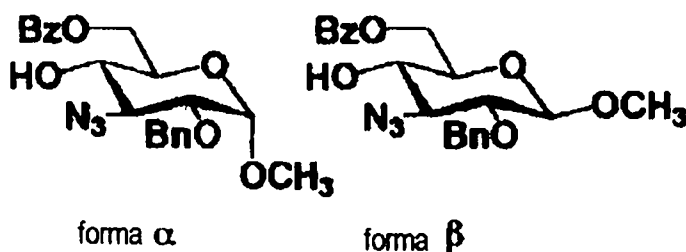
[0381] Etapla de producción 10-1

Metil

3-azido-6-O-benzoil-2-O-bencil-3-deoxi-D-glucopiranosida

5

[Fórmula química 98]



[0382] Metil

3-azido-2-O-bencil-3-deoxi-D-glucopiranosida (93 mg) se disolvió en 0.84 ml de piridina. Se agregó Cloruro de benzoilo (45  $\mu$ l) a la solución a  $-20^{\circ}\text{C}$  con agitación, y la mezcla se agitó a  $-20^{\circ}\text{C}$  por una hora. Se añadió agua (14  $\mu$ l) a esto, y la mezcla se agitó a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 30 min. El contenido se concentró a sequedad. Se adicionó Cloroformo (10 ml), y la mezcla se lavó tres veces con 5 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, tres veces con 5 ml de una solución acuosa al 5% de bisulfato de potasio y tres veces con 5 ml de agua, se secó sobre sal de Glauber y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía de columna en sílica gel (25g, hexano : acetato de etilo = 3 : 1 ) para dar el compuesto del título (97 mg, rendimiento: 78%).

Valor Rf : 0.72 (cloroformo : metanol = 20 : 1 )

[0383] Forma  $\alpha$

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 8.10 (m, 10H), 4.62 - 4.79 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12 \text{ Hz}$ ), 4.73 (dd, 1H,  $J = 4, 12 \text{ Hz}$ ), 4.60 (d, 1H,  $J = 4 \text{ Hz}$ ), 4.45 (dd, 1H,  $J = 3, 12 \text{ Hz}$ ), 3.87 (ddd, 1H,  $J = 3, 4, 10$

Hz), 3.85 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.39 (s, 3H), 3.38 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.31 (dt, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 2.95 (d,  $J = 4$  Hz).

[0384] Forma  $\beta$

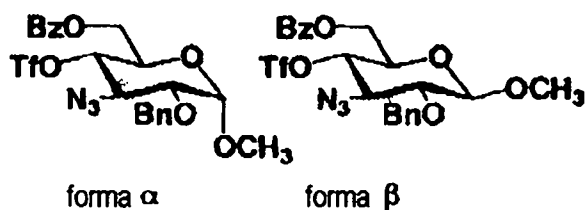
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 8.10 (m, 10H), 4.70 - 4.91 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.74 (dd, 1H,  $J = 4, 12$  Hz), 4.53 (dd, 1H,  $J = 4, 12$  Hz), 4.38 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 3.59 (s, 3H), 3.57 (dt, 1H,  $J = 4, 4, 12$  Hz), 3.50 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.37 (dt, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.26 (dd, 1H,  $J = 8, 10$  Hz).

[0385] Etapas de producción 10-2

# 10 Metil

3-azido-6-O-benzoil-2-O-bencil-3-deoxi-4-O-trifluorometanosulfonil-D-glucopiranosida

[Fórmula química 099]



15

[0386] El compuesto (3.30g) obtenido en la etapa de producción 10-1 fue disuelto en 40 ml de cloruro de metileno. Se adicionó piridina (4.8 ml) a la solución, se agregó a esto 3.4 ml de ácido trifluorometansulfónico anhidro con agitación, a  $-20^\circ\text{C}$ , y la mezcla se agitó a  $-20^\circ\text{C}$  por una hora. Fue adicionado metanol (0.81 ml), y la mezcla se agitó a  $-20^\circ\text{C}$  por 20 min. Se agregó cloroformo (300 ml), y la mezcla fue lavada tres veces con 170 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio enfriada con hielo, tres veces con 170 ml de una solución

acuosa al 5% de bisulfato de potasio enfriada con hielo y tres veces con 170 ml de salmuera semi saturada enfriada con hielo. La solución lavada se secó sobre sal de Glauber bajo enfriamiento con hielo y fue concentrada a sequedad bajo enfriamiento con hielo para dar el compuesto del título (3.60 g, 99%). Este compuesto, por ser inestable, fue inmediatamente usado en la siguiente reacción.

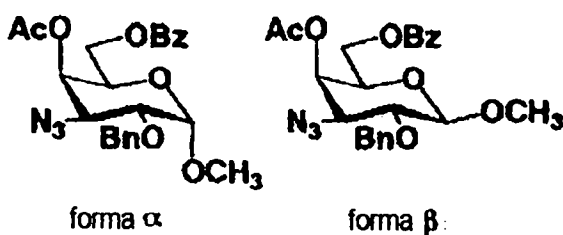
Valor Rf : 0.45 (hexano : acetato de etilo = 3 : 1)

[0387] Etapas de producción 10-3

10 Metil

3-azido-4-O-acetil-6-O-benzoil-2-O-bencil-3-deoxi-D-galactopiranosida

[Fórmula química 100]



15 [0388] El compuesto (3.60g) obtenido en la etapa de producción 10-2 fue disuelto en 33 ml de N,N-dimetilformamida. Se adicionó acetato de Cesio (7.66 g) a la solución, y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente por una hora. A esto se agregó acetato de etilo (330 ml), y la mezcla fue lavada dos veces con 180 ml de agua, dos veces con 180 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y dos veces con salmuera semi saturada, se secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad para dar el compuesto del título ( 3.72 g, rendimiento: 99%).

25 Valor Rf: 0.40 (hexano : acetato de etilo = 3 : 1 )

[0389] Forma  $\alpha$ 

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.20 - 8.10 (m, 10H), 5.47 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.72 - 4.95 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.25 (dd, 1H,  $J = 7, 11$  Hz), 4.69 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.38 (ddd, 1H), 4.21 (dd, 1H,  $J = 3, 7$  Hz), 3.82 (dd, 1H,  $J = 4, 11$  Hz), 4.01 (dd, 1H,  $J = 5, 11$  Hz), 3.65 (s, 3H), 2.38 (s, 3H).

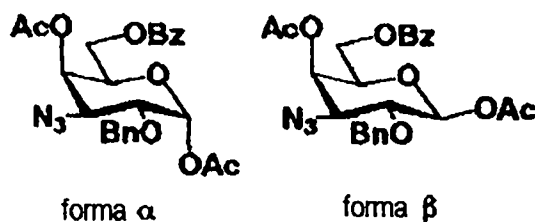
[0390] Forma  $\beta$ 

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.20 - 8.10 (m, 10H), 5.45 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.62 - 4.82 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.50 (dd, 1H,  $J = 7, 12$  Hz), 4.39 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 4.21 (ddd, 1H), 3.94 (t, 1H,  $J = 7, 7$  Hz), 3.64 (dd, 1H,  $J = 8, 10$  Hz), 3.61 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.39 (s, 3H), 2.16 (s, 3H).

[0391] Etapas de producción 10-4

15 3-Azido-1,4-di-O-acetil-6-O-benzoil-2-O-bencil-3-deoxi-D-galactopiranosas

[Fórmula química 101]



[0392] El compuesto (3.72 g) obtenido en la etapa de producción 10-3 fue disuelto en 74 ml de ácido acético : anhídrido acético : ácido sulfúrico (25 : 25 : 1), y la solución se agitó a temperatura ambiente por 3 h. Se le adicionó cloroformo (740 ml), y la mezcla fue lavada tres veces con 350 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y tres veces con 350 ml de agua, se secó sobre sal de Glauber y se

concentró a sequedad para dar el compuesto del título (3.66 g, rendimiento: 93%).

Valor Rf: 0.32 (hexano : acetato de etilo = 3 : 1)

[0393] Forma  $\alpha$

5  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 8.10 (m, 10H), 6.46 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 5.55 (dd, 1H), 4.64 - 4.73 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.40 (dd, 1H,  $J = 7, 11$  Hz), 4.35 (m, 1H), 4.19 (dd, 1H,  $J = 6, 11$  Hz), 3.96 (m, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.14 (s, 3H).

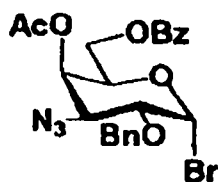
[0394] Forma  $\beta$

10  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30 - 8.10 (m, 10H), 5.69 (d,  $J = 8$  Hz), 5.51 (dd, 1H), 4.74 - 4.86 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 4.42 (m, 1H,  $J = 7, 11$  Hz), 4.25 (dd, 1H,  $J = 7, 11$  Hz), 4.11 (m, 1H), 3.79 (dd, 1H,  $J = 8, 10$  Hz), 3.72 (dd, 1H,  $J = 3, 10$  Hz), 2.19 (s, 3H), 2.09 (s, 3H).

15 [0395] Etapas de producción 10-5a

3-Azido-4-O-acetil-6-O-benzoil-2-O-bencil-1-bromo-3-deoxi- $\alpha$ -D-galactopiranosas

[Fórmula química 102]



20

[0396] El compuesto (25 mg) obtenido en la etapa de producción 10-4 se disolvió en 0.5 ml de un solvente (cloruro de metileno : acetato de etilo = 9 : 1). Se agregó tetrabromuro de titanio (29 mg) se bajo enfriamiento con hielo, con agitación.

25 La mezcla se devolvió a temperatura ambiente y se agitó por una

hora. La solución de la reacción fue enfriada con hielo. Se añadió cloruro de metileno (2 ml) enfriado en hielo a la solución enfriada, y la mezcla se lavó seis veces con 2 ml de agua enfriada con hielo, se secó sobre sal de Glauber y se  
 5 concentró a sequedad para dar el compuesto del título (27 mg, rendimiento: 83%). Este compuesto era inestable y, por lo tanto, fue usado inmediatamente en la siguiente reacción.

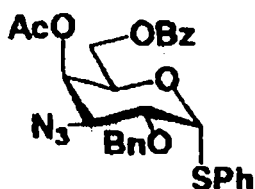
Valor Rf: 0.82 (hexano : acetato de etilo = 3 : 2)

[0397]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.15 - 8.10 (m, 1H), 6.49 (d, 1H, J = 4 Hz), 5.54 (d, 1H, J = 2, 4 Hz), 4.45 (dd, 1H, J = 7, 11 Hz), 4.39 - 4.43 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 7$  Hz), 4.33 (ddd, 1H), 4.27 (dd, 1H, J = 6, 11 Hz), 4.06 (dd, 1H, J = 4, 11 Hz), 3.74 (dd, 1H, J = 4, 11 Hz), 2.16 (s, 3H).  
 10

[0398] Etapas de producción 10-5b

15 3-Azido-4-O-acetil-6-O-benzoil-2-O-bencil-1,3-dideoxi-1-tiofenil- $\alpha$ -D-galactopiranosas

[Fórmula química 103]



20

[0399] El compuesto (300 mg) obtenido en la etapa de producción 10-4 se disolvió en 5 ml de cloruro de metileno. Se agregaron a la solución Feniltiotrimetilsilano (353  $\mu\text{l}$ ) y 135  $\mu\text{l}$  de trimetilsilil trifluorometansulfonato, y la mezcla se  
 25 sometió a reflujo con agitación. La solución de la reacción se enfrió en hielo seis horas después del inicio del reflujo.

Cloruro de metileno enfriado en hielo (24 ml) se agregó a la solución enfriada, y la mezcla se lavó dos veces con 10 ml de una solución acuosa al 5% de hidróxido de sodio enfriada con hielo y dos veces con 10 ml de agua enfriada con hielo, se  
 5 secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad, seguido por recristalización con acetato de etilo/hexano para dar el compuesto del título (204 mg, rendimiento: 62%).

[0400] Valor Rf : 0.33 (hexano : acetato de etilo = 4 : 1 )

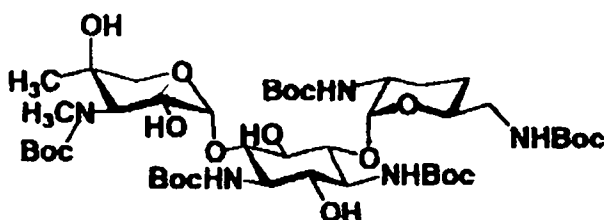
<sup>1</sup>H-NMR (CDCL<sub>3</sub>): δ 7.0 - 8.0 (m, 15H), 5.76 (d, 1H, J = 5.5  
 10 Hz), 5.52 (d, 1H, J = 3 Hz), 4.82 (br. t, 1H, J = 6.5, 6.5 Hz), 4.69 - 4.80 (ABq, 2H, J = 11 Hz), 4.36 (dd, 1H, J = 7.5, 11.5 Hz), 4.25 (dd, 1H, J = 5, 11.5 Hz), 4.17 (dd, 1H, J = 5.5, 10.5 Hz), 3.92 (dd, 1H, J = 3, 10.5 Hz), 2.16 (s, 3H)

[0401] Etapas de producción 10-6

15 1,3,2',6',3''-Penta-N-tert-butoxicarbonil-2-hidroxigentamicina

Cl<sub>a</sub>

[Fórmula química 104]



20

[0402] Se disolvió 2-Hidroxigentamicina Cl<sub>a</sub> (10.0 g) (2.5 sulfato) en 140 ml de agua. Se adicionó trietilamina (30 ml) a la solución. Se agregó una solución (180 ml) de 28.1 g de dicarbonato di-tert-butilo en 1,4-dioxano, y la mezcla se agitó  
 25 a 60°C por 2 h. Se agregó a esto amoníaco acuoso concentrado (17 ml), y la mezcla se agitó a 60°C por 30 min. La mezcla de la



reacción fue retornada a temperatura ambiente y se concentró a sequedad. Se añadió agua (1L) al residuo, y la solución se agitó durante la noche. El precipitado resultante fue recogido por filtración, se lavó con agua, y se secó bajo presión reducida para dar el compuesto del título ( 12.4 g, rendimiento: 91%).

Valor Rf: 0.73 (se usó la parte de cloroformo : metanol: amoníaco acuoso 15 M (amoníaco acuoso concentrado) = 1 : 1 : 1 , capa inferior)

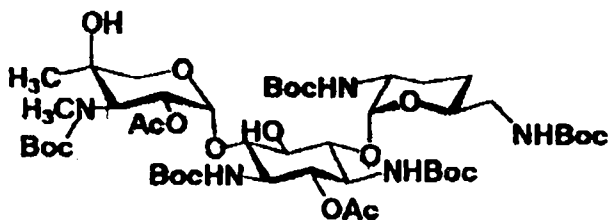
10 ESIMS: m/z 988 [M + Na]<sup>+</sup>

[0403] Etapa de producción 10-7

2,2''-Di-O-acetil-1,3,2',6',3''-penta-N-tert-butoxicarbonil-2-hidroxigentamicina Cla

15

[Fórmula química 105]



[0404] El compuesto (12.4g) obtenido en la etapa de producción 10-6 se disolvió en 250 ml de piridina. Se agregó a la solución anhídrido acético (36.3 ml) bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla fue retornada a temperatura ambiente y se dejó reaccionar. Después de transcurridas 88 h desde el inicio de la reacción, se adicionaron 31.3 ml de metanol a la mezcla de la reacción bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó

bajo enfriamiento con hielo por 30 min. La mezcla de la reacción se concentró a sequedad. Se agregó cloroformo (1.2 l) al residuo, y la solución fue lavada tres veces con 600 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, tres veces con 5 600 ml de una solución acuosa al 5% de bisulfato de potasio y una vez con 600 ml de agua, se secó sobre sal de Glauber y se concentró bajo presión reducida para dar el compuesto del título (13.8 g, cuantitativo).

[0405] Valor Rf: 0.81 (cloroformo : metanol = 10 : 1)

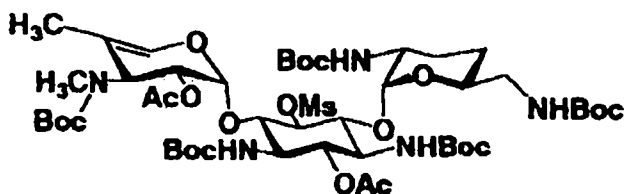
10 ESIMS: m/z 1072 [M + Na]<sup>+</sup>

[0406] Etapas de producción 10-8

2,2"-Di-O-acetil-1,3,2',6',3"-penta-N-tert-butoxicarbonil-4"-eno-5-O-metansulfonil-2-hidroxigentamicina Cla

15

[Fórmula química 106]



20 [0407] El compuesto (13.5 g) obtenido en la etapa de producción 10-7 se disolvió en 270 ml de cloruro de metileno. Se agregaron 4-Dimetilaminopiridina (23.6 g) y 10.9 ml de cloruro de metansulfonilo a la solución bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla se retornó a temperatura ambiente y se agitó por 45 25 h. La mezcla de la reacción se diluyó con 1 l de cloroformo, y la solución diluida se lavó tres veces con 600 ml de una

solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, tres veces con 600 ml de una solución acuosa al 5% de bisulfato de potasio y dos veces con 600 ml de agua, se secó sobre sal de Glauber y luego se concentró a presión reducida para dar 19.3 g de un producto crudo. El producto crudo se purificó por cromatografía de columna en sílica gel (200 g, cloroformo → cloroformo : metanol = 50 : 1) para obtener el compuesto del título (10.8 g, rendimiento: 76%).

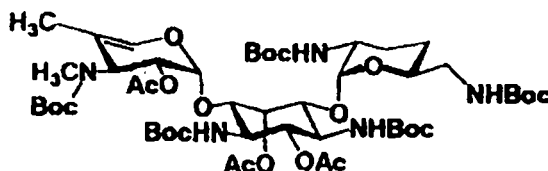
Valor Rf: 0.44 (cloroformo : metanol = 30 : 1)

10 ESIMS: m/z 1132 [M + Na]<sup>+</sup>

[0408] Etapa de producción 10-9

2,5,2''-Tri-O-acetil-1,3,2',6',3''-penta-N-tert-butoxicarbonil-4''-eno-5-epi-2-hydroxigentamicina Cla

[Fórmula química 107]



15

[0409] El compuesto (10.5g) obtenido en la etapa de producción 10-8 se disolvió en 105 ml de N,N-dimetilformamida. Se agregó acetato de cesio (16.8 g, secado a 120°C por 6 h) a la solución, y la mezcla se agitó a 100°C por 16 h. La mezcla de la reacción se diluyó con 1.1 l de acetato de etilo, se lavó una vez con 300 ml de agua, dos veces con 300 ml de salmuera saturada, se secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad para dar el compuesto del título (10.1 g, rendimiento: 99%).

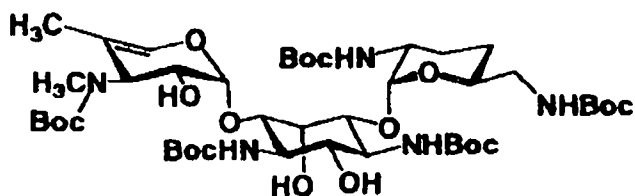
Valor Rf: 0.36 (cloroformo : metanol = 30 : 1)

25 ESIMS: m/z 1096 [M + Na]<sup>+</sup>

[0410] Etapa de producción 10-10

1,3,2',6',3''-Penta-N-tert-butoxycarbonil-4''-eno-5-epi-2-hidroxigentamicina Cla

[Fórmula química 108]



5

[0411] Una solución al 1% (240 ml) de metóxido de sodio en metanol se añadió al compuesto (10.1 g) obtenido en la etapa de producción 10-9, y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 41 h. La mezcla de la reacción se neutralizó con Dowex 50 W x 2 (Forma H<sup>+</sup>, sustituida con metanol). La resina se removi6 por filtraci6n, y el filtrado se concentr6 a sequedad para dar el compuesto del t6tulo (8.2 g, rendimiento: 92%).

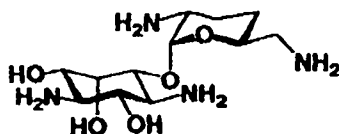
Valor Rf: 0.24 (cloroformo : metanol = 30 : 1)

ESIMS: m/z 970 [M + Na]<sup>+</sup>

15 [0412] Etapa de producci6n 10-11

3',4'-Dideoxi-5-epi-2-hidroxineamina

[F6rmula qu6mica 109]



20

[0413] Se adicion6 6cido clorh6drico 6 M-metanol (1 : 1) (164 ml) al compuesto (8.2 g) obtenido en la etapa de producci6n 10-10, y la mezcla se dej6 reaccionar a temperatura ambiente por 7 h. Adicionalmente, la mezcla de la reacci6n se dej6

reaccionar a 70°C por 14 h. La solución de la reacción se ajustó a PH 6.6 por la adición de hidróxido de sodio 4 M bajo enfriamiento con hielo. La solución luego se diluyó con 1.3 l de agua, y la solución diluida se cargó en una columna de  
 5 Amberlite CG-50 (equilibrada con amoníaco acuoso 0.005 M) (900 ml) y la elusión fue exitosamente llevada a cabo con amoníaco acuoso 0.005 M → 0.1 M → 0.2 M → 0.3 M → 0.4 M → 0.5 M para dar el compuesto del título (1.54 g, 41% como dicarbonato).

[0414] Valor Rf: 0.16 (cloroformo : metanol : amoníaco  
 10 acuoso 15 M (amoníaco acuoso concentrado) : agua = 1 : 4 : 1 : 1).

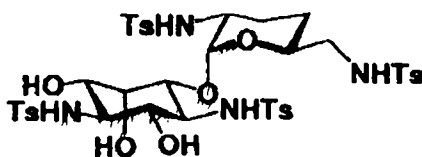
<sup>1</sup>H-NMR (26% ND3-D2O): δ 4.90 (d, 1H, J = 3 Hz), 4.16 (s, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.43 (d, 1H, J = 10 Hz), 3.29 (d, 1H, J = 10 Hz), 3.04 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.00 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.90 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.76 (m, 1H), 2.61 (dd, 1H, J = 4.5, 13.5 Hz), 2.57 (dd, 1H, J = 7, 13.5 Hz), 1.6 - 1.75 (m, 3H), 1.35 (m, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (26% ND3-D2O): δ 96.51, 75.99, 75.31, 72.47, 71.09, 68.40, 54.32, 53.38, 50.32, 45.84, 28.35, 27.01.

20 [0415] Etapas de producción 10-12

3',4'-Dideoxi-5-epi-1,3,2',6'-tetra-N-tosil-2-hidroxineamina

[Fórmula química 110]



[0416] El compuesto (202 mg, 0.470 mmol, calculado como dicarbonato) obtenido en la etapa de producción 10-11 se disolvió en 2.0 ml de agua. Se agregó carbonato de sodio (421 mg) a la solución bajo enfriamiento con hielo. Se adicionaron  
 5 1,4-Dioxano (4.0 ml) y 541 mg de cloruro de tosilo, y la mezcla fue retornada a temperatura ambiente y se dejó reaccionar. Después de transcurridas 2 h desde el inicio de la reacción, se añadieron 20 ml de agua a la mezcla de la reacción. La mezcla se extrajo tres veces con 10 ml de cloroformo, se secó sobre sal  
 10 de Glauber y se concentró a sequedad. El residuo fue purificado por cromatografía de columna en sílica gel (10g, cloroformo : metanol = 29 : 1) para dar el compuesto del título (383 mg, 88%).

[0417] Valor Rf: 0.43 (cloroformo : metanol = 10 : 1)

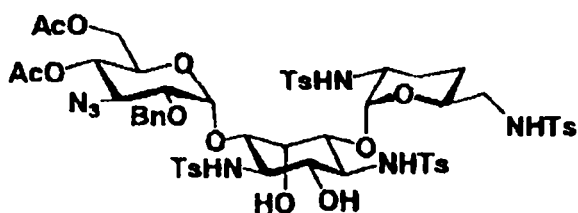
15 ESIMS: m/z 945 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (piridina-d<sub>5</sub>): δ 9.41 (d, 1H, J = 7 Hz), 8.88 (d, 1H, J = 9 Hz), 8.57 (t, 1H, J = 6, 6 Hz), 8.31 (br., 1H), 7.89 - 8.15 (m, 8H), 6.96 - 7.25 (m, 8H), 5.22 (d, 1H, J = 3 Hz), 4.86 (m, 1H), 4.73 (q, 1H, J = 10, 10, 10 Hz), 4.60 (br. s, 1H), 4.43  
 20 (dt, 1H, J = 7, 10, 10 Hz), 4.00 (dd, 1H, J = 2, 10.5 Hz), 3.86 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.77 (dd, 1H, J = 2, 10.5 Hz), 3.72 (m, 1H), 3.15 - 3.32 (m, 2H), 2.26 (m, 1H), 2.09, 2.13, 2.19, 2.21, (cada s, cada 3H), 1.51 - 1.69 (m, 3H).

[0418] Etapas de producción 10-13

25 4",6"-Di-O-acetil-3"-azido-2"-O-bencil-3"-deoxi-5-epi-1,3,2',6'-tetra-N-tosil-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 111]



[0419] Proceso A: Una solución del compuesto (372 mg) obtenido en la etapa de producción 1-5a del Ejemplo 1 en 21 ml de cloruro de metileno se añadió al compuesto (711 mg) obtenido en la etapa de producción 10-12. Se adicionó Drierita (2.16 g) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 3 h. Se añadió Cianuro mercurico (795 mg), y la mezcla se agitó bajo condiciones de protección a la luz a temperatura ambiente por 104 h. La mezcla de la reacción se filtró a través de Celita para remover los insolubles. Los insolubles fueron lavados con 50 ml de cloroformo. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas dos veces con 35 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, dos veces con 35 ml de una solución acuosa al 10% de yoduro de sodio y una vez con 35 ml de agua, secadas sobre sal de Glauber y luego concentradas a sequedad. El residuo fue purificado por cromatografía de columna en sílica gel (10 g, cloroformo → cloroformo : acetato de etilo = 9 : 1 → 1 : 1 → 2 : 3) para dar el compuesto del título (426 mg, rendimiento: 44%). En este caso, 385 mg, (54%) del compuesto inicial, fueron recuperados.

[0420] Proceso B: El compuesto (20.5 mg) obtenido en la etapa de producción 10-12 y 11.4 mg del compuesto obtenido en la etapa de producción 1-5b del Ejemplo 1 se disolvieron en 0.4 ml de cloruro de metileno. Se agregó tamiz molecular 4A en polvo (63

mg) a la solución, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por una hora. Se agregaron a esto N-Yodosuccinimida (5.9 mg) y una solución de 0.6 µl de ácido trifluorometansulfónico en 0.1 ml de cloruro de metileno se agregaron con agitación, a -20°C, continuando la agitación a -20°C bajo condiciones de protección a la luz por 15 h. La mezcla de la reacción se filtró a través de Celita para remover los insolubles. Los insolubles fueron lavados con 2 ml de cloroformo. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas dos veces con 2 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, dos veces con 2 ml con una solución acuosa al 10% de tiosulfato de sodio y dos veces con 2 ml de agua, fueron secadas sobre sal de Glauber y se concentraron a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía de columna en sílica gel (10 g, cloroformo → cloroformo : acetato de etilo = 19 : 1 → 9 : 1 → 1 : 1 → 2 : 3) para obtener el compuesto del título (7.7 mg, rendimiento: 27%). En este caso, 7.9 mg (38%) del compuesto inicial se recuperó.

[0421] Valor Rf: 0.19 (cloroformo : acetato de etilo = 5 : 2)

ESIMS : m/z 1306 [M + Na]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (piridina-d<sub>5</sub>): δ 8.99 (d, 1H, J = 9 Hz), 8.72 (m, 1H), 8.57 (t, 1H, J = 6, 6 Hz), 8.53 (m, 1H), 7.05 - 8.05 (m, 21H), 5.70 (d, 1H, J = 3.5 Hz), 5.49 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.29 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.84 - 5.20 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 5.13 (br. s, 1H), 4.86 (m, 1H), 4.73 (m, 1H), 4.65 - 4.77 (m, 3H), 4.55 (dd, 1H, J = 4, 13.5 Hz), 4.12 - 4.21 (m, 2H), 4.16 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.92 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.79 (dd, 1H, J = 3.5, 10 Hz), 3.63 (m, 1H), 3.27 (m, 2H), 2.20 (m, 1H), 2.14, 2.17, 2.21,



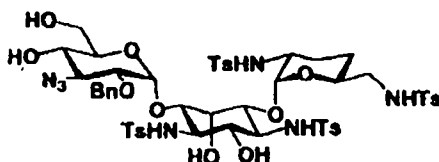
2.23 (cada s, cada 3H), 2.00, 2.05 (cada s, cada 3H), 1.49 - 1.57 (m, 3H).

[0422] Etapa de producción 10-14

3''-Azido-2''-O-bencil-3''-deoxi-5-epi-1,3,2',6'-tetra-N-

5 tosil-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 112]



[0423] Una solución al 0.5% (13.4 ml) de metóxido de sodio en  
10 metanol se agregó al compuesto (673 mg) obtenido en la etapa de  
producción 10-13, y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura  
ambiente por una hora. La mezcla de la reacción se neutralizó  
con Dowex 50 W x 2 (forma H<sup>+</sup>, sustituida con metanol). La resina  
se removi6 por filtración, y el filtrado se concentró a sequedad  
15 para dar el compuesto del título (593 mg, 94%).

Valor Rf: 0.21 (cloroformo : acetato de etilo = 1 : 1)

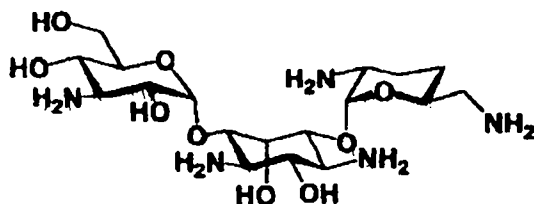
ESIMS: m/z 1222 [M + Na]<sup>+</sup>

[0424] Etapa de producción 10-15

5-Epi-hidroxidibecacina

20

[Fórmula química 113]



[0425] Se envasó amoníaco líquido (120 ml) a  $-50^{\circ}\text{C}$  en un matraz en forma de berenjena que contenía 535 mg del compuesto obtenido en la etapa de producción 10-14. Se agregó sodio metálico (980 mg) a  $-50^{\circ}\text{C}$ , y la mezcla se agitó vigorosamente con una varilla de vidrio por 2 h. Se agregó metanol gradualmente hasta que el color de los radicales desapareció. La mezcla se retornó a temperatura ambiente para evaporar el amoníaco y finalmente se concentró a sequedad en un evaporador. Se añadió agua (43 ml) al residuo, y la solución se ajustó a pH 4 a 5 con Dowex 50 W x 2 (forma  $\text{H}^+$ ). Los contenidos del matraz incluyendo la resina como tal, fueron agregados a una columna empacada con 15 ml de la misma resina. La columna fue lavada con 160 ml de agua, y la elusión se llevó a cabo con amoníaco acuoso 1 M (corte 80 ml). Una fracción positiva a la ninhidrina (Fr2) se concentró a sequedad para obtener 299 mg de un producto crudo. El producto crudo se llevó solución acuosa (60 ml). La solución acuosa se cargó en una columna CM-Sephadex C-25 (equilibrada con de amoníaco acuoso 0.005 M, 60 ml), y la columna se lavó con agua (120 ml). La elusión se llevo a cabo con de amoníaco acuoso 0.05 M (300 ml)  $\rightarrow$  0.2 M (675 ml, corte 12 ml). La fracción correspondiente (Fr 38 - 50) se concentró a sequedad para obtener el compuesto del título (183 mg, rendimiento: 67.5% como monocarbonato monohidratado).

[0426] Valor  $R_f$ : 0.29 (1-butanol: etanol :cloroformo: amoníaco acuoso al 17% = 4:7:2:7)

$^1\text{H-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  4.99(d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.92 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 4.47(br. s, 1H), 3.84(br. d, 1H,  $J = 12$  Hz), 3.83(m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.62 (dd, 1H,  $J = 7.5, 12.5$  Hz), 3.49

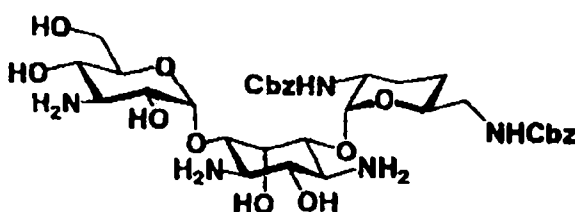
(dd, 1H,  $J = 2, 10$  Hz), 3.42 (dd, 1H,  $J = 4, 10.5$  Hz), 3.37 (dd, 1H,  $J = 2, 10$  Hz), 3.17 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.15 (t, 1H,  $J = 11, 11$  Hz), 3.12 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.10 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.06 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.79 (m, 1H), 2.65 (dd, 1H,  $J = 4.5, 13.5$  Hz), 2.60 (dd, 1H,  $J = 7.5, 13.5$  Hz), 1.64-1.78 (m, 3H), 1.37 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$ -NMR (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  102.43, 96.75, 83.11, 76.41, 75.21, 74.00, 72.95, 71.40, 71.06, 68.07, 62.13, 55.39, 54.37, 53.69, 50.84, 46.49, 28.92, 27.62.

10 [0427] Etapas de producción 10-16

2',6'-Di-N-benciloxicarbonil-5-epi-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 114]



[0428] A 224 mg del compuesto obtenido en la etapa de  
 15 producción 10-15 (calculado como monocarbonato monohidrato) se  
 les agregó acetato de níquel tetrahidratado (478 mg). A eso se  
 le agregó metanol (9.0 ml) y la mezcla se llevó a solución  
 homogénea con ultrasonido (2 a 3 minutos, color verde). Se  
 agregó N-Benciloxicarboniloxisuccinimida (263 mg) en porciones,  
 20 bajo enfriamiento con hielo durante un periodo de 2 min. La  
 mezcla se agitó bajo enfriamiento con hielo durante una hora. La  
 mezcla se llevó de nuevo a temperatura ambiente y se le agitó  
 adicionalmente por 2.5 h. La mezcla de reacción se concentró a  
 sequedad. Al residuo se le agregó amoníaco acuoso concentrado  
 25 saturado con cloruro de sodio (15 ml), y la mezcla se extrajo

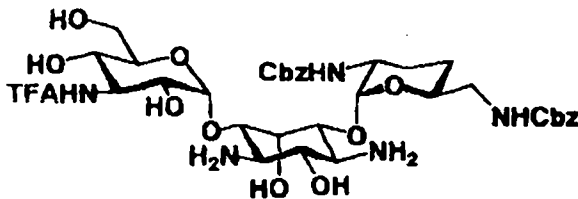
cinco veces con 10 ml de 1-butanol. La capa de butanol extraído se concentró a sequedad. A 1594 mg de residuo se les añadió N,N-Dimetilformamida y la mezcla se filtró por Celita. La sustancia en la Celita se lavó con N,N-dimetilformamida (4ml x 6). El  
 5 filtrado y el líquido del lavado se concentraron a sequedad para dar 512 mg de un producto crudo.

Valor Rf: 0.41 (se empleó la parte de la capa inferior de cloroformo: metanol: amoníaco acuoso 15 M (amoníaco acuoso concentrado) = 1:1:1).

10 [0429] Etapas de producción 10-17

2',6'-Di-N-benciloxycarbonil-5-epi-2-hidoxi-3"-N-trifluoroacetildibecacina

[Fórmula química 115]



15

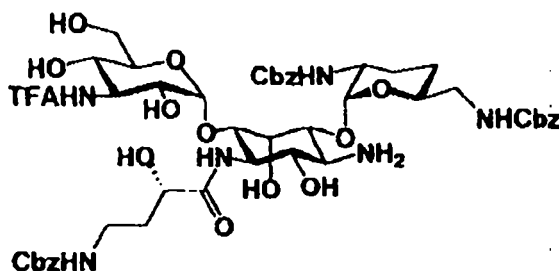
[0430] El producto crudo (512 mg) obtenido en la etapa de producción 10-17 se disolvió en 7.1 ml de N,N-dimetilformamida anhidra. A la solución se agregó trifluoroacetato de etilo (74 µl) bajo enfriamiento con hielo y agitación. La mezcla se llevó  
 20 de nuevo a temperatura ambiente y se agitó durante 16.5 h. La solución de la reacción se concentró a sequedad para dar 609 mg de un producto.

Valor Rf: 0.49 (se empleó la parte de la capa inferior de cloroformo: metanol: amoníaco acuoso 15M (amoníaco acuoso  
 25 concentrado) = 1:1:1).

[0431] Etapas de producción 10-18

1-N-(4-Benciloxycarbonilamino-2-(S)-hidroxibutiril)-2',6'-di-N-benciloxycarbonil-5-epi-2-hidoxi-3"-N-trifluoroacetildibecacina

[Fórmula química 116]



5

[0432] El producto crudo (609 mg) obtenido en la etapa de producción 10-17 se disolvió en 12 ml de tetrahidrofurano anhidro. En seguida, una solución (5 ml) de 219 mg de éster succinimídico del ácido N-benciloxycarbonil-4-amino-2-(S)-hidroxibutírico en tetrahidrofurano, sintetizado de acuerdo con el informe de Kawaguchi et al. (Journal of antibiotics, Vol. 25, pp. 695 - 708 (1972)), se agregó gota a gota a la solución durante un periodo de 3 min bajo enfriamiento con hielo y agitación. La mezcla se llevó de nuevo a temperatura ambiente y se agitó. Después de transcurridas 3.5 h desde el comienzo de la agitación, se adicionó una solución (0.92 ml) de 34 mg de éster succinimídico del ácido N-benciloxycarbonil-4-amino-2-(S)-hidroxibutírico en tetrahidrofurano a la solución de la reacción bajo enfriamiento con hielo y agitación, y la mezcla se llevó de nuevo a temperatura ambiente y se agitó. Después de transcurridas 18.5 h desde el comienzo de la agitación, la solución de la reacción se concentró a sequedad. Al residuo se le agregó acetato de etilo (150 ml), y la mezcla se lavó dos veces con 30 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio y

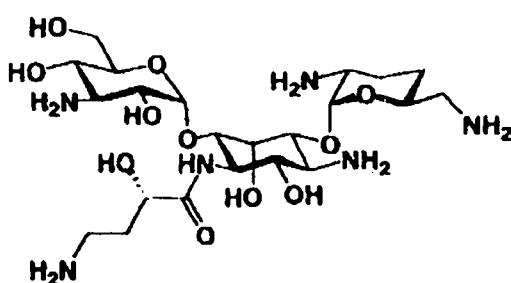
dos veces con agua y se concentró a sequedad para dar 604 mg de la mezcla de reacción.

Valor Rf: 0.67 (se empleó la parte de la capa inferior de cloroformo: metanol: amoníaco acuoso 15M (amoníaco acuoso concentrado) = 1:1:1).

[0433] Etapa de producción 10-19

5-epi-2-hidoxiarbecacina

[Fórmula química 117]



- 10 [0434] A la mezcla de reacción (604 mg) obtenida en la etapa de producción 10-18 se agregaron tetrahidrofurano (20.5 ml) y 15.4 ml de amoníaco acuoso 3.5 M, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 44 h. La solución de la reacción se concentró a sequedad. A 656 mg del residuo se agregaron 33 ml de
- 15 tetrahidrofurano-ácido acético-agua (4 : 1 : 1). Además, a eso se agregaron 10 gotas de una suspensión de negro de paladio en agua, y la mezcla se agitó a presión atmosférica por 5 h con burbujeo de hidrógeno en el sistema. En seguida, se retiró el negro de paladio de la solución de la reacción por filtración.
- 20 El negro de paladio se lavó con agua, y el filtrado y el líquido del lavado se combinaron y se concentraron a sequedad. Al residuo se le agregó amoníaco acuoso 2 M, y la mezcla se dejó en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Los insolubles se retiraron por filtración a través de un tapón de algodón y se
- 25 concentró a sequedad para dar 466 mg de un producto crudo. Este

producto crudo se disolvió en 60 ml de agua para obtener una solución acuosa. La solución acuosa se llevó a una columna de Sephadex-CM C-25 (equilibrada con 60 ml de amoníaco acuoso 0.005M). La columna se lavó con 120 ml de amoníaco acuoso 0.005M. La elución se llevó a cabo con amoníaco acuoso cuya concentración se varió de 0.05M (300 ml) a 0.5M (600 ml, y amoníaco acuoso 0.75 M (600 ml). Las fracciones correspondientes se concentraron para dar el compuesto del título: 5-epi-2-hidoxiarbecacina (65 mg, 2.5 trihidrato del carbonato, 20% en cuatro pasos).

[0435] Valor Rf: 0.11 (1-butanol: etanol: cloroformo: amoníaco acuoso al 17% = 4:7:2:7).

$^1\text{H-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  4.95(d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.92 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 4.44 (t, 1H,  $J = 2, 2$  Hz), 4.17 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 4.16 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.85 (dd, 1H,  $J = 2, 12$  Hz), 3.79 (dd, 1H,  $J = 2, 10.5$  Hz), 3.78 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.60 (dd, 1H,  $J = 7, 12$  Hz), 3.51 (dd, 1H,  $J = 2, 10.5$  Hz), 3.34 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.12 (dd, 1H,  $J = 4, 10$  Hz), 3.21 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.14 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 3.02 (t, 1H,  $J = 10, 10$  Hz), 2.80 (m, 1H), 2.70 - 2.80 (m, 2H), 2.66 (dd, 1H,  $J = 5, 13.5$  Hz), 2.61 (dd, 1H,  $J = 7.5, 13.5$  Hz), 1.91 (m, 1H), 1.64 - 1.80 (m, 4H), 1.37 (m, 1H).

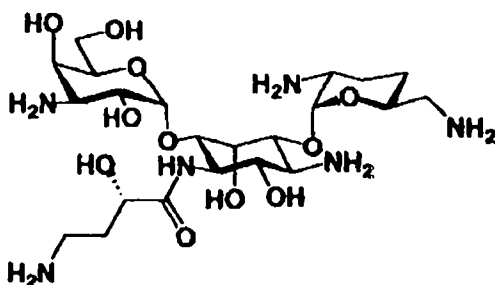
$^{13}\text{C-NMR}$  (26%  $\text{ND}_3\text{-D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  178.69, 101.16 96.93, 78.02, 76.08, 74.06, 73.28, 72.82, 71.34, 70.92, 68.35, 62.01, 55.40, 54.18, 53.77, 50.69, 46.29, 38.64, 37.58, 28.74, 27.43.

[0436]

Ejemplo 11

5,4"-Diepi-2-hidoxiarbecacina

[Fórmula química 118]

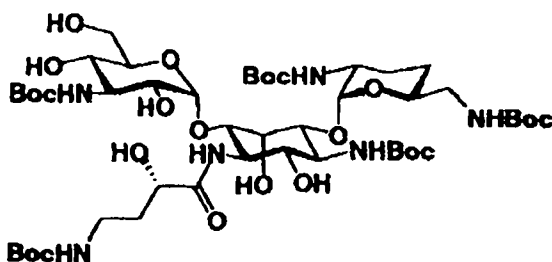


[0437] Etapa de producción 11-1

3,2',6',3'',4''-Penta-N-tert-butoxycarbonyl-5-epi-2-

5 hidoxiarbecacina

[Fórmula química 119]



[0438] El compuesto (65 mg) obtenido en la etapa 10-19  
 10 del ejemplo 10 se disolvió en 0.91 ml de agua. A la solución se  
 le añadió trietilamina (0.16 ml), se añadió además una solución  
 de 175 mg de dicarbonato de di-tert-butilo en 1-4 dioxano (1.17  
 ml), y la mezcla se agitó a 60°C durante 1.5 h. A ello se agregó  
 15 amoníaco acuoso concentrado (0.11 ml), y la mezcla se agitó a  
 60°C durante 30 min. La mezcla de reacción se llevó de nuevo a  
 temperatura ambiente y se concentró hasta sequedad. El residuo  
 se sometió a destilación azeotrópica con metanol por dos veces  
 para dar el compuesto del título (103 mg, cuantitativo).

Valor Rf: 0.53 (cloroformo: metanol: amoníaco acuoso 15M  
 20 (amoníaco acuoso concentrado) = 5: 1: 0.1).

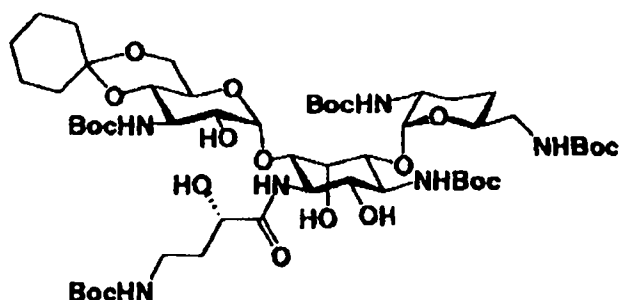
ESIMS: m/z 1091 [M + Na]<sup>+</sup>



[0439] Etapa de producción 11-2

3,2',6',3'',4''-Penta-N-tert-butoxicarbonil-4'',6''-O-  
ciclohexiliden-5-epi-2-hidoxiarbecacina

5 [Fórmula química 120]



[0440] El compuesto (103 mg) obtenido en la etapa de  
producción 11-1 se disolvió en 2.0 ml de N,N-dimetilformamida. A  
la solución se añadieron ciclohexanona di-i-propil acetal (58  
10 µL) y 12.4 mg de ácido p-toluensulfónico, y la mezcla se dejó  
reaccionar a temperatura ambiente durante una hora. A esto se  
agregó una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (20  
ml), y el precipitado resultante se recogió por filtración, se  
lavó con agua, y se secó bajo presión reducida para dar el  
15 compuesto del título (103 mg, 88%).

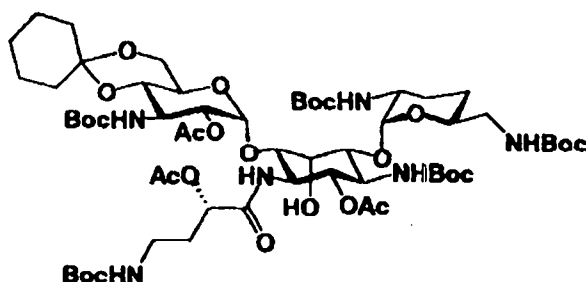
Valor Rf: 0.53 (cloroformo: metanol = 10:1).

ESIMS: m/z 1171 [M + Na]<sup>+</sup>

[0441] Etapa de producción 11-3

20 2,2'',2'''-Tri-O-acetil-3,2',6',3'',4''-Penta-N-tert-  
butoxicarbonil-4'',6''-O-ciclohexiliden-5-epi-2-hidoxiarbecacina

[Fórmula química 121]



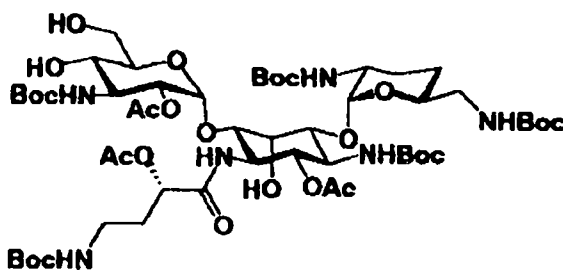
[0442] El compuesto (103 mg) obtenido en la etapa de producción 11-2 se disolvió en 2.1 ml de piridina. A la solución se le añadió anhídrido acético (0.13 ml) bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla se llevó de vuelta a temperatura ambiente y se la dejó reaccionar. Después de transcurridas 18.5 h desde el comienzo de la reacción, se agregaron además 0.11 ml de metanol bajo enfriamiento con hielo y la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 min y se la concentró a sequedad. Se agregó cloroformo (10 ml) al residuo. La solución se lavó dos veces con 3 ml de solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, dos veces con 3 ml de una solución acuosa de bisulfato de potasio al 5% y dos veces con 3 ml de agua, se secó sobre una sal de Glauber y se concentró a sequedad para dar el compuesto del título (117 mg, cuantitativo).

Valor Rf: 0.39 (cloroformo: metanol = 15:1).

ESIMS: m/z 1297 [M + Na]<sup>+</sup>

20 [0443] Etapa de producción 11-4  
2,2'',2'''-Tri-O-acetil-3,2',6',3'',4'''-Penta-N-tert-  
butoxicarbonil-5-epi-2-hidoxiarbecacina

[Fórmula química 122]



[0444] El compuesto (117 mg) obtenido en la etapa de producción 11-3 se disolvió en 5.17 ml de cloroformo : metanol (10: 1). A esta solución se añadió una solución acuosa de ácido trifluoroacético al 90% bajo enfriamiento con hielo y agitación y la mezcla se llevó de nuevo a temperatura ambiente y se agitó. Después de transcurridos 30 min desde el comienzo de la agitación, se agregaron 5.3 ml de cloroformo. La mezcla se lavó una vez con 3 ml de agua, dos veces con 3 ml con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y dos veces con 3 ml de salmuera semisaturada y se secó sobre una sal de Glauber y se concentró a sequedad para dar el compuesto del título (107 mg, cuantitativo).

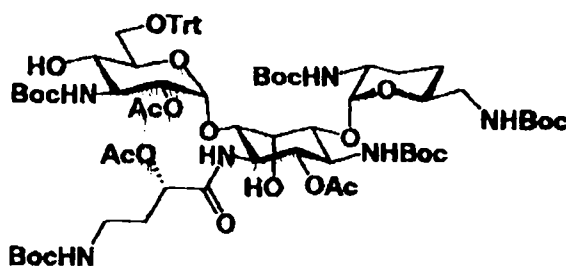
Valor Rf: 0.46 (cloroformo: metanol = 10:1).

ESIMS: m/z 1217 [M + Na]<sup>+</sup>

[0445] Etapas de producción 11-5

2,2'',2'''-Tri-O-acetil-3,2',6',3'',4'''-Penta-N-tert-butoxicarbonil-5-epi-2-hidoxi-O-tritilarbecacina

[Fórmula química 123]



[0446] El compuesto (83 mg) obtenido en la etapa de producción 114 se disolvió en 1.7 ml de piridina. A la solución se le añadieron 4-Dimetilaminopiridina (25 mg) y 116 mg de cloruro de tritilo, y la mezcla se dejó reaccionar a 65°C.

5 Después de transcurridas 17 h de la reacción, la mezcla se llevó de nuevo a temperatura ambiente. A ella se agregó metanol (0.08 ml) y la mezcla se dejó reposar durante una hora. La mezcla se concentró entonces a sequedad. Se agregó cloroformo (8 ml) al residuo. La solución se lavó dos veces con 3 ml de

10 solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, tres veces con 3 ml de una solución acuosa de bisulfato de potasio al 5% y tres veces con 3 ml de agua, se secó sobre una sal de Glauber y se concentró a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía de columna en sílica gel (3.4 g, tolueno: acetato de etilo: acetona = 6:1:1) para dar el compuesto del título (65 mg, 65%).

15

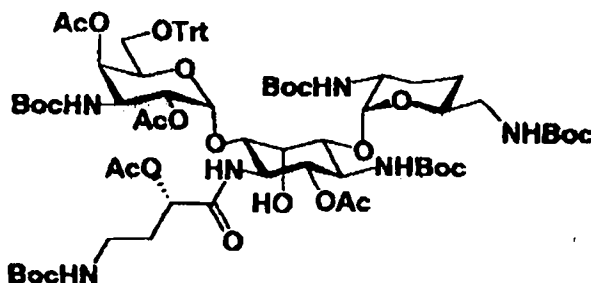
Valor Rf: 0.57 (cloroformo: metanol = 10:1).

ESIMS: m/z 1459 [M + Na]<sup>+</sup>

[0447] Etapas de producción 11-6

20 2,2'',4'',2'''-Tetra-O-acetil-3,2',6',3'',4'''-Penta-N-tert-butoxicarbonil-5,4''-diepi-2-hidoxi-6''-O-tritilarbecacina

[Fórmula química 124]



[0448] El compuesto (112 mg) obtenido en la etapa de producción 11-5 se disolvió en 2.3 ml de cloruro de metileno

bajo atmósfera de nitrógeno. A la solución se agregó piridina (0.13 ml). A ello se agregó anhídrido del ácido trifluorometansulfónico (66  $\mu$ l) bajo atmósfera de nitrógeno a -78°C con agitación. La mezcla se agitó a -20°C bajo atmósfera de nitrógeno por una hora. A eso se le agregó metanol (79  $\mu$ l) a -20°C, y además se agregaron inmediatamente 14 ml de cloroformo enfriado con hielo. La mezcla se lavó dos veces con 7 ml de solución acuosa de bisulfato de potasio al 10% enfriada con hielo, dos veces con 7 ml de solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio enfriada con hielo y dos veces con 7 ml de agua enfriada con hielo, seguidas por secado sobre una sal Glauber bajo enfriamiento con hielo por 10 min. La solución seca se concentró bajo presión reducida y enfriamiento con hielo. Cuando la solución se convirtió en jarabe, se suspendió la concentración.

[0449] El jarabe resultante se disolvió en 1.1 ml de N,N-dimetilformamida. A la solución se le añadió acetato de Cesio (150 mg) (secado a 120°C por 6 h), y la mezcla se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 18 h. La solución de la reacción se diluyó con 46 ml de acetato de etilo, y la solución diluida se lavó una vez con 11 ml de agua y tres veces con 11 ml de salmuera semisaturada, se secó sobre una sal de Glauber y se concentró a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía de columna en sílica gel (12 g, Tolueno: acetato de etilo: acetona = 4: 1: 1) para dar el compuesto del título (75 mg, rendimiento 65%)

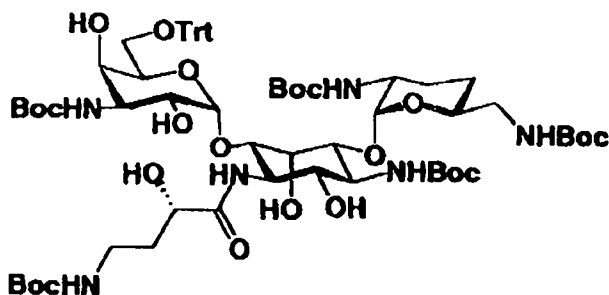
Valor Rf: 0.35 (Tolueno: acetato de etilo: acetona = 3:1:1)

ESIMS: m/z 1501 [M + Na]<sup>+</sup>

[0450] Etapa de producción 11-7

3,2',6',3'',4''-Penta-N-tert-butoxicarbonil-5,4''-diepi-2-hidoxi-6''-O-tritilarbecacina

[Fórmula química 125]



5

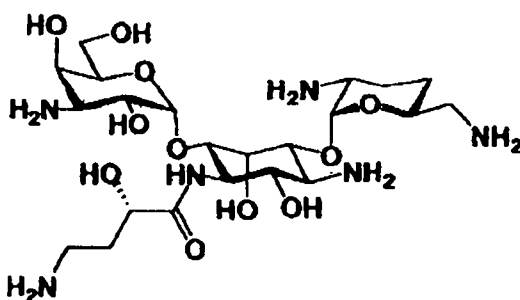
[0451] El compuesto (75 mg) obtenido en la etapa de producción 11-6 se disolvió en 2.3 ml de una solución al 0.5% de metóxido de sodio en metanol y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente por una h. La mezcla de reacción se neutralizó con Dowex W x 2 (forma H<sup>+</sup>, sustituido con metanol), y la resina se removi6 por filtraci6n. El filtrado se concentr6 a sequedad para dar el compuesto del t6tulo (64 mg, 96%).

Valor Rf: 0.60 (Tolueno: acetato de etilo: acetona = 1:1:1)

15 [0452] Etapa de producci6n 11-8

5,4''-diepi-2-hidoxiarbecacina

[F6rmula qu6mica 126]



[0453] El compuesto (64 mg) obtenido en la etapa de producci6n 11-7 se disolvi6 en 1.6 ml de una soluci6n de 6cido

20

trifluoroacético al 90% bajo enfriamiento con hielo. La solución se dejó reaccionar bajo enfriamiento con hielo durante 2h. La mezcla de reacción se concentró a sequedad. Se agregó agua (10 ml) al residuo y la solución se lavó tres veces con 3 ml de éter etílico. La capa acuosa se concentró a sequedad. Al residuo se le agregó amoníaco acuoso 0.005 M (10 ml) (pH 6 a 7) y la mezcla se adicionó a una columna de C-25 Sephadex-CM (equilibrada con 10 ml de amoníaco acuoso 0.005 M). La columna se lavó con 30 ml de amoníaco acuoso 0.005 M, y la elución se llevó a cabo con amoníaco acuoso cuya concentración se varió de 0.2 M (50 ml) a 0.5 M (200 ml). Las fracciones correspondientes se concentraron para dar 28.6 mg del compuesto del título: 5,-epi-2-hidoxiarbecacina (73% como 2.5 carbonato trihidratado) [0454] Valor Rf: 0.09 (cloroformo: metanol: amoníaco acuoso 15 M (amoníaco acuoso concentrado): etanol = 4:6:7:2).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DCl-D}_2\text{O}$ ,  $\text{pD} \sim 3$ ):  $\delta$  5.44 (1H,  $J = 3.5$  Hz), 5.16 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 4.77 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 4.35 (dd, 1H,  $J = 4.5, 9$  Hz), 4.31 (t, 1H,  $J = 11, 11$  Hz), 4.17 (d, 1H,  $J = 3$  Hz), 4.14 (m, 1H), 4.13 (d, 1H,  $J = 3, 11$  Hz), 4.11 (m, 1H), 4.02 (dd, 1H,  $J = 3, 11$  Hz), 3.98 (dd,  $J = 4, 11$  Hz), 3.81 (t, 1H,  $J = 11, 11$  Hz), 3.75 - 3.80 (m, 2H), 3.71 (t, 1H,  $J = 11, 11$  Hz), 3.67 (dd, 1H,  $J = 3, 11$  Hz), 3.63 (m, 1H), 3.28 (dd, 1H,  $J = 3.5, 13.5$  Hz), 3.21 (t, 2H,  $J = 7, 7$  Hz), 3.11 (dd, 1H,  $J = 7.5, 13.5$  Hz), 2.23 (m, 1H), 2.05 - 2.13 (m, 2H), 2.00 (m, 1H), 1.94 (m, 1H), 1.64 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DCl-D}_2\text{O}$ ,  $\text{pD} \sim 3$ ):  $\delta$  177.13, 100.42, 90.53, 76.63, 71.90, 70.56, 70.02, 68.33, 66.26, 66.20, 66.18, 65.57,

61.72, 53.73, 53.49, 52.59, 48.59, 42.96, 37.36, 31.34, 25.86, 21.32.

Calculado para  $C_{22}H_{44}N_6O_{11} \cdot 2.5H_2CO_3 \cdot 3H_2O$ . C, 37.84; H, 7.13; N, 10.81.

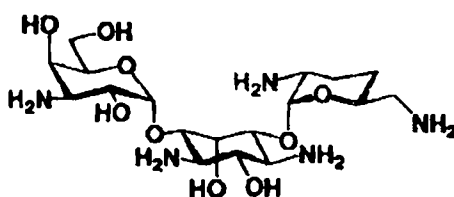
5 Hallado, C, 37.51; H, 7.49; N, 10.96.

[0455]

Ejemplo 12

5,4''-Diepi-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 127]

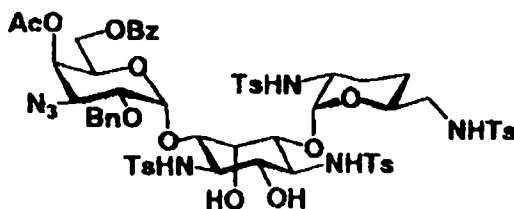


10 [0456]

Etapas de producción 12-1

4''-O-Acetil-3''-azido-6''-O-benzoil-2''-O-bencil-3''-deoxi-5,4''-diepi-1,3,2',6'-tetra-N-tosil-2-hidroxidibecacina

[Fórmula química 128]



15 [0457] Una solución de 667 mg del compuesto producido en la etapa de producción 10-5a en 34 ml de cloruro de metileno se agregó al compuesto obtenido en la etapa de producción 10-12 (1.16 g). A ello se agregó Drierita (3.43 g), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 3 h. Se agregó cianuro

20 mercurico (1.27 g) a la solución de la reacción, y la mezcla se agitó bajo condiciones de protección de la luz a temperatura ambiente durante 42 h. La solución de la reacción se filtró por Celita para retirar los insolubles. Los insolubles se lavaron



con 90 ml de cloroformo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con 60 ml de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, dos veces con 60 ml de una solución acuosa de yoduro de sodio al 10% y una vez con 60 ml de agua, se  
 5 secaron sobre una sal de Glauber y se concentraron a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía de columna en sílica gel (40 g, cloroformo → cloroformo : acetato de etilo = 1:1 → acetato de etilo) para dar el compuesto del título (529 mg, 31%). En éste caso, se recuperaron 423 mg (36%) del compuesto  
 10 inicial.

[0458] Valor Rf: 0.20 (Cloroformo: acetato de etilo = 5:2)

ESIMS: m/z 1368 [M + Na]<sup>+</sup>

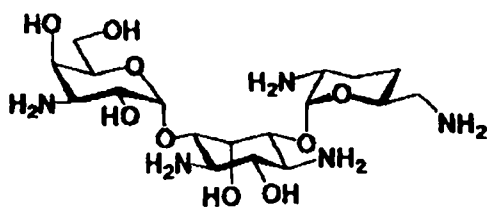
<sup>1</sup>H-NMR (piridina-d<sub>5</sub>): δ 9.02 (d, 1H, J = 7 Hz), 8.83 (d, 1H, J = 7 Hz), 8.50 (m, 1H), 8.48 (t, 1H, J = 6, 6 Hz), 7.03 -  
 15 8.28 (m, 26H), 6.00 (d, 1H, J = 3 Hz), 5.85 (d, 1H, J = 2 Hz), 5.58 (br. s, 1H), 4.81 - 5.26 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 12 Hz), 5.20 (br. s, 1H), 5.07 (m, 1H), 4.89 - 4.95 (m, 4H), 4.77 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.72 (m, 1H), 4.68 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 4.35 (m, 1H), 4.26 (br. d, 1H, J = 11 Hz), 4.23 (dd, 1H, J = 4, 10 Hz), 3.90  
 20 (t, J = 10, 10 Hz), 3.63 (m, 1H), 3.29 (m, 2H), 2.26 (m, 1H), 2.00, 2.07, 2.15, 2.18, 2.22 (cada uno s, cada uno 3H), 1.48-1.64 (m, 3H).

[0459] Etapas de producción 12-2

5,4''-Diepi-2-hidoxidibecacina

25

[Fórmula química 129]



[0460] Al compuesto obtenido en la etapa de producción 12-1 (529 mg) se le agregó una solución 0.5 M de metóxido de sodio en metanol (12 ml,) y la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 2 h. La mezcla de reacción se neutralizó con Dowex W x 2 (forma  $H^+$ , sustituido con metanol), y la resina se removi6 por filtraci6n, y el filtrado se concentr6 a sequedad para dar un producto crudo.

ESIMS:  $m/z$  1222  $[M + Na]^+$

10 Se deposit6 amoniaco l6quido (cerca de 25 ml) a  $-50^\circ C$  en un matraz con forma de berenjena que contenia el producto crudo, y se agregaron a ello 732 mg de sodio met6lico a  $-50^\circ C$ . La mezcla se agit6 vigorosamente con una barra agitadora de vidrio por 2 horas. Se adicion6 metanol gradualmente hasta que el color de los radicales desapareci6. La mezcla se llev6 de nuevo a temperatura ambiente para evaporar el amoniaco y finalmente se la concentr6 a sequedad con un evaporador. Se agreg6 agua (32 ml) al residuo, y la soluci6n se ajust6 a pH 4 a 5 con Dowex 50W x 2 (forma  $H^+$ ), y el contenido del matraz incluyendo la resina como tal se adicion6 a una columna empacada con 10 ml de la misma resina. La columna se lav6 con 120 ml de agua, y la eluci6n se llev6 a cabo con amoniaco acuoso 1 M. Una fracci6n positiva a la ninhidrina se concentr6 a sequedad para dar un producto crudo. El producto crudo se llev6 a soluci6n acuosa (40 ml). La soluci6n acuosa se deposit6 en una columna de C-25

447

Sephadex CM (equilibrada con 20 ml de amoníaco acuoso 0.005M), y la columna se lavó con agua (40 ml). La elución se llevó a cabo con amoníaco acuoso 0.05M → 0.2M → 0.5M (40 ml de cada uno), y la fracción correspondiente se concentró a sequedad para dar el  
 5 compuesto del título (104 mg, 43%, como monocarbonato monohidratado).

[0461] Valor Rf: 0.15 (1-butanol: etanol: cloroformo: amoníaco acuoso al 17% = 4:7:2:7).

ESIMS: m/z 468 [M + H]<sup>+</sup>, 490 [M + Na]<sup>+</sup>

10 <sup>1</sup>H-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 5.03 (d, 1H, J = 4 Hz), 4.92 (d, 1H, J = 3 Hz), 4.51 (t, 1H, J = 2, 2 Hz), 4.08 (m, 1H), 3.85 (d, 1H, J = 2 Hz), 3.80 (m, 1H), 3.68 (d, 2H, J = 5.5 Hz), 3.60 (dd, 1H, J = 4, 10.5 Hz), 3.49 (dd, 1H, J = 2, 10 Hz), 3.36 (dd, 1H, J = 2, 10 Hz), 3.14 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.12 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 3.10 (t, 1H, J = 10, 10 Hz), 2.98 (dd, 1H, J = 3, 10.5 Hz), 2.79 (m, 1H), 2.64 (dd, 1H, J = 4, 13.5 Hz), 2.60 (dd, 1H, J = 7.5, 13.5 Hz), 1.64 - 1.77 (m, 3H), 1.36 (m, 1H).  
 15

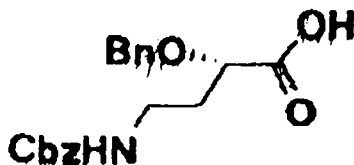
<sup>13</sup>C-NMR (26% ND<sub>3</sub>-D<sub>2</sub>O): δ 102.91, 96.82, 82.89, 76.46, 75.24, 73.81, 71.40, 71.07, 70.02, 68.09, 62.70, 54.36, 53.70, 52.49, 50.87, 46.51, 28.95, 27.61.  
 20

[0462] Ejemplo de Referencia 1

Síntesis del ácido

(S)-2-benciloxi-4-benciloxicarbonilaminobutírico

[Fórmula química 130]



[0463] Ácido (S)-4-benciloxicarbonilamino-2-hidroxibutírico (5.25 g, 20.7 mmol) sintetizado de acuerdo con el informe de Kawaguchi et al. (Journal of Antibiotics, Vol. 25, pp. 695 - 708 (1972)) se disolvió en 60 ml de N, N-dimetilformamida. Se  
5 agregó óxido de bario (15.9 g, 103.7 mmol) en baño de hielo. Después de transcurridos 2 min de la adición del óxido de bario, se agregó además hidróxido de bario octahidratado (13.4g, 42.5 mmol) en baño de hielo. Después de 10 min, se agregó a esto bromuro de bencilo (7.5 ml, 63.1 mmol) en baño de hielo. Después  
10 de 5 min, la reacción se llevó de nuevo a temperatura ambiente y se agitó vigorosamente. Después de 1.5 h, se confirmó la terminación de la reacción por TLC (cromatografía de capa fina) (sistema de solvente revelador = cloroformo: acetato de etilo: ácido acético = 10: 5: 1), y se agregó agua (0.5 ml) a ello, en  
15 baño de hielo. La mezcla se diluyó con cloroformo (165 ml), y a eso se le agregó HCl 4N (70 ml). Adicionalmente se agregó agua (25 ml) seguida por separación. La capa acuosa se extrajo con cloroformo (50 ml). La capa orgánica y la capa orgánica extraída se combinaron y se lavaron con solución acuosa saturada de  
20 NaCl. La solución lavada se secó sobre sulfato de magnesio. El solvente se retiró por destilación a presión reducida, y el residuo se purificó por cromatografía de columna en Silica Gel (silica gel 60, esferas neutras, 160g) (cloroformo: acetato de etilo = 4:1 → cloroformo: metanol = 10: 1 → cloroformo:  
25 metanol: ácido acético = 10: 1: 0.1 (600 ml)) para dar ácido (S)-2-benciloxi-4-benciloxicarbonilaminobutírico (2.86 g, 8.34 mmol).

[0464] LCMS: m/z 344 [M + H]<sup>+</sup>

449

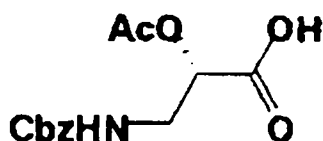
$^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  12.8 (s, 1H), 7.25 - 7.35 (m, 10H), 7.26 (d, 1H,  $J = 4.2$  Hz), 5.01 (s, 2H), 4.49 (ABq, 2H,  $J_{\text{gem}} = 12$  Hz), 3.97 (dd, 1H,  $J = 3.7, 8.8$  Hz), 3.08 - 3.18 (m, 2H), 1.67 - 1.93 (m, 2H).

5

[0465] Ejemplo de Referencia 2

Ácido (S)-2-acetoxi-3-amino-N-benciloxycarbonilpropanoico

[Fórmula química 131]

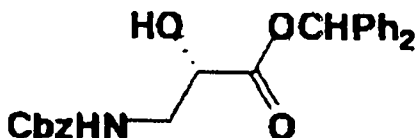


10

[0466] Etapla 1

Difenil metil éster del ácido (S)-3-amino-N-benciloxycarbonil-2-hidroxipropanoico

[Fórmula química 132]



15

[0467] N-Benciloxycarbonilisoserina (20 mg) sintetizada de acuerdo con el informe de R. D. Westland et al. (Carbohydr. Res., Vol. 28, pp. 268- 280 (1973)) se disolvió en 0.6 ml de tetrahidrofurano. A la solución se le agregó difenilmetilazida (24 mg), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 2 h. La solución de la reacción se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó por cromatografía de columna en silica gel (2g, hexano: acetato de etilo = 5: 1  $\rightarrow$  4: 1  $\rightarrow$  3: 1) para dar el compuesto del título (33 mg, cuantitativo)

20

[0468] Valor Rf: 0.54 (hexano: acetato de etilo = 1:1)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.25 - 7.35 (m, 15H), 6.91 (s, 1H), 5.05 (br, 2H), 4.39 (s, 1H), 3.68 - 3.71 (m, 1H), 3.49 - 3.58 (dd, 1H,  $J = 6.1, 6.9$  Hz), 3.21 (m, 1H)

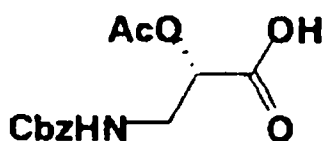
5

[0469]

Etapla 2

Ácido (S)-2-acetoxi-3-amino-N-benciloxicarbonilpropanoico

[Fórmula química 133]



10

El compuesto (26.3 mg) producido en la etapa de producción 1 se disolvió en 1 ml de cloruro de metileno. Se agregó Piridina (70  $\mu\text{l}$ ) a la solución. A ello se adicionaron anhídrido acético (20  $\mu\text{l}$ ) y 0.8 mg de 4-dimetilaminopiridina a 0°C. La mezcla de reacción se llevó de nuevo a temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 h. A eso se agregó metanol (100  $\mu\text{l}$ ), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 min para completar la reacción. Se añadió cloroformo (20 ml) y la mezcla se lavó con 15 ml de agua, se secó sobre sal de Glauber y se concentró a sequedad para dar difenil metil éster del ácido (S)-3-amino-2-acetoxi-N-benciloxicarbonilpropanoico (28.6 mg (99%)).

[0470] Valor Rf: 0.62 (hexano: acetato de etilo = 1:1)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.25 - 7.37 (m, 15H), 6.87 (s, 1H), 5.26 (dd, 1H,  $J = 4.8, 5.2$  Hz), 5.06 (br, 2H), 4.93 (s, 1H), 3.66 - 3.75 (m, 2H), 2.11 (s, 3H).

[0471] El compuesto anterior (28.6 mg) se disolvió en 0.6 ml de cloroformo. Se agregó ácido trifluoroacético (0.6 ml) a la solución a 0°C, y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se sometió a destilación azeotrópica, tres veces con tolueno a presión reducida, hasta sequedad, para dar el compuesto del título (21.2 mg) como producto crudo.

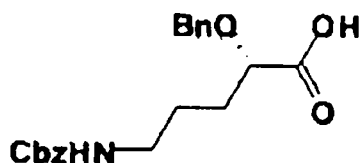
Valor R<sub>f</sub>: 0.44 (cloroformo: acetato de etilo: ácido acético = 10: 5: 1)

10 <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.26 - 7.35 (m, 5H), 5.25 (dd, 1H, J = 4.8, 5.1 Hz), 5.09 (br, 2H), 4.86 (s, 1H), 3.62 - 3.70 (m, 2H), 2.12 (s, 3H)

[0472] Ejemplo de Referencia 3

15 Ácido (S)-5-amino-2-benciloxi-N-benciloxicarbonilpentanoico

[Fórmula química 134]



[0473]

Ácido (S)-5-amino-N-benciloxicarbonil-2-hidoxipentanoico (21 mg) sintetizado de acuerdo con el informe de R. D. Westland et al. (Carbohydr. Res., Vol. 28, pp. 268- 280 (1973)) se disolvió en 0.24 ml de N-N dimetilformamida. A la solución se le agregó óxido de bario (64 mg) bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó durante 2 min. En seguida, se le agregó hidróxido de bario (5.4 mg), y se dio agitación adicional a la mezcla durante 10 min a la misma temperatura. Además se agregó bromuro de

bencilo (30  $\mu$ l). Después de transcurridos 5 min desde el inicio de la agitación, la mezcla de reacción se llevó de nuevo a temperatura ambiente y la mezcla se agitó vigorosamente durante 1.5 h. Bajo enfriamiento con hielo se agregó agua (15 ml), y se diluyó la mezcla con 30 ml de cloroformo. Se agregó HCl 4N (0.28 ml) a la solución diluida, y la mezcla se agitó por 5 minutos. La solución de la reacción se separó y la capa acuosa se extrajo nuevamente con 20 ml de cloroformo. La capa orgánica y la anterior capa orgánica se combinaron y se secaron sobre sulfato de magnesio. La solución así obtenida se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó por cromatografía de columna en sílica gel (30g, hexano: acetato de etilo = 4:1  $\rightarrow$  cloroformo: metanol = 10:1) para dar el compuesto del título (11 mg, 39%).

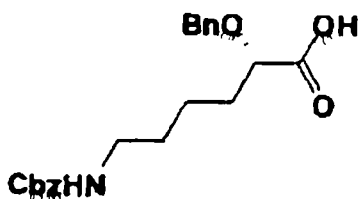
[0474] Valor Rf: 0.46 (cloroformo: acetato de etilo: ácido acético = 10: 5: 1)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.32 - 7.35 (m, 10H), 5.08 (br, 2H), 4.70 (d, 1H,  $J = 11.5$  Hz), 4.46 (d, 1H,  $J = 11.5$  Hz), 4.00 (t, 1H,  $J = 4.99$  Hz), 3.19 (br, 2H), 1.84 (dt, 2H,  $J = 4.99, 7.0$  Hz), 1.66 (tt, 2H,  $J = 7.0, 7.2$  Hz).

[0475] Ejemplo de Referencia 4

Ácido (S)-6-amino-2-benciloxi-N-benciloxicarbonilhexanoico

[Fórmula química 135]





[0476]

Ácido (S)-6-amino-N-benciloxycarbonil-2-hidrohexanoico (450 mg) sintetizado de acuerdo con el informe de R. D. Westland et al. (Carbohydr. Res., Vol. 28, pp. 268- 280 (1973)) se disolvió en 5.4 ml de N-N dimetilformamida. A la solución se le agregó óxido de bario (1230 mg) bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó durante 2 min. En seguida, se le agregó hidróxido de bario (1061 mg), y se dio agitación adicional a la mezcla durante 10 min a la misma temperatura. Después de esto, se agregaron 0.57 ml de bromuro de bencilo. Después de transcurridos 5 min desde la adición del bromuro de bencilo, la mezcla de reacción se llevó de nuevo a temperatura ambiente y la mezcla se agitó vigorosamente durante 1.5 h. Bajo enfriamiento con hielo se agregó agua (15 ml). La mezcla se diluyó con 30 ml de cloroformo. A esto se agregó HCl 4N (6.0 ml), y la mezcla se agitó por 5 minutos. La solución de la reacción se separó por filtración. La capa acuosa se extrajo nuevamente con 25 ml de cloroformo. La capa orgánica y la anterior capa orgánica se combinaron y se secaron sobre sulfato de magnesio. La solución se concentró bajo presión reducida, y el residuo se purificó por cromatografía de columna en sílica gel (32mg, hexano: acetato de etilo = 3:1) para dar el compuesto del título (196 mg, 33%).

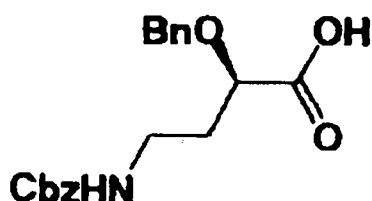
[0477] Valor Rf: 0.47 (cloroformo: acetato de etilo: ácido acético = 10: 5: 1)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.29 - 7.34 (m, 10H), 5.09 (br, 2H), 4.74 (d, 1H, J = 11.7 Hz), 4.46 (d, 1H, J = 11.7 Hz), 3.97 (t, 1H, J = 5.7 Hz), 3.16 (br, 2H), 1.77 - 1.83 (m, 2H) 1.41- 1.50 (m, 4H).

[0478]

Ejemplo de Referencia 5Ácido (R)-2-Benciloxi-4-benciloxicarbonilaminobutírico

[Fórmula química 136]



5

[0479]

Ácido 4-benciloxicarbonilamino-2-(R)-hidroxibutírico (2.245 g)  
 sintetizado de acuerdo con el método de H. Naito et al. (J.  
 Antibiot., Vol 26, pp. 297-301(1973)) se disolvió en 25.6 ml de  
 10 N-N dimetilformamida. A la solución se le agregó óxido de bario  
 (6.795 g) bajo enfriamiento con hielo y con agitación, y la  
 mezcla se agitó vigorosamente durante 2 min. A la mezcla de  
 reacción se le agregó hidróxido de bario octahidratado (5.593  
 g), y la mezcla se agitó vigorosamente durante 10 min bajo  
 15 enfriamiento con hielo. A ello se agregó bromuro de bencilo  
 (3.16 ml), y la mezcla se agitó vigorosamente bajo enfriamiento  
 con hielo por 5 min. La mezcla de reacción se llevó de nuevo a  
 temperatura ambiente y se agitó vigorosamente durante 1.5 h.  
 Bajo enfriamiento con hielo se agregó agua (0.48 ml), y se  
 20 diluyó la mezcla con 70 ml de cloroformo. Se agregó HCl 4N (31  
 ml) a la solución diluida. Luego se agregó agua (11 ml) a esto  
 seguida por separación. La capa acuosa se extrajo con 22 ml +  
 10 ml de cloroformo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron  
 con 30 ml de salmuera saturada, se secaron sobre sulfato de  
 25 magnesio y se concentraron a sequedad para dar 4.54 g de un  
 producto crudo. El producto se purificó por cromatografía de

columna en 70 g de sílica gel neutra (cloroformo → cloroformo: acetato de etilo = 4:1 → cloroformo: metanol = 10:1 → cloroformo: metanol-ácido acético = 10: 1: 0.1) para dar el compuesto del título (1.107 mg, 36%).

5 [0480] Valor Rf: 0.57 (cloroformo: acetato de etilo: ácido acético = 10: 5: 1)

ESIMS: M/Z 342 [M-H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.25 - 7.40 (10H), 5.06 (s, 2H), 4.94 (br. s, 1H), 4.40 - 4.76 (ABq, 2H, J<sub>gem</sub> = 11 Hz), 4.06 (t, 1H, J = 10 5.5, 5.5 Hz), 3.35 (m, 2H), 2.02 (m, 2H).

[0481] Ejemplo de Prueba 1

Actividad antimicrobiana

La concentración inhibitoria mínima (MIC) del  
15 compuesto representado por la fórmula (I), producido en el ejemplo 1, contra una cepa de MRSA, específicamente una cepa de MRSA aislada clínicamente (n=9), que tiene baja sensibilidad a la arbecacina y contra la cual la concentración inhibitoria mínima (MIC, µg/ml) es de 4 a 8, se determinó por el método de  
20 dilución en placa de agar de acuerdo con el método estándar de Japan Society of Chemotherapy (Chemotherapy, Vol. 29, pp 76 to 79, 1981).

Como resultado, el compuesto representado por la fórmula (I) tiene un valor MIC de 0.5 a 2. El compuesto  
25 representado por la fórmula (I) tuvo actividad antimicrobiana más alta que la de la arbecacina contra la anterior cepa de MRSA que tiene baja sensibilidad a la arbecacina.

[0482] Ejemplo de Prueba 2Actividad antimicrobiana

La concentración inhibitoria mínima (MIC) de las 2-hidroxiarbecacinas producidas en los ejemplos 5,6,8,9,10, y 11, 5 contra una cepa de MRSA, específicamente una cepa de MRSA aislada clínicamente, que es diferente a la que se empleó en el Ejemplo de Prueba 1 y tiene alta resistencia a la arbecacina y contra la cual el valor MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) es 128, se determinó por el método de dilución en placa de agar de acuerdo con el método 10 estándar de Japan Society of Chemotherapy (Chemotherapy, Vol. 29, pp 76 to 79, 1981).

Como resultado, estos compuestos tuvieron un valor MIC de 2 a 32, indicando que los compuestos representados por la fórmula (I) tuvieron actividad antimicrobiana más alta que la 15 de la arbecacina contra cepa de MRSA que mostró alta resistencia a la arbecacina.

[0483] Ejemplo de Prueba 320 Evaluación de la influencia sobre el riñón en ratones normales

Se proyectó un sistema de evaluación de la influencia sobre el riñón, con base método de preparación del modelo de enfermedad renal usando gentamicina (KIDNEY AND DIALYSIS, Vol. 31, 1991, extra edition, "Renal Disease Model", p. 423 "Drug- 25 induced Renal Damage and its Examination Method", Kidney and Dialysis Editorial Committee, published by TOKYOIGAKUSYA). La influencia del compuesto representado por la fórmula (I) producido en el ejemplo 1 sobre el riñón fue valorada empleando

éste sistema de evaluación. Un grupo al que se administró solución salina fisiológica y un grupo al que se administró arbecacina se establecieron como grupos de control. Cada grupo constó de cuatro ratones (Crj: CD-1 (ICR), ratones hembra de 5 ocho semanas de edad).

[0484] En el anterior sistema de evaluación, la evaluación de la nefrotoxicidad se efectuó empleando NAG como un índice. NAG que se encuentra el lisosoma de cada tejido de humanos y 10 animales es una enzima, que convierte un mucopolisacárido en una glicoproteína, por ejemplo, convierte  $\beta$ -N-acetil-D-glucosaminida en  $\beta$ -N-acetil-D-glucosamina, y está plenamente presente en las células epiteliales del túbulo urinífero proximal del riñón en el cual se acumulan particularmente los antibióticos 15 aminoglicósidos. Cuando el riñón, especialmente su túbulo urinífero proximal, está dañado, la NAG se libera en la orina para aumentar la cantidad de NAG en orina. Por lo tanto, se considera que el aumento de NAG en orina refleja el daño del túbulo urinífero proximal y se adopta como uno de los marcadores 20 bioquímicos para estimar el nivel de insuficiencia renal en detalles de pruebas clínicas. La cantidad de NAG se determina por un método de examen, por ejemplo un método para MCP-NAG (Outline of Latest Internal Medicine, Vol. 4, Clinical Laboratory - Kensa No Susumekata To Deta No Yomikata (How to 25 Forward Examination and How to Read Data)-<Naika Soron 4 (General Remarks of Internal Medicine 4> p. 274, Imura et al. (ed.), published by Nakayama Syoyen Co., Ltd., 1994).

[0485] Una solución de (suero) salino fisiológico del compuesto de acuerdo con la presente invención con una concentración de 12 mg/ml se administró a los ratones de cada grupo a una dosis de 120 mg/kg/día (dividida en dos dosis: 5 mañana y tarde) durante cuatro días por administración intraperitoneal repetida. La orina excretada naturalmente se recolectó por cerca de 24 horas desde la terminación de la administración en la mañana del día 4, y se midió la cantidad de NAG en la orina por el método MCP-NAG. El mismo tratamiento se 10 llevó a cabo para el grupo al que se le administró (suero) salino fisiológico y para el grupo al que se le administró arbecacina.

Los resultados fueron como se muestra en la tabla 1. La tabla 1 muestra el valor promedio de la cantidad de NAG para 15 cada grupo.

[0486] [Tabla 1]

Tabla 1: Influencia sobre el riñón de ratones normales

|    |                        |                                |
|----|------------------------|--------------------------------|
| 20 | Compuesto administrado | Cantidad de NAG en orina (mIU) |
|    | Compuesto representado | 74.7                           |
|    | Por la Fórmula (1)     |                                |
|    | Arbecacina             | 135.0                          |
| 25 | Salino fisiológico     | 19.7                           |

[0487] Como se describió en la tabla 1, la cantidad de NAG en 30 orina para el grupo al cual se le administró el compuesto representado por la fórmula (I) fue más pequeña que la cantidad de NAG para el grupo al cual se le administró arbecacina.

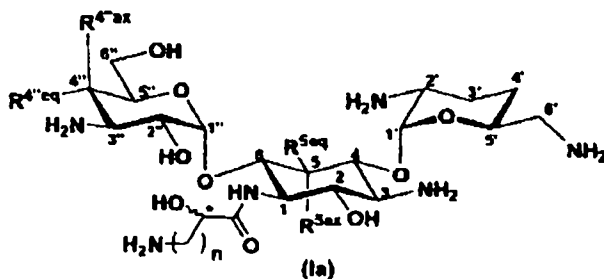
[0488] Ejemplo de prueba de referencia 1

La influencia de la arbecacina y de un análogo la arbecacina, la TS2037 (5,4"-diepiarbecacina) producida de acuerdo con la descripción de WO 2005/070945 sobre el riñón se evaluó de la misma manera que en el Ejemplo de Prueba 3. Como  
5 resultado, la cantidad de NAG en la orina para el grupo al que se le administró TS2037 fue 358.8 (mIU), mientras que la cantidad de NAG en la orina para el grupo al que se le administró arbecacina fue 168.5 (mIU). Esto es, La cantidad de NAG para el análogo de la arbecacina TS2037 fue más alta que  
10 para la arbecacina.

## [REIVINDICACIONES]

[1] Un compuesto representado por la fórmula (Ia) o su sal o su solvato aceptables farmacológicamente, o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \*.

[Fórmula química 1]



En donde

$R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo,

$R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo,

$n$  es un entero de 1 a 4, y

La configuración estérica del átomo de carbono unido con \* representa R o S.

[2] El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o su sal o su solvato aceptables farmacológicamente, o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \*, en donde

$R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$ , que son diferentes uno de otro, representan un átomo de hidrógeno o hidroxilo, y

$R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$ , que son diferentes uno de otro, representan un átomo de hidrógeno o hidroxilo.



[3] El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 o su sal o su solvato aceptables farmacológicamente, o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \*, en donde

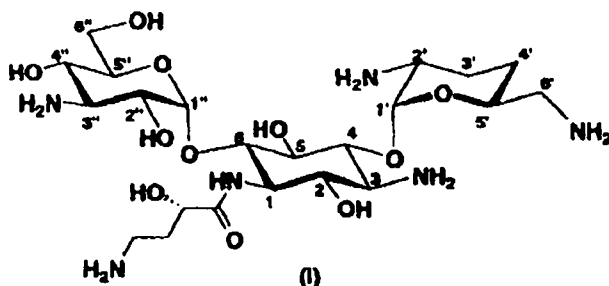
- 5  $R^{5ax}$  representa un átomo de hidrógeno, y  
 $R^{5eq}$  representa hidroxilo.

[4] El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 o su sal o su solvato aceptables farmacológicamente, o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \*, en donde

- $R^{5ax}$  representa hidroxilo, y  
 $R^{5eq}$  representa un átomo de hidrógeno.

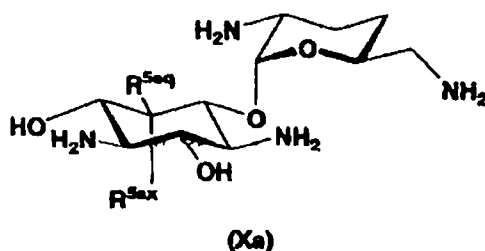
- 15 [5] Un compuesto representado por la fórmula (I) o su sal o su solvato aceptables farmacológicamente:

[Fórmula química 2]



- [6] Un compuesto representado por la fórmula (Xa):

[Fórmula química 3]





G representa

un átomo de hidrógeno

C1-6 alquilcarbonilo opcionalmente sustituido

arilcarbonilo opcionalmente sustituido, o

5 aril C1-3 alquilo opcionalmente sustituido.

[9] El compuesto de acuerdo con la reivindicación 7 o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \*, en donde

10  $R^2$  representa aril C1-3 alquilo opcionalmente sustituido por metoxi o nitro,

$R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  que pueden ser iguales o diferentes, representan

C1-6 alquilsulfonilo opcionalmente sustituido por fenilo  
15 opcionalmente sustituido

arilsulfonilo opcionalmente sustituido por metilo, o

C1-6 alquilocarbonilo opcionalmente sustituido por fenilo  
opcionalmente sustituido

E representa C1-6 alquilocarbonilo opcionalmente  
20 sustituido por fenilo opcionalmente sustituido, y

G representa

un átomo de hidrógeno

C1-6 alquilcarbonilo

arilcarbonilo, o

25 aril C1-3 alquilo opcionalmente sustituido por metoxi.

[10] El compuesto de acuerdo con la reivindicación 7 o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \*, en donde

$R^2$  representa bencilo, metoxibencilo o nitrobencilo,  
 5  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  que pueden ser iguales o diferentes, representan

metansulfonilo, bencilsulfonilo,

p-toluensulfonilo,

benciloxicarbonilo, tert-butoxicarbonilo,

10 p-metoxibenciloxicarbonilo, o p-nitrobenciloxicarbonilo

E representa benciloxicarbonilo, y

G representa

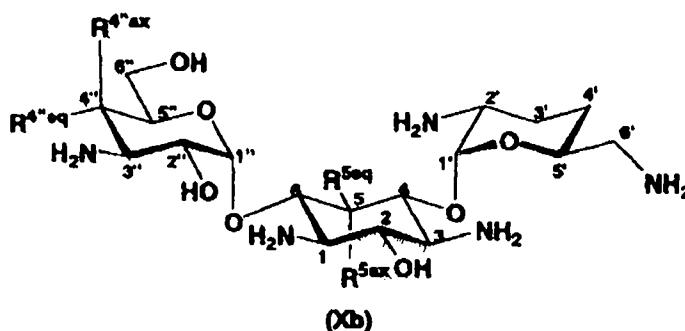
un átomo de hidrógeno

acetilo,

15 benzoilo, bencilo, p-metoxibencilo, o trifenilmetilo.

[11] Un compuesto representado por la fórmula (Xb):

[Fórmula química 5]



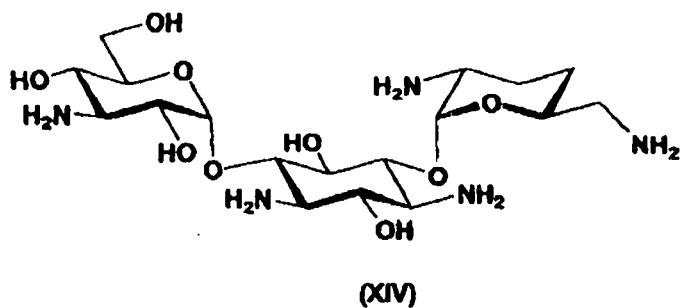
20 En donde

$R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$ , que son diferentes uno de otro, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo, y

$R^{4ax}$  y  $R^{4eq}$ , que son diferentes uno de otro, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo.

[12] Un compuesto representado por la fórmula (XIV):

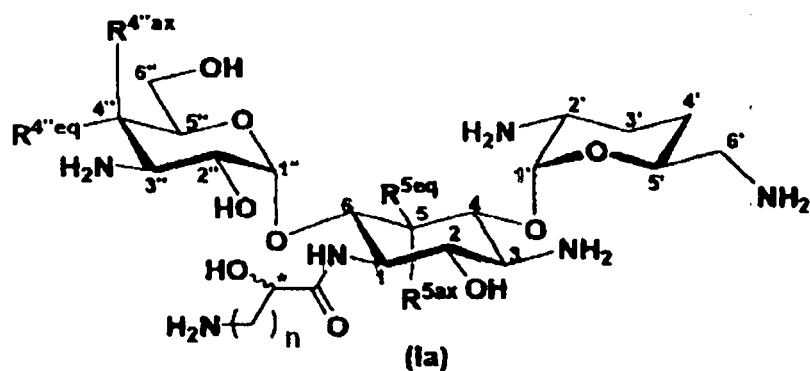
[Fórmula química 6]



5

[13] Un proceso para producir un compuesto representado por la fórmula (Ia):

[Fórmula química 7]



10

en donde

$R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo, y

$R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo.

15

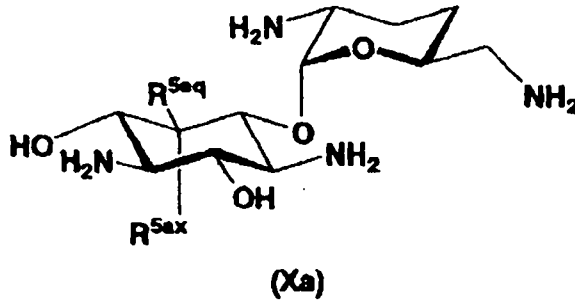
n es un entero de 1 a 4, y

la configuración estérica del átomo de carbono unido con \* representa R o S,

comprendiendo el proceso las etapas de

-introducción de grupos protectores en los grupos amino en un compuesto representado por la fórmula (Xa):

[Fórmula química 8]



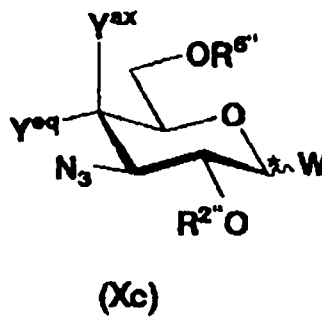
5

en donde  $R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$  son como se define en la fórmula (Ia),

-reacción del compuesto representado por la fórmula (Xa) con un compuesto representado por la fórmula (Xc):

10

[Fórmula química 9]

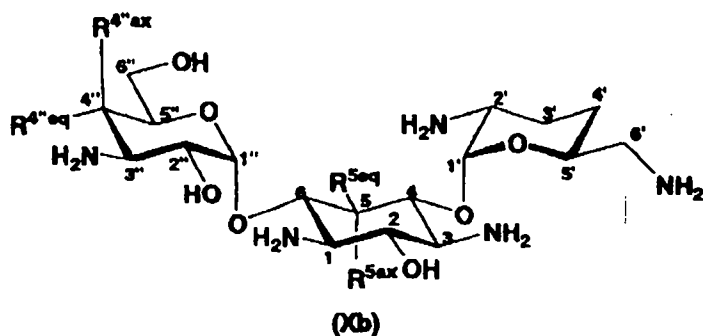


en donde W representa un grupo saliente;  $Y^{ax}$  y  $Y^{eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan el grupo  $-OR^{4''}$  o un átomo de hidrógeno;  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  representan un grupo protector para hidroxilo, y la configuración estérica del átomo de carbono unido con \* representa R o S,

-remoción del grupo protector del compuesto resultante y conversión de un grupo azido en el compuesto en un grupo amino para dar un compuesto representado por la fórmula (Xb):

20

[Fórmula química 10]

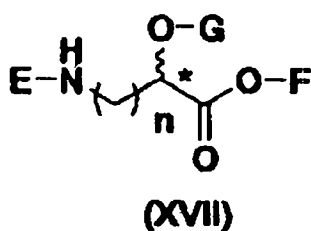


5            en donde  $R^{5ax}$ ,  $R^{5eq}$ ,  $R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$  son según se definió en la fórmula (Ia),

-introducción opcional de grupos protectores en grupos funcionales diferentes al grupo amino de la posición 1- del compuesto representado en la fórmula (Xb),

10            -reacción del compuesto resultante con un compuesto representado por la fórmula (XVII):

[Fórmula química 11]



15            en donde E representa un grupo protector para el grupo amino; G representa un grupo protector para el grupo hidroxilo; F representa un átomo de hidrógeno o un grupo activador de ácido carboxílico; n es un entero de 1 a 4; y la configuración estérica del átomo de carbono unido con \* representa R o S, y

20            -remoción de los grupos protectores del compuesto resultante para dar el compuesto representado por la fórmula (Ia).

[14] El proceso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde

$R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$ , que son diferentes uno de otro, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo, y

$R^{4''ax}$  y  $R^{4''eq}$ , que son diferentes uno de otro, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo.

[15] El proceso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde

$R^{5ax}$  representa un átomo de hidrógeno y  $R^{5eq}$  representa hidroxilo.

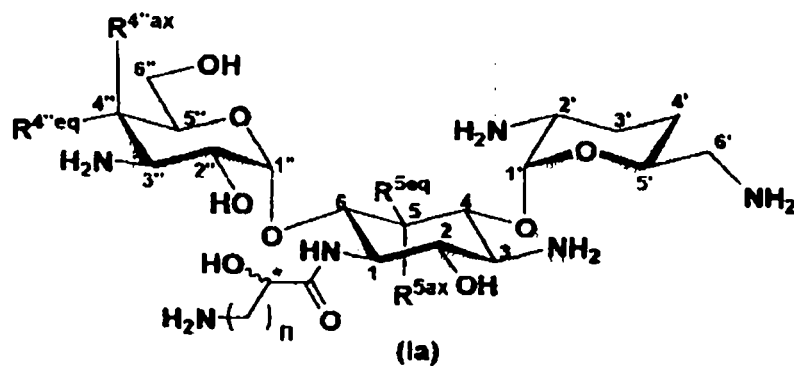
[16] El proceso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde

$R^{5ax}$  representa hidroxilo y  $R^{5eq}$  representa un átomo de hidrógeno.

[17] Un proceso para producir un compuesto representado por la fórmula (Ia):

20

[Fórmula química 12]



en donde



$R^{5ax}$  representa un átomo de hidrógeno,

$R^{5eq}$ , representa hidroxilo, y

$R^{4'ax}$  y  $R^{4'eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un hidroxilo.

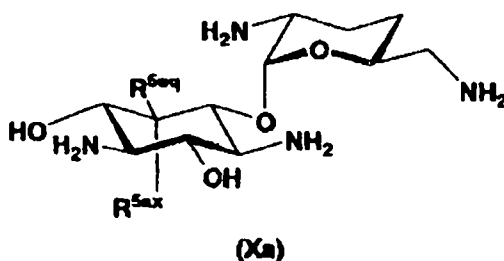
5            n es un entero de 1 a 4, y

la configuración estérica del átomo de carbono unido con \* representa R o S,

comprendiendo el proceso las etapas de

-introducción de grupos protectores en los grupos  
10 amino en las posiciones 3-, 2'-, y 6' y el grupo hidroxilo en la posición 2- de un compuesto representado por la fórmula (Xa):

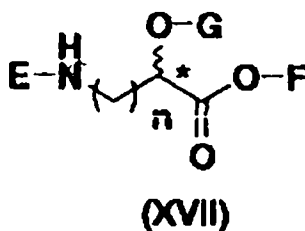
[Fórmula química 13]



en donde  $R^{5ax}$  y  $R^{5eq}$  son como se define en la fórmula (Ia),

15            -reacción del compuesto resultante con un compuesto representado por la fórmula (XVII):

[Fórmula química 14]



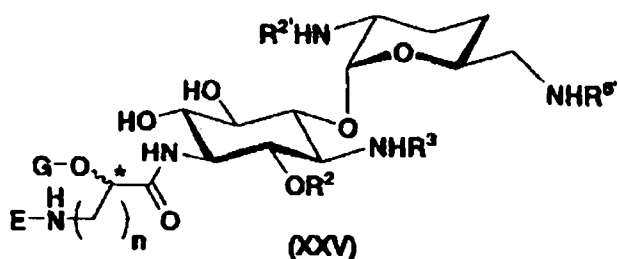
20            en donde E representa un grupo protector para el grupo amino; G representa un grupo protector para el grupo hidroxilo; F representa un átomo de hidrógeno o un grupo activador de ácido

470.

carboxílico; n es un entero de 1 a 4; y la configuración estérica del átomo de carbono unido con \* representa R o S, para dar un compuesto representado por la fórmula (XXV):

[Fórmula química 15]

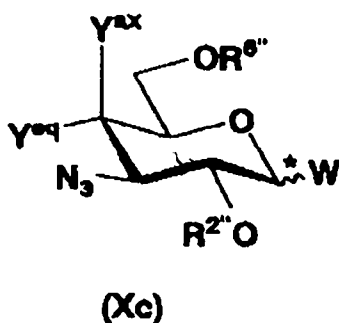
5



en donde  $R^2$  representa un grupo protector para el grupo hidroxilo;  $R^3$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^{6'}$  representan un grupo protector para el grupo amino; y E, G, n y la configuración estérica del átomo de carbono unido con \* son como se definió en la fórmula (XVII),

-reacción del compuesto representado por la fórmula (XXV) con un compuesto representado por la fórmula (Xc) o (Xd):

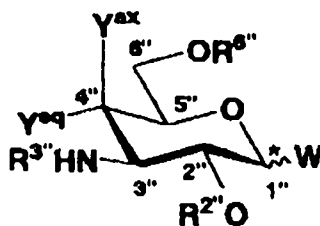
[Fórmula química 16]



15 en donde W representa un grupo saliente ;  $Y^{ax}$  y  $Y^{eq}$ , que pueden ser iguales o diferentes, representan el grupo  $-OR^{4''}$  o un átomo de hidrógeno;  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  representan un grupo protector para el grupo hidroxilo, y la configuración estérica del átomo de carbono unido con \* representa R o S,

20

[Fórmula química 17]



(Xd)

en donde  $W$ ,  $Y^{ax}$ ,  $Y^{eq}$ ,  $R^{2''}$ ,  $R^{4''}$  y  $R^{6''}$  y la configuración estérica del átomo de carbono unido con  $*$  son como se definió en (Xc); y  $R^{3''}$  representa un grupo protector para el grupo amino, y

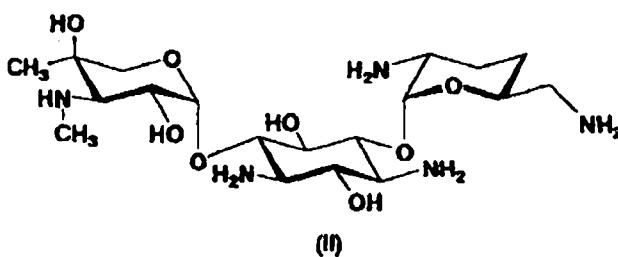
5 -remoción de los grupos protectores del compuesto resultante y, cuando se emplea el compuesto representado por la fórmula (Xc), conversión del grupo azido del compuesto en un grupo amino para dar un compuesto representado por la fórmula (Ia).

10

[18] El proceso de acuerdo con la reivindicación 15 o 17, en donde el compuesto representado por la fórmula (Xa) se produce por hidrólisis del compuesto representado por la fórmula (II):

15

[Fórmula química 18]

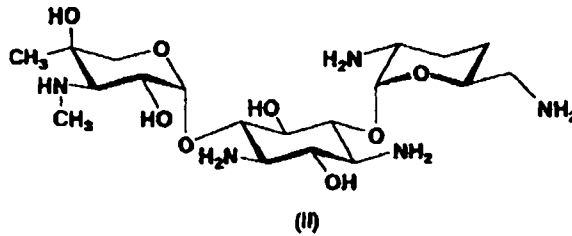


[19] El proceso de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el compuesto representado por la fórmula (Xa) se produce por introducción de grupos protectores en grupos hidroxilo diferentes a aquellos localizados en las posiciones 4''- y 5- y

20

en los grupos amino en un compuesto representado por la fórmula (II):

[Fórmula química 19]



5

inversión de la configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5- del compuesto resultante, y

remoción del grupo protector del compuesto resultante, y ulterior hidrólisis del compuesto para dar el compuesto  
10 representado por la fórmula (Xa).

[20] El proceso de acuerdo con la reivindicación 19, que además comprende la eliminación del grupo hidroxilo de la posición 4"-, anterior o simultáneamente con la inversión de la  
15 configuración estérica del grupo hidroxilo en la posición 5-.

[21] Una composición farmacéutica que contiene un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables, o su mezcla diastereoisómera con  
20 respecto al átomo de carbono unido con \*.

[22] Una composición farmacéutica que contiene un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables.

25

[23] Un agente antimicrobiano que contiene un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables, o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \*.

5

[24] Un agente antimicrobiano que contiene un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables.

10 [25] Un agente anti-MRSA que contiene un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \*.

15 [26] Un agente anti-MRSA que contiene un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables.

20 [27] Un método de prevención o tratamiento de una enfermedad infecciosa, que comprende la administración de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \* a un animal, incluyendo un humano.

25

[28] El método de acuerdo con la reivindicación 27, en donde la enfermedad infecciosa se deriva de MRSA.

[29] Un método de prevención o tratamiento de una enfermedad infecciosa, que comprende la administración de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables a un animal, incluyendo un humano.

[30] El método de acuerdo con la reivindicación 29, en donde la enfermedad infecciosa se deriva de MRSA.

10

[31] El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables, o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \* para la manufactura de una composición farmacéutica.

15

[32] El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables para la manufactura de una composición farmacéutica.

20

[33] El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables, o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \* para la manufactura de un agente antimicrobiano.

25

[34] El uso de un compuesto de acuerdo con la

reivindicación 5 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables para la manufactura de un agente antimicrobiano.

[35] El uso de un compuesto de acuerdo con la  
5 reivindicación 1 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables, o su mezcla diastereoisómera con respecto al átomo de carbono unido con \* para la manufactura de un agente anti-MRSA.

10 [36] El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 o su sal o solvato farmacológicamente aceptables para la manufactura de un agente anti-MRSA.

15



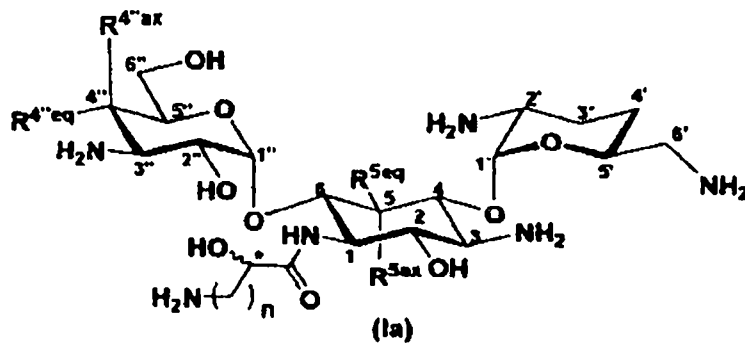
20

## RESUMEN

5           Esta invención se refiere a antibióticos aminoglicósidos  
novedosos, que tienen actividad antimicrobiana eficaz contra  
bacterias que inducen enfermedades infecciosas, particularmente  
MRSA, y que no tienen nefrotoxicidad significativa, y procesos  
para producirlos. Más particularmente, la presente invención se  
10           refiere a compuestos representados por la fórmula (Ia) o sus  
sales o solvatos farmacológicamente aceptables, o sus mezclas  
diastereoisómeras, agentes antimicrobianos que los contienen, y  
un proceso para producirlos.

[Fórmula química 1]

15



20



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/061209

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07H15/234(2006.01)i, A61K31/7036(2006.01)i, A61P31/04(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07H15/234, A61K31/7036, A61P31/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

|                           |           |                            |           |
|---------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
| Jitsuyo Shinan Koho       | 1922-1996 | Jitsuyo Shinan Toroku Koho | 1996-2007 |
| Kokai Jitsuyo Shinan Koho | 1971-2007 | Toroku Jitsuyo Shinan Koho | 1994-2007 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAplus (STN), CAOLD (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Relevant to claim No. |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A         | WO 2005/070945 A1 (Meiji Seika Kaisha, Ltd.),<br>04 August, 2005 (04.08.05),<br>Full text<br>& EP 1710248 A1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1-26, 31-36           |
| A         | JP 57-53496 A (Zaidan Hojin Biseibutsu Kagaku<br>Kenkyukai),<br>30 March, 1982 (30.03.82),<br>Full text<br>& JP 57-175198 A                      & US 4410516 A<br>& GB 2082575 A                        & DE 3131731 A<br>& NL 8103639 A                        & FR 2491073 A<br>& DE 3152755 A                        & ES 8308334 A<br>& ES 8401092 A                        & ES 8401093 A<br>& CA 1175816 A                        & CH 648564 A | 1-26, 31-36           |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
19 June, 2007 (19.06.07)

Date of mailing of the international search report  
03 July, 2007 (03.07.07)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/061209

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relevant to claim No. |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A         | JP 51-48634 A (Zaidan Hojin Biseibutsu Kagaku Kenkyukai),<br>26 April, 1976 (26.04.76),<br>Full text<br>& US 4147861 A & BE 834236 A<br>& NL 7511662 A & DE 2543535 A<br>& SE 7511229 A & DK 7504514 A<br>& FR 2287233 A & ZA 7506291 A<br>& GB 1475481 A & CA 1050537 A<br>& CH 615685 A & SU 965359 A                                                                                                                                                                                                                                                                     | 1-26,31-36            |
| A         | JP 49-62442 A (Zaidan Hojin Biseibutsu Kagaku Kenkyukai),<br>17 June, 1974 (17.06.74),<br>Full text<br>& JP 49-80039 A & JP 49-94648 A<br>& US 4001208 A & US 4107424 A<br>& DE 2350169 A & FR 2201875 A<br>& GB 1426908 A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 1-26,31-36            |
| A         | JP 51-108041 A (Sterling Drug Inc.),<br>25 September, 1976 (25.09.76),<br>Full text<br>& US 3982996 A & DE 2606517 A<br>& BE 838630 A & NL 7601655 A<br>& NO 7600472 A & DK 7600631 A<br>& FI 7600387 A & SE 7601810 A<br>& FR 2301265 A & PT 64816 A<br>& FI 7800197 A & FI 7800198 A<br>& FR 2366309 A & GB 1529376 A<br>& GB 1543518 A & CA 1061731 A<br>& AT 7800468 A & DK 7901771 A<br>& DK 7901772 A & IL 49053 A<br>& AT 7800467 A & CH 617964 A<br>& CH 618214 A & CH 618215 A<br>& NO 8003185 A & NO 8003186 A<br>& SE 8007539 A & SE 8007540 A<br>& NO 8200574 A | 1-26,31-36            |
| A         | JP 55-151597 A (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.),<br>26 November, 1980 (26.11.80),<br>Full text<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 1-26,31-36            |
| A         | SHIER, W. Thomas et al., Preparation of two new aminoglycoside antibiotics, Journal of Antibiotics, 1970, Vol.23, No.1, pp.51-53                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 1-26,31-36            |

479

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/061209

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 27-30

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 27 to 30 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

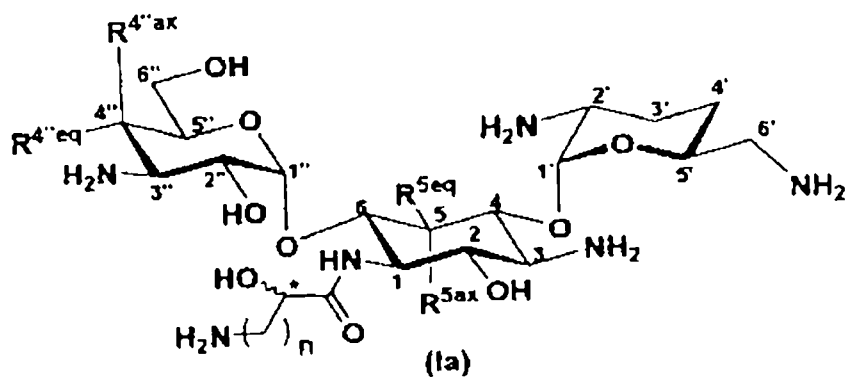
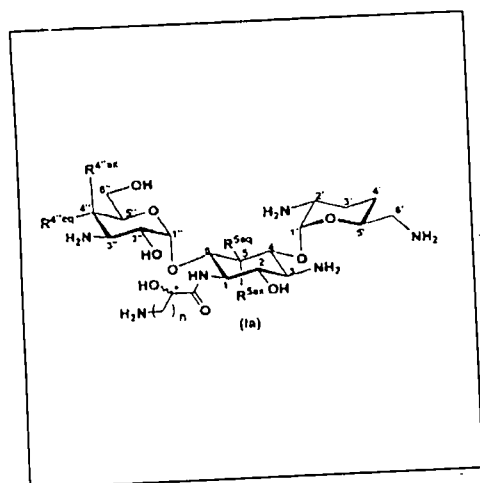
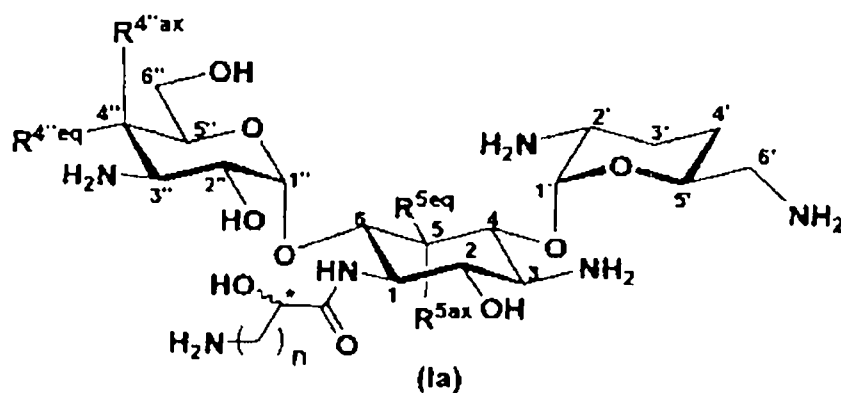
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest  
the

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest



482

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-138166- -00000-0000

Fecha: 2008-12-30 17:10:47 Dep. 2020 NUECREACION  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 482

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 97,012  
FECHA : DICIEMBRE 15 DE 2008

\*\*\*\*\* CONSIGNACION \*\*\*\*\*

| DEPOSITANTE       | TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PGO  | Vr. PAGO      |
|-------------------|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CAVELIER ABOGADOS | CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 102218944 | 15/12/2008 | 19,210,000.00 |

\*\*\*\*\* CONCEPTO \*\*\*\*\*

| CANT. | RENTISTICO  | CONCEPTO                          | TOTAL CONCEPTO |
|-------|-------------|-----------------------------------|----------------|
| 1     | 50005-01-01 | SOLICITUDES                       |                |
| 1     |             | TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN | 501,000.00     |
|       |             | TOTAL :                           | \$ 501,000.00  |

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. \_\_\_\_\_

0010:16833-841-001-7.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-138166- -00000-0000

Fecha: 2008-12-30 17:10:47 Dep 2020 NUECREACION  
Tra 11 PATENTEIYII Eva 378 FASENACIONAL  
Act 411 PRESENTACION Folios: 482



**Industria y Comercio**  
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE  
PCT

PATENTE DE INVENCION

[ 1 ]

MODELO DE UTILIDAD [ ]

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [ ]
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- ◆ Descripción de la invención [ ]
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes [ ]
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ]

INCOMPLETA [ ]

DISEÑO INDUSTRIAL [ ]

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial [ ]
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño [ ]
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ]

INCOMPLETA [ ]

ESQUEMA DE TRAZADO [ ]

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado [ ]
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado [ ]
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ]

INCOMPLETA [ ]

Mauricio Bz  
Firma Responsable

Fecha 30 Dic 08

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10  
Conmutador: 3 82 08 40  
Fax: 350 52 20  
E-mail: [info@sic.gov.co](mailto:info@sic.gov.co)  
[www.sic.gov.co](http://www.sic.gov.co)  
Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA  
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 484

2020  
Bogotá D.C.,

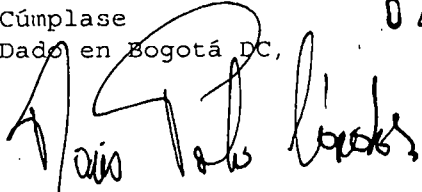
Doctor(a)  
FERRERO EMILIO  
Apoderado(a) y/o Representante de  
MEIJI SEIKA KAISHA LTD.  
MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH FOUNDATION

|            |                            |                   |
|------------|----------------------------|-------------------|
| REFERENCIA | Radicación No.             | 08 138166         |
|            | Solicitud internacional    | PCT/JP2007/061209 |
|            | Fecha inicio fase nacional | 02/01/2009        |
|            | Trámite                    | 11                |
|            | Evento                     | 378               |
|            | Actuación                  | 416               |
|            | Oficio No.                 | 7572              |
|            | Folios                     | 1                 |

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase  
Dado en Bogotá DC,

04 MAR. 2009

  
DORIS ELENA POLO CORDOBA  
Jefe de la división de Nuevas Creaciones (E)

adpall