

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :

2 492 386.

(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 81 19399

(54) Nouveaux composés tétracycliques, leur préparation et les préparations pharmaceutiques les contenant.

(51) Classification internationale (Int. Cl.³). C 07 H 15/24; A K 31/71; C 12 P 19/56
// A 61 K 31/C 12 R 1/465

(22) Date de dépôt 15 octobre 1981.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : *Grande-Bretagne, 16 octobre 1980, n° 80 33399.*

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — « Listes » n° 16 du 23-4-1982.

(71) Déposant : F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE, société anonyme, résidant en Suisse.

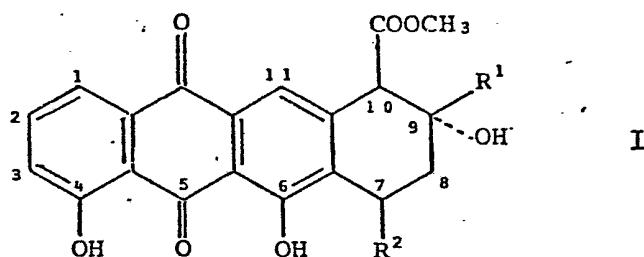
(72) Invention de : Akiko Fujiwara, Tatsuo Hoshino et Masaaki Tazoe.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

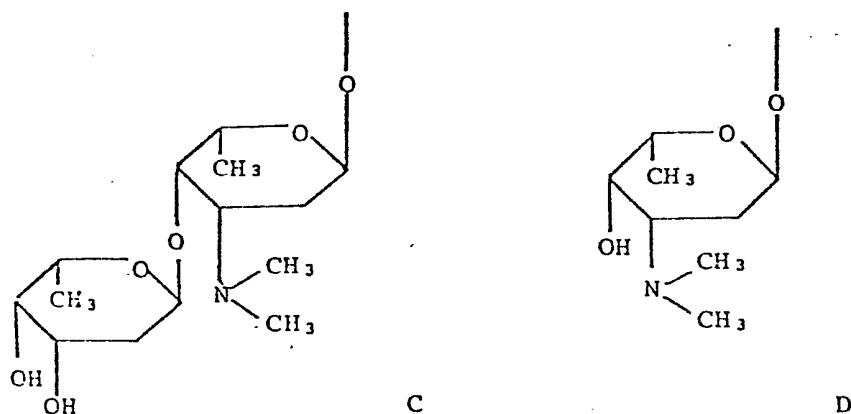
(74) Mandataire : Cabinet Regimbeau, Corre, Martin et Schrimpf,
26, av. Kléber, 75116 Paris.

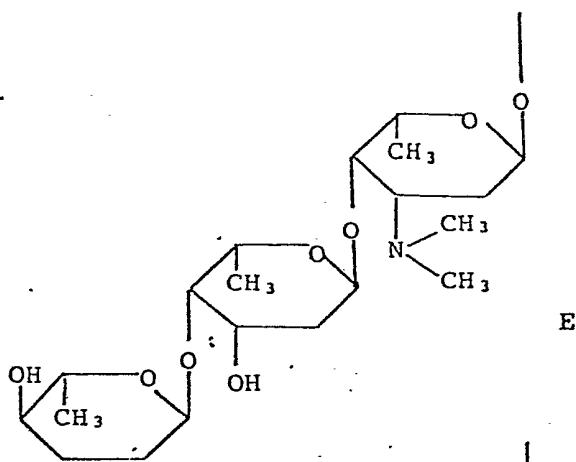
La présente invention concerne de nouveaux composés tétracycliques, un procédé pour leur préparation et les préparations pharmaceutiques contenant ces composés qui sont efficaces contre les tumeurs et les bactéries.

Plus particulièrement, l'invention concerne de nouvelles anthracyclines qui sont des composés de formule générale

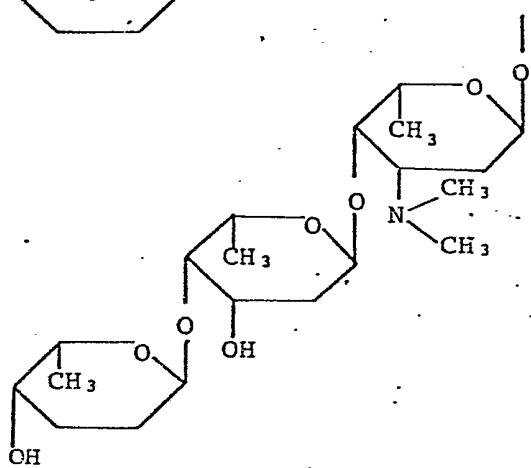


où R^1 représente un groupe méthyle ou acétonyle et R^2 représente un groupe de formule

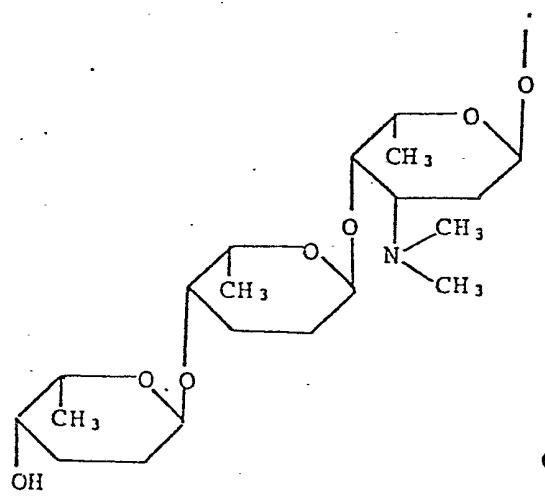




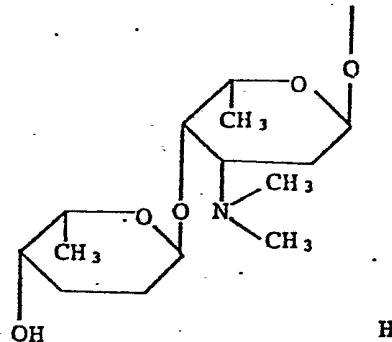
E



F



G



Dans cette description et dans les revendications jointes les composés spécifiques compris dans la formule I sont désignés comme suit :

R ₁	R ₂	Composé
	C	Auramycine C
	D	Auramycine D
-CH ₃	E	Auramycine E
	F	Auramycine F
	G	Auramycine G
	H	Auramycine H
<hr/>		
	C	Sulfurmycine C
	D	Sulfurmycine D
-CH ₂ -CO-CH ₃	E	Sulfurmycine E
	F	Sulfurmycine F
	G	Sulfurmycine G
	H	Sulfurmycine H

Les nouveaux composés fournis par l'invention se caractérisent par les données physico-chimiques suivantes. (Les solvants utilisés dans la chromatographie en couche mince (CCM) sont le chloroforme/méthanol, 7:1, v/v (solvant A); le benzène/méthanol, 5:1, v/v (solvant B) et le chloroforme/méthanol, 5:1, v/v (solvant C)) :

Auramycine C ($C_{35}H_{43}O_{13}N$)

PM :: 685,3

Point de fusion : 151,0°C (avec décomposition)

10 Rotation spécifique : $[\alpha]^{20} + 78,8^\circ$ ($c = 0,1$ dans le chloroforme).

CCM (gel de silice) : Rf 0,20 (solvant A)
Rf 0,30 (solvant B)

Auramycine D ($C_{29}H_{33}O_{10}N$)

PM : 555,2

Point de fusion : 139,5°C (avec décomposition)

15 Rotation spécifique : + 189,3° (c = 0,1 dans le chloroform)

CCM (gel de silice) : Rf 0,08 (solvant A)
Rf 0,14 (solvant B)

Auramycine E ($C_{41}H_{53}O_{15}N$)

PM : 799,9

Point de fusion : 157,0°C (avec décomposition)

20 Rotation spécifique : + 32,3° ($c = 0,1$ dans le chloroformé)

CCM (Gel de silice) : Rf 0,44 (solvant A)
Rf 0,41 (solvant B)

Auramycine F ($C_{41}H_{53}O_{15}N$)

PM : 799,9

Point de fusion : 160,0°C (avec décomposition)

rotation spécifique : +26,7° (c = 0,1 dans le chloroforme)

5 CCM (gel de silice) : Rf 0,39 (solvant A)
0,38 (solvant B)Auramycine G ($C_{41}H_{53}O_{14}N$)

PM : 783,9

Point de fusion : 148,5°C (avec décomposition)

rotation spécifique : + 38,5° (c = 0,1 dans le chloro-
forme)10 CCM (gel de silice) : Rf 0,38 (solvant A)
0,40 (solvant B)Auramycine H ($C_{35}H_{43}O_{12}N$)

PM : 669,3

Point de fusion : 119,5°C (avec décomposition)

rotation spécifique : _____ (non déterminée)

15 CCM (gel de silice) : Rf 0,33 (solvant C)

Sulfurmycine C ($C_{37}H_{45}O_{14}N$)

PM : 727,3

Point de fusion : 146,0°C (avec décomposition)

rotation spécifique : + 55,8° (c = 0,1 dans le chloro-
forme)20 CCM (gel de silice) : Rf 0,20 (solvant A)
0,30 (solvant B)Sulfurmycine D ($C_{31}H_{35}O_{11}N$)

PM : 597,2

Point de fusion : 128,0°C (avec décomposition)
 rotation spécifique : + 167,6° (c = 0,1 dans le chloroformé)
 CCM (gel de silice) : Rf 0,08 (solvant A)
 0,14 (solvant B)

Sulfurmycine E ($C_{43}H_{55}O_{16}N$)

5 PM : 841,9
 Point de fusion : 151,0°C (avec décomposition)
 rotation spécifique : + 19,6° (c = 0,1 dans le chloroformé)
 CCM (gel de silice) : Rf 0,38 (solvant A)
 0,37 (solvant B)

Sulfurmycine F ($C_{43}H_{55}O_{16}N$)

10 PM : 841,9
 Point de fusion : 151,5°C (avec décomposition)
 rotation spécifique : + 7,9° (c = 0,1 dans le chloroformé)
 CCM (gel de silice) : Rf 0,34 (solvant A)
 0,36 (solvant B)

Sulfurmycine G ($C_{43}H_{55}O_{15}N$)

15 PM : 825,9
 Point de fusion : 139,0°C (avec décomposition)
 rotation spécifique : + 25,6° (c = 0,1 dans le chloroformé)
 CCM (gel de silice) : Rf 0,33 (solvant A)
 0,36 (solvant B)

Sulfurmycine H ($C_{37}H_{45}O_{13}N$)

20 PM : 711,3

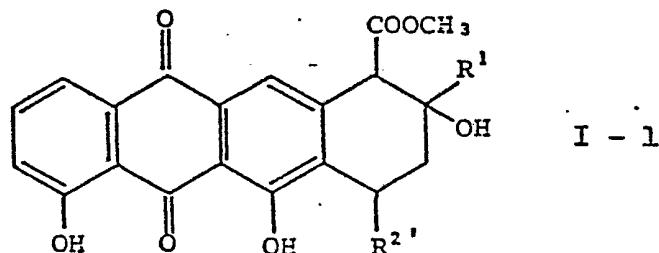
point de fusion : 98,5°C (avec décomposition)

rotation spécifique : + 59,0° (c = 0,1 dans le chloroforme)

CCM (gel de silice) : Rf 0,28 (solvant C)

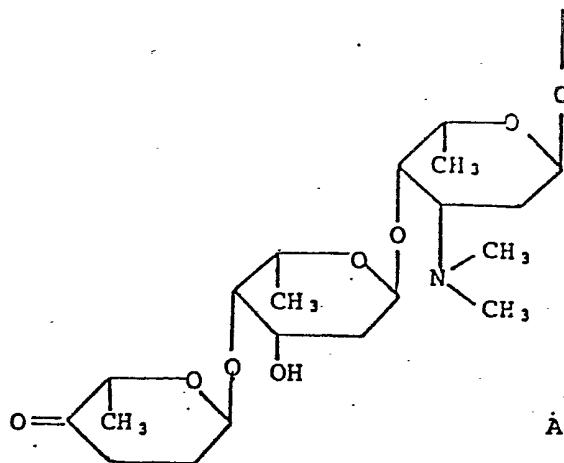
Selon le procédé fourni par l'invention, on
5 prépare les nouveaux composés de formule I ci-dessus
(a) en cultivant un mutant dérivé de
Streptomyces galilaeus OBB-111, capable de produire les
composés de formule I dans un milieu nutritif aqueux dans
des conditions aérobies et en recueillant lesdits composés
10 à partir du bouillon de fermentation,

(b) en hydrolysant dans des conditions acides
un composé de formule générale

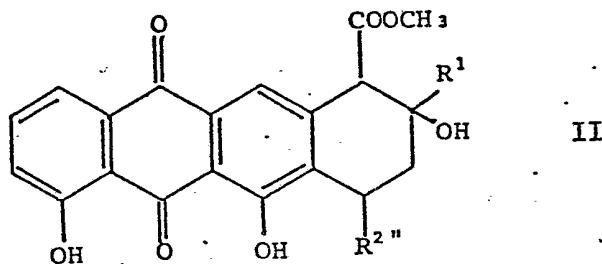


où R¹ a la signification donnée ci-dessus et R^{2'} repré-
sente un groupe de formule E ou F ci-dessus

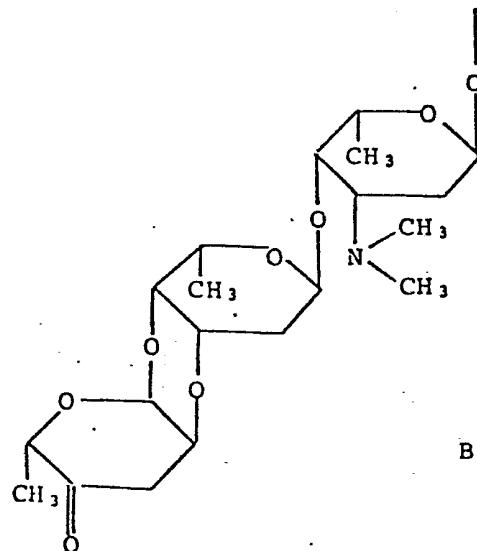
15 ou de formule



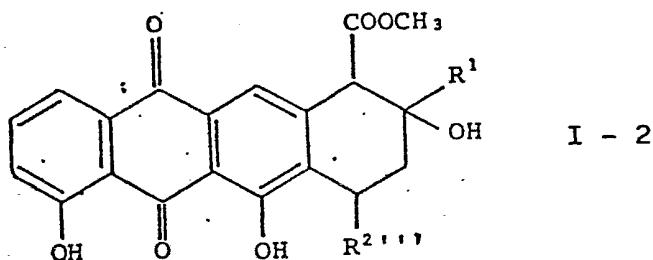
pour transformer le groupe R^{2'} en le groupe de formule C,
 (c) en hydrolysant dans des conditions acides
 un composé de formule générale



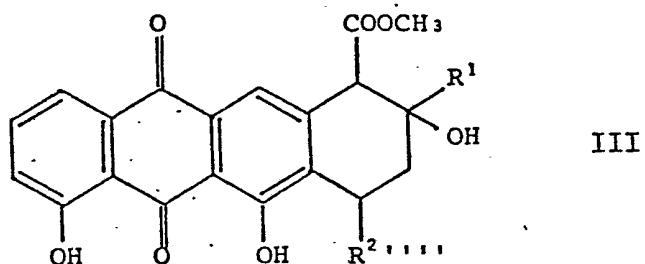
où R¹ a la signification donnée ci-dessus et R^{2''} représente un groupe de formule A, C, E, F ou G ci-dessus
 ou de formule



pour transformer le groupe $R^{2''}$ en le groupe de formule D,
 (d) en hydrolysant dans des conditions acides
 un composé de formule générale



5 où R^1 a la signification donnée ci-dessus et où $R^{2'''}$
 représente le groupe de formule G ci-dessus,
 pour transformer le groupe $R^{2''}$ en le groupe de formule H,
 (e) en réduisant un composé de formule générale



où R^1 a la signification donnée ci-dessus et où $R^{2''''}$ représente le groupe de formule A ci-dessus, pour transformer le groupe $R^{2'''}$ en un groupe de formule E ou F.

5 Le microorganisme utilisé dans le mode de réalisation du procédé ci-dessus comprend tous les mutants dérivés de Streptomyces galilaeus OBB-111 capables de produire les composés de formule I. La souche Streptomyces galilaeus OBB-111 a été isolée à partir de sols de Neuschwanstein en Haute-Bavière, en Allemagne de l'Ouest, et a été déposée à l'Agency of Industrial Science and Technology, Fermentation Research Institute du Japon, sous le n° FERM-P 4780 (29 janvier 1979), et à l'American Type Culture Collection Rockville, Maryland, U.S.A., sous le n° ATCC 31533. Ces mutants dérivés de Streptomyces galilaeus OBB-111 (FERM-P 4780, ATCC 31533) peuvent être obtenus par des procédés classiques de mutation ; par exemple par irradiation avec la lumière UV, les rayons X ou les rayons gamma, ou par 10 traitement avec des agents mutagènes appropriés.

15 La souche préférée utilisée dans le mode de réalisation (a) du procédé précédent est Streptomyces galilaeus OBB-111-610 obtenue en traitant Streptomyces

20

5 galilaeus OBB-111 avec la N-méthyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine. La souche Streptomyces galilaeus OBB-111-610 a été déposée à l'Agency of Industrial Science and Technology, Fermentation Research Institute du Japon, sous le n° FERM-P 4883 (22 mars 1979), et à l'American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, U.S.A., sous le n° ATCC 31534.

10 Les caractères mycologiques de Streptomyces galilaeus OBB-111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534) sont les suivants :

1. Propriétésmycologiques

15 La souche OBB-111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534) forme un mycélium aérien de longueur modérée à partir du mycélium substrat. On observe des crochets ou des spirales qui se développent au sommet du mycélium aérien, mais il ne se forme pas de tourbillons.

20 On observe habituellement la production de chaînes de spores mûrs ayant plus de 10 spores par chaîne. Les spores sont cylindriques et mesurent 0,5 à 0,6 μ x 0,8 à 1,0 μ , et leur surface est lisse.

25 2. Caractères culturaux sur divers milieux

Le tableau I ci-dessous donne les caractères culturaux de la souche OBB-111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534).

30 La couleur de la croissance de la souche OBB-111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534) sur gélose saccharose-nitrate, gélose glucose-asparagine, gélose glycérol-asparagine, gélose amidon-sels inorganiques et gélose de farine d'avoine passe au rose violet avec l'addition goutte à goutte d'une solution d'hydroxyde de sodium 0,05 N.

Tableau 1

Caractères culturaux de la souche OBB-111-610 (FERM-P 4883,
ATCC 31534)

<u>Milieu</u>	<u>Souche OBB-111-610</u>
Gélose saccharose-nitrate	
Croissance	jaune pâle ~ brun jaunâtre pâle (3 gc, jaune clair)
Mycélium aérien	gris brunâtre (3cb, sable) ~ orange pâle (5 cb)
Pigment diffusable	jaunâtre
Gélose glucose-asparagine	
Croissance	orange terne (3 pe, topaze ~ 3ne, topaze)
Mycélium aérien	gris brunâtre clair (3dc, naturel) ~ gris clair (2fe, gris voilé)
Pigment diffusable	brunâtre
Gélose glycérol-asparagine (milieu ISP n° 5)	
Croissance	jaune pâle (3gc, fauve clair) ~ brun jaunâtre pâle (3lc, ambre)
Mycélium aérien	gris clair (2fe, gris voilé)
Pigment diffusable	jaune
Gélose amidon-sels inorganiques (milieu ISP n° 4)	
Croissance	jaune pâle (2pc, or brillant) ~ jaune terne (2pe, or moutarde)
Mycélium aérien	gris brunâtre clair (2dc, naturel) ~ gris clair (2fe, gris voilé)
Pigment diffusable	jaune

Gélose à la tyrosine (milieu ISP n° 7)	Croissance Mycélium aérien Pigment diffusable	gris brunâtre foncé (3ni, brun girofle) aucun noir
Gélose nutritive	Croissance Mycélium aérien Pigment diffusable	brun pâle incolore aucun brun
Gélose extrait de levure-extrait de malt (milieu ISP n° 2)	Croissance Mycélium aérien Pigment diffusable	brun jaunâtre (3ng, érable jaune) gris clair (2fe, gris voilé) aucun
Gélose de farine d'avoine (milieu ISP n° 3)	Croissance Mycélium aérien Pigment diffusable	brun jaunâtre pâle (2gc, bamboo) ~ brun pâle (3ie, chameau) gris clair (2fe, gris voilé ~ 3fe, gris argenté) brun
Lait écrémé (37°C)	Croissance Mycélium aérien Pigment diffusable	brun ~ brun foncé blanc ~ gris brunâtre brun foncé
Gélose glucose-peptone-gélatine		

Croissance	jaune pâle
Mycélium aérien	aucun
Pigment diffusable	brun

3. Caractères physiologiques

Les tableaux 2 et 3 ci-dessous montrent respectivement les caractères physiologiques et l'utilisation des hydrates de carbone de la souche OBB-111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534). On examine la température de croissance sur gélose extrait de levure- extrait de malt (milieu ISP n° 2) à 20, 27, 32, 37, 40 et 45°C. La température optimale pour la croissance est comprise entre 27° et 32°C et aucune croissance ne se produit à 45°C.

Tableau 2

Caractères physiologiques de la souche OBB-111-610 (FERM-P n° 4883, ATCC 31534)

Test	Réaction	Procédés et matières
Liquéfaction de gélatine	Liquéfaction faible à modérée	Milieu glucose-peptone-gélatine 27°C
Hydrolyse de l'amidon	Hydrolyse faible à modérée	Gélose amidon-sels inorganiques
Peptonisation et coagulation du lait écrémé	Peptonisation modérée à forte et pas de coagulation	Lait écrémé à 10 % 37°C
Réduction des nitrates	Positive	Milieu ISP n° 8 27°C
Formation de mélanine	Positive	Milieu ISP n° 1 Milieu ISP n° 6 Milieu ISP n° 7

Tableau 3

Utilisation des hydrates de carbone par la souche OBB-111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534)

L-Arabinose	positive
D-Xylose	positive
Glucose	positive
D-Fructose	positive
Saccharose	positive
Inositol	positive
L-Rhamnose	positive
Raffinose	positive
D-Mannitol	négative

Milieu basal : milieu de Pridham-Gottlieb (ISP n° 9).

Température : 27°C.

5 Les caractères mycologiques de Streptomyces galilaeus OBB-111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534) sont presque identiques à ceux de la souche parente, c'est-à-dire Streptomyces galilaeus OBB-111 (FERM-P 4780, ATCC 31533).

10 Selon un aspect préféré du mode de réalisation
 (a) du procédé ci-dessus, on peut produire les composés de formule I en cultivant *Streptomyces galilaeus* OBB-111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534) dans un milieu nutritif aqueux dans des conditions aérobie.

15 On peut procéder à la culture dans un milieu de culture contenant les substances nutritives habituelles. Les sources de carbone, par exemple, sont le glucose, le saccharose, l'amidon, le lactose, le maltose, le fructose, le glycérol, la dextrine ou leurs mélanges et les sources d'azote sont, par exemple, la farine de soja, la farine de graine de coton, l'extrait de viande, la farine de poisson,

la peptone, la levure séchée, la liqueur de maïs macérée, de préférence les germes de blé ou leurs mélanges. En outre, si nécessaire, le milieu de culture peut contenir des substances inorganiques appropriées comme les 5 phosphates, sulfates, chlorures, bromures, nitrates et carbonates de sodium, de potassium, d'ammonium, de calcium, etc.

La culture peut s'effectuer dans un milieu aqueux dans des conditions aérobies, en particulier par 10 un procédé de fermentation en immersion. La température préférée pour la culture est dans un intervalle de 20° à 37°C, en particulier 25 à 30°C. Le pH du milieu peut varier, mais il se situe généralement dans un intervalle de 5 à 8.

15 Après qu'on ait procédé à la culture pendant environ 2 à 10 jours dans les conditions mentionnées ci-dessus, on peut obtenir les composés de formule I dans le bouillon de fermentation. Les composés de formule I ainsi obtenus, c'est-à-dire les auramycines C, D, E, F 20 et G, et les sulfurmycines C, D, E, F et G peuvent être récupérées à partir du bouillon de fermentation ; par exemple, par extraction avec un solvant organique non miscible à l'eau comme l'acétate d'éthyle, le chloroform, le chlorure de méthylène, la méthylisobutyl-cétone ou un mélange de chloroforme et de méthanol, 25 de préférence avec du chloroforme/méthanol (1:1, v/v). On sépare la phase organique et on la sèche pour donner une matière huileuse. On ajoute à cette matière huileuse un solvant organique non polaire comme le n-hexane, les 30 composés bruts étant ainsi obtenus sous forme de poudres.

Les composés obtenus peuvent être séparés les uns des autres par chromatographie sur des colonnes remplies d'un absorbant comme le gel de silice, ou d'un

gel de dextrane comme le Sephadex LH-20, etc. On analyse les fractions par chromatographie en couche mince et/ou chromatographie en phase liquide à haute pression et on combine et on fait évaporer les fractions appropriées pour donner le composant sous forme plus ou moins pure. On peut procéder à une purification plus poussée par chromatographie sur colonne répétée et/ou par chromatographie en phase liquide à haute pression.

L'hydrolyse acide de l'auramycine A, B, C, E, F ou G, ou de la sulfurmycine A, B, C, E, F ou G selon le mode de réalisation (b), (c) ou (d) du procédé précédent peut s'effectuer de façon classique en utilisant un acide comme l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique, l'acide phosphorique, l'acide chlorhydrique-méthanol, etc (de 0,1 à 3 N). L'hydrolyse peut s'effectuer à une température comprise entre 0°C et la température de reflux du mélange d'hydrolyse, de préférence à une température élevée. On prépare l'auramycine C, D et H et la sulfurmycine C, D et H par cette hydrolyse acide.

La réduction du groupe carbonyle de la fraction sucrée de l'auramycine A ou de la sulfurmycine A selon le mode de réalisation (e) du procédé précédent peut également s'effectuer de façon classique en utilisant un agent réducteur comme le borohydrure de sodium, l'hydrure de lithium-aluminium, etc., ou une enzyme préparée, par exemple, à partir d'homogénats de foie de rat ou de cellules de microorganismes produisant l'antibiotique anthracycline. L'auramycine E et F et la sulfurmycine E et F se préparent par ce procédé de réduction.

Les antibiotiques anthracyclines préparés selon le procédé fourni par l'invention présentent une activité antibactérienne et antitumorale.

L'invention concerne donc également les agents antibactériens et antitumoraux qui contiennent comme ingrédient actif un composé d'anthracycline de formule I. Dans un aspect préféré, les agents antibactériens de 5 l'invention contiennent l'auramycine ou la sulfurmycine C, D, E, F et/ou G et les agents antitumoraux contiennent l'auramycine ou la sulfurmycine C, D, E et/ou G.

- Les activités biologiques des composés d'anthracycline de l'invention s'observent d'après les 10 données suivantes :
1. Le Tableau 4 ci-dessous montre la concentration minimale inhibitrice (CMI) des auramycines C, D, E, F et G et des sulfurmycines C, D, E, F et G par rapport à divers micro-organismes, par détermination utilisant le procédé 15 d'ensemencement sur gélose.

Tableau 4

Souche	C M I (µg/ml)			
	Auramycine C	Auramycine D	Sulfurmycine C	Sulfurmycine D
<u>Staphylococcus aureus</u> 209P IAM-1011 (1)	6,25	12,5	6,25	25,0
<u>Staphylococcus aureus</u> 209P Stf (1)	6,25	12,5	6,25	25,0
<u>Sarcina lutea</u> IAM1009 (1)	6,25	6,25	6,25	25,0
<u>Micrococcus flavus</u> ATCC-10240 (1)	6,25	12,5	6,25	25,0
<u>Bacillus subtilis</u> IAM-1027 (1)	6,25	12,5	12,5	12,5
<u>Mycobacterium smegmatis</u> IFO-13167 (1)	6,25	3,13	3,13	6,25
<u>Pseudomonas aeruginosa</u> IFO-12689 (1)	> 50	> 50	> 50	> 50
<u>Escherichia coli</u> K-12 IAM-1264 (1)	> 50	> 50	> 50	> 50
<u>Escherichia coli</u> NIHJ IFO-12734 (1)	> 50	> 50	> 50	> 50
<u>Candida albicans</u> ATCC-10231 (2)	> 50	> 50	> 50	> 50
<u>Candida tropicalis</u> ATCC-13803 (2)	> 50	> 50	> 50	> 50

(1) : gélose d'infusion cardiaque (2) : gélose au dextrose de sabouraud

Tableau 4 (suite)

Souche	C M I (µg/ml)					
	Aura- mycine E	Aura- mycine F	Sulfur- mycine G	Sulfur- mycine E	Sulfur- mycine F	Sulfur- mycine G
<u>Staphylococcus aureus</u> 209P IAM-1011 (1)	1,56	3,12	6,25	3,12	3,12	6,25
<u>Staphylococcus epidermidis</u> IFO-12993 (1)	3,12	3,12	6,25	1,56	12,5	12,5
<u>Sarcina lutea</u> IAM-1009	(1)	3,12	6,25	3,12	1,56	12,5
<u>Micrococcus flavus</u> ATCC-10240	(1)	3,12	6,25	3,12	1,56	12,5
<u>Bacillus subtilis</u> IAM-1027	(1)	3,12	3,12	12,5	3,12	3,12
<u>Bacillus cereus</u> Roi79B	(1)	0,39	0,39	0,78	0,39	0,39
<u>Escherichia coli</u> K-12 IAM-1264	(1)	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
<u>Escherichia coli</u> NIHJ IFO-12734	(1)	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
<u>Candida albicans</u> ATCC-10231	(2)	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
<u>Candida tropicalis</u> ATCC-13803	(2)	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50

(1) : gélose d'infusion cardiaque

(2) : gélose au dextrose de sabouraud

2. Toxicité aiguë

La DL₅₀ intrapéritonéale aiguë chez les souris, évaluée 72 heures après une seule injection des antibiotiques, est d'environ 90 mg/kg pour l'auramycine C, 5 l'auramycine D, la sulfurmycine C et la sulfurmycine D, de 40 à 80 mg/kg pour l'auramycine G et la sulfurmycine G et de 20 à 40 mg/kg pour l'auramycine E et la sulfurmycine E.

3. Effet antitumoral

10 On teste les glycosides anthracyclines fournis par l'invention vis-à-vis de la leucémie P388 chez la souris. Lorsqu'on inocule à des souris CDF₁ 1 x 10⁶ cellules de P388 par voie intrapéritonéale et qu'on administre chacun des antibiotiques par voie intrapéritonéale 15 les 1e, 5e et 9e jours, la durée de survie des souris traitées est prolongée comme le montre le Tableau 5 ci-dessous.

Tableau 5

Antibiotique	Dose (mg/kg/jour)	Survie moyenne (T/C, %)
Auramycine C	15,0	128
	7,5	141
	3,75	130
	1,88	135
Auramycine D	15,0	141
	7,5	149
	3,75	103
	1,88	—
Auramycine E	12,0	165
	6,0	158
	3,0	139
	1,5	131

Tableau 5 (suite)

Antibiotique	Dose (mg/kg/jour)	Survie moyenne (T/C, %)
Auramycine G	12,0	119
	6,0	105
	3,0	109
	1,5	102
Sulfurmycine C	15,0	141
	7,5	138
	3,75	141
	1,88	131
Sulfurmycine D	15,0	152
	7,5	128
	3,75	135
	1,88	106
Sulfurmycine E	12,0	165
	6,0	150
	3,0	140
	1,5	133
Sulfurmycine G	24,0	144
	12,0	123
	6,0	113
	3,0	112
	1,5	104

Comme il a été mentionné ci-dessus, les composés d'anthracycline de formule I peuvent être utilisés comme médicaments sous forme de préparations pharmaceutiques.

Les présents agents antitumoraux comprennent également les sels pharmaceutiquement acceptables de ces composés, en particulier les sels d'addition acides de sels inorganiques et organiques classiques; par exemple des acides inorganiques comme l'acide chlorhydrique et l'acide phosphorique ; et des acides organiques comme l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide succinique.

Les présentes préparations pharmaceutiques contiennent l'ingrédient actif en association avec un support pharmaceutique compatible. Ce support peut être un support inerte organique ou inorganique approprié à l'administration entérale, percutanée ou parentérale comme, par exemple, l'eau, la gélatine, la gomme arabique, le lactose, l'amidon, le stéarate de magnésium, le talc, les huiles végétales, les polyalcoyléneglycols, la vaseline, etc. Les préparations pharmaceutiques peuvent également contenir des matières thérapeutiquement intéressantes autres que les antibiotiques anthracyclines de l'invention. Les préparations pharmaceutiques peuvent être formulées sous forme solide (par exemple sous forme de comprimés, de dragées ou de capsules) ou sous forme liquide (par exemple sous forme de solutions, de suspensions ou d'émulsions). Les préparations pharmaceutiques peuvent être stérilisées et/ou peuvent contenir des adjuvants comme des agents de conservation, des stabilisateurs, des agents mouillants, des émulsifiants, des sels pour faire varier la pression osmotique ou des tampons.

La posologie de l'ingrédient actif dépend du mode d'administration, de l'âge, du poids et de l'état du malade ainsi que de la maladie particulière à traiter. Cependant, la posologie typique pour les adultes varie entre 20 et 30 mg/jour dans le cas de l'administration orale ou parentérale, de préférence par injection intraveineuse.

Les exemples suivants précisent le procédé fourni par l'invention.

Exemple 1

On transfère les spores raclées à partir d'une culture gélosée en biseau de Streptomyces galilaeus OBB-

111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534) dans un erlenmeyer de 500 ml contenant 100 ml de milieu stérilisé composé de 20,0 g de D-glucose, 20,0 g d'amidon soluble, 5,0 g de viande S-3 (Ajinomoto Co., Ltd.), 2,5 g d'extrait de levure (Daigo Eiyo-Kagaku Co., Ltd.), 1,0 g de phosphate acide dipotassique, 1,0 g de sulfate de magnésium heptahydraté, 3,0 g de chlorure de sodium et 3,0 g de carbonate de calcium complété à 1 litre avec de l'eau du robinet.

5 On fait incuber cette culture végétative à 27°C sur un agitateur rotatif réglé à 180 tours par minute. Au bout de 72 h, on transfère 2 ml de culture dans un erlenmeyer de 500 ml contenant 100 ml de milieu de production stérile composé de 20,0 g de D-glucose, 20,0 g d'amidon soluble, 10,0 g de pharmamedia (Traders Oil Mill Co., U.S.A.), 1,0 g

10 de sulfate acide dipotassique, 1,0 g de sulfate de magnésium heptahydraté, 3,0 g de chlorure de sodium et 3,0 g de carbonate de calcium complété à 1 litre avec de l'eau du robinet. On fait incuber la culture à 27°C pendant 72 à 96 heures sur un agitateur rotatif réglé à 180 tours par

15 minute. A ce moment, l'activité antibiotique du filtrat de culture et de l'extrait de mycélium, mesurée par le procédé de diffusion en gélose sur disque de papier en utilisant Sarcina lutea IAM-1009 comme microorganisme expérimental, est de 22 mm et 20 mm de diamètre, respectivement.

20

25

On obtient le Streptomyces galilaeus OBB-111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534) mentionné ci-dessus par le procédé suivant.

On met en suspension les spores d'une culture 30 sur gélose en biseau de Streptomyces galilaeus OBB-111 (FERM-P 4780, ATCC 31533) dans 10 ml de solution stérile de sel physiologique et on filtre à travers un filtre en verre n° 3. On dilue deux fois la suspension de spores avec un

tampon tris 0,2 M (pH 9,0) contenant 2 mg/m² de N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine et on fait incuber à 27°C pendant 60 minutes. On recueille alors les spores sur le filtre Nucléopore (taille des pores 0,2 micromètre), on 5 lave avec 30 ml de solution stérile de sel physiologique et on remet en suspension dans 10 ml de solution stérile de sel physiologique. On étend la suspension de spores ainsi obtenue sur le milieu ISP n° 2 dans une boîte de Pétri et on fait incuber à 27°C pendant 4 à 6 jours. On 10 prélève les colonies, on les transfère dans un milieu gélosé en biseau et on fait incuber pendant 10 à 14 jours.

Exemple 2

On transfère 600 ml de la culture végétative 15 obtenue de manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 1 dans un flacon de 50 l contenant 30 litres de milieu de production stérile contenant les mêmes composants que ceux qui sont mentionnés dans l'exemple 1 et comprenant 0,1 % de Nissan Disfoam (Nippon Yushi Co., 20 Ltd). La culture s'effectue à 27°C en agitant à 350 tours par minute et en aérant le milieu à 1 v/v. Au bout d'environ 90 h, la production d'antibiotiques atteint son maximum.

Exemple 3

25 (a) On obtient 240 litres de la culture de manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 2 en utilisant 8 flacons de 50 litres. On centrifuge la culture. On extrait séparément le filtrat et le tourteau ainsi obtenus. On met le tourteau en suspension dans 60 litres de méthanol, on agite pendant 3 h et on filtre, et on extrait encore une fois le tourteau avec du méthanol. A l'extrait 30 ainsi obtenu, on ajoute 120 litres de chloroforme et 120 litres d'eau et on mélange, puis on sépare la couche

de chloroforme. D'un autre côté, on extrait le filtrat de culture avec 480 l d'un mélange de solvants chloroforme : méthanol (1:1) et on sépare la couche de chloroforme. On combine les extraits de chloroforme provenant du tourteau cellulaire et du filtrat de culture et on fait évaporer à un faible volume (300 à 400 ml). On dilue le concentré avec du n-hexane pour précipiter un solide jaune que l'on sèche sous vide pour donner 37,0 g d'un mélange d'auramycine C, d'auramycine D, d'auramycine E, d'auramycine F, d'auramycine G, de sulfurmycine C, de sulfurmycine D, de sulfurmycine E, de sulfurmycine F et de sulfurmycine G.

(b) On procède au fractionnement du mélange précédent. On introduit du Sephadex LH-20 ayant trempé pendant 15 h dans un mélange de solvants chloroforme/méthanol (2:1) dans une colonne de 80,0 cm de longueur et de 8,0 cm de diamètre. On dissout le mélange obtenu selon le paragraphe précédent (37,0 g) dans 50 ml d'un mélange de chloroforme et de méthanol (2:1) et on introduit dans la colonne. On élue la colonne avec un mélange de chloroforme et de méthanol (2:1). On concentre les fractions qui contiennent les glycosides anthracyclines, analysés par chromatographie en couche mince sur gel de silice (chloroforme/méthanol ; 10:1), jusqu'à siccité sous vide ce qui donne 16,8 g d'un solide jaune. Ce solide jaune contient les auramycines C, G et les sulfurmycines D, G et de faibles quantités des auramycines D, E et F et des sulfurmycines D, E et F.

(c) On dissout le solide jaune (16,8 g) dans 20 ml de chloroforme et on l'introduit dans une colonne de 50,0 cm de longueur et de 5,0 cm de diamètre remplie de gel de silice. Après avoir lavé la colonne avec un mélange de solvants chloroforme/méthanol (97:3), on élue les

auramycines C et G et les sulfurmycines C et G avec un mélange de chloroforme et de méthanol (95:5 à 92:8). On concentre cet éluat jusqu'à siccité sous vide pour obtenir 3,8 g de solide jaune.

- 5 (d) On dissout le solide jaune obtenu dans l'étape (c) dans 10 ml de dichlorométhane et on l'introduit dans une colonne de 40,0 cm de longueur et de 3,0 cm de diamètre remplie de gel de silice. On développe la colonne avec un mélange solvant de dichloro-méthane et de méthanol (92:8). On élue tout d'abord la sulfurmycine G suivie par l'auramycine G, l'auramycine E, l'auramycine F, la sulfurmycine E, la sulfurmycine F, la sulfurmycine C, l'auramycine C, l'auramycine D et la sulfurmycine D dans cet ordre. On sépare les éluats en cinq fractions : fractions 10 I, II, III, IV et V.
- 15

Fraction n°.	Principaux composants inclus
Fraction I	Sulfurmycine G
Fraction II	Sulfurmycine G, auramycine G, auramycine E, auramycine F, sulfurmycine E, sulfurmycine F, sulfurmycine C
Fraction III	Sulfurmycine C, auramycine C
Fraction IV	auramycine C
Fraction V	auramycine D, sulfurmycine D

On concentre chacune des fractions jusqu'à siccité sous vide, et l'on obtient 595 mg de fraction I, 890 mg de fraction II, 914 mg de fraction III, 448 mg de fraction IV et 200 mg de fraction V sous forme de poudres jaunes.

- 20 (e) On purifie plus avant la fraction I (595 mg) obtenue dans l'étape (d) par chromatographie préparative en phase

liquide. On dissout l'échantillon dans 10 ml d'un mélange solvant de dichlorométhane et de méthanol (96:4) et on chromatographie sur Prep PAK-500/SILICA (Waters Associates, Inc.). La phase mobile est un mélange 96:4 de dichlorométhane et de méthanol à un faible débit de 50 ml/minute. On contrôle l'élution au moyen d'un contrôleur d'indice de réfraction. On recueille les fractions ne contenant que la sulfurmycine G et on les concentre sous vide à un faible volume. L'addition d'une certaine 10 quantité de n-hexane provoque la précipitation de 123 mg de sulfurmycine G pure.

(f) On purifie la fraction II (890 mg) obtenue dans l'étape (d) par le procédé décrit dans l'étape (e). La phase mobile est un mélange dichlorométhane/méthanol (96:4) à un débit de 50 ml/min. La sulfurmycine G est élue en premier et l'auramycine G, E et F et la sulfurmycine E, F et C ensuite. On concentre sous vide à un faible volume les fractions contenant la sulfurmycine G pure, l'auramycine G, E et F et la sulfurmycine E, F et C. L'addition de n-hexane aux concentrés donne 44 mg de 15 sulfurmycine G pure, 25 mg d'auramycine G pure, 12 mg d'auramycine E pure, 13 mg d'auramycine F pure, 13 mg de sulfurmycine E pure, 18 mg de sulfurmycine F pure et 95 mg de sulfurmycine C pure.

(g) On purifie la fraction III (914 mg) obtenue dans l'étape (d) par le procédé décrit dans l'étape (e). La phase mobile est le dichlorométhane/méthanol (95:5) à un débit de 50 ml/min. On élue les fractions de sulfurmycine C en premier et les fractions d'auramycine C ensuite. On concentre sous vide à de faibles volumes les fractions contenant la sulfurmycine C pure et l'auramycine C. L'addition de n-hexane aux concentrés donne 95 mg de sulfurmycine C pure et 15 mg d'auramycine C pure.

(h) On purifie plus avant la fraction IV (448 mg) obtenue dans l'étape (d) par chromatographie en couche mince (chloroforme/méthanol, 7:1). On gratte la bande contenant l'auramycine C et on l'extrait avec un mélange solvant de chloroforme et de méthanol (10:1) et on concentre sous vide à de faibles volumes. L'addition de n-hexane au concentré donne 57 mg d'auramycine C pure.

(i) On purifie plus avant la fraction V (200 mg) obtenue dans l'étape (d) par chromatographie en couche mince (chloroforme/méthanol, 4:1). On gratte les bandes ne contenant que l'auramycine D ou la sulfurmycine D et on extrait avec un mélange solvant chloroforme/méthanol (8:1) et on concentre sous vide à de faibles volumes. L'addition de n-hexane aux concentrés donne 7 mg d'auramycine D et 11 mg de sulfurmycine D.

Exemple 4

On hydrolyse à la température ambiante pendant 25 minutes une solution de 100 mg d'auramycine E dans 25 ml d'acide chlorhydrique à 0,5 %. On neutralise le mélange réactionnel par une solution diluée d'hydroxyde de sodium et on extrait 2 fois avec 50 ml de chloroforme. On concentre les extraits réunis à un faible volume sous vide et on chromatographie avec des plaques de chromatographie en couche mince (chloroforme/méthanol, 5:1).

On gratte la bande contenant l'auramycine C et on extrait avec un mélange solvant de chloroforme et de méthanol (4:1) et on concentre sous vide à un faible volume. L'addition d'une certaine quantité de n-hexane provoque la précipitation de 54 mg d'auramycine C pure.

Exemple 5

De manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 4, en utilisant 100 mg d'auramycine F, on obtient 48 mg d'auramycine C.

Exemple 6

De manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 4, en utilisant 100 mg de sulfurmycine E, on obtient 51 mg de sulfurmycine C.

5 Exemple 7

De manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 4, en utilisant 100 mg de sulfurmycine F, on obtient 45 mg de sulfurmycine C.

Exemple 8

10 On hydrolyse à la température ambiante pendant 40 minutes une solution de 100 mg d'auramycine A dans 50 ml d'acide chlorhydrique à 0,5 %. On neutralise le mélange réactionnel par une solution diluée d'hydroxyde de sodium et on extrait 2 fois avec 100 ml de chloroforme.

15 On rassemble les extraits de chloroforme et on les concentre sous vide à un faible volume. On chromatographie le concentré avec des plaques chromatographiques en couche mince (chloroforme/méthanol, 5:1). On gratte les bandes contenant l'auramycine C et D, on extrait avec un mélange solvant de chloroforme et de méthanol (4:1) et on concentre sous vide jusqu'à siccité pour donner 12 mg d'auramycine C pure et 35 mg d'auramycine D.

Exemple 9

25 De manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 8, en utilisant 100 mg de sulfurmycine A, on obtient 13 mg de sulfurmycine C et 33 mg de sulfurmycine D.

Exemple 10

30 A une solution de 100 mg d'auramycine A dans 20 ml d'acétone et 1 ml de méthanol on ajoute 1 ml d'acide chlorhydrique-méthanol 0,2 N tout en agitant et on fait réagir à la température ambiante pendant 40 minutes. On neutralise le mélange réactionnel par une solution diluée

d'hydroxyde de sodium et on ajoute 20 ml d'eau puis on extrait deux fois avec 20 ml de chloroforme. On combine les extraits et on concentre à un faible volume sous vide. On chromatographie le concentré dans une colonne remplie de gel de silice (chloroforme/méthanol, 95:5). On concentre les fractions contenant l'auramycine D sous vide pour donner 43 mg d'auramycine D.

Exemple 11

De manière analogue à ce qui est décrit dans 10 l'exemple 10, en utilisant 100 mg d'auramycine E, on obtient 41 mg d'auramycine D.

Exemple 12

A une solution de 100 mg d'auramycine B dans 15 ml d'acétone on ajoute 0,3 ml d'acide chlorhydrique 15 concentré et on hydrolyse à la température ambiante pendant 120 minutes. On neutralise le mélange réactionnel par une solution diluée d'hydroxyde de sodium et on ajoute 20 ml d'eau, puis on extrait deux fois avec 20 ml de chloroforme. On combine les extraits et on concentre à 20 un faible volume sous vide. On chromatographie le concentré avec une colonne remplie de gel de silice (chloroforme/méthanol, 95:5). On concentre les fractions contenant l'auramycine D sous vide pour donner 38 mg d'auramycine D.

25 Exemple 13

On hydrolyse à la température ambiante pendant 60 minutes une solution de 100 mg d'auramycine C dans 50 ml d'acide chlorhydrique à 0,5 %. On neutralise le mélange réactionnel par une solution diluée d'hydroxyde 30 de sodium, on extrait deux fois avec 100 ml de chloroforme et on concentre sous vide à un faible volume. On chromatographie le concentré avec des plaques de chromatographie en couche mince (chloroforme/méthanol, 5:1).

On gratte la bande contenant l'auramycine D et on extrait avec un mélange solvant de chloroforme et de méthanol (4:1) et on concentre sous vide jusqu'à siccité, ce qui donne 72 mg d'auramycine D.

5 Exemple 14

On hydrolyse à la température ambiante pendant 15 minutes une solution de 80 mg d'auramycine G dans 4 ml d'acide chlorhydrique 0,1 N. On neutralise le mélange réactionnel par une solution diluée d'hydroxyde de sodium, 10 on extrait deux fois avec 4 ml d'acétate d'éthyle et on concentre sous vide à un faible volume. On chromatographie le concentré avec des plaques de chromatographie en couche mince (chloroforme/méthanol, 5:1). On gratte les bandes contenant l'auramycine H et l'auramycine D et 15 on extrait avec un mélange solvant de chloroforme et de méthanol (10:1). On concentre chacun des extraits à un faible volume et l'addition d'une certaine quantité de n-hexane provoque la précipitation de 16 mg d'auramycine H et de 12 mg d'auramycine D.

20 Exemple 15

De manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 10, en utilisant 100 mg de sulfurmycine A, on obtient 47 mg de sulfurmycine D.

Exemple 16

25 De manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 11, en utilisant 100 mg de sulfurmycine F, on obtient 44 mg de sulfurmycine D.

Exemple 17

30 De manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 12, en utilisant 100 mg de sulfurmycine B, on obtient 39 mg de sulfurmycine D.

Exemple 18

De manière analogue à ce qui est décrit dans

I'exemple 13, en utilisant 100 mg de sulfurmycine C, on obtient 68 mg de sulfurmycine D.

Exemple 19

- De manière analogue à ce qui est décrit dans
 5 l'exemple 14, en utilisant 80 mg de sulfurmycine G, on obtient 19 mg de sulfurmycine H et 13 mg de sulfurmycine D.

Exemple 20

- A une solution de 500 mg d'auramycine A dans 20 ml d'acétate d'éthyle, on ajoute 50 mg de borohydrure 10 de sodium dans 20 ml d'eau tout en agitant. La réaction s'effectue à la température ambiante pendant 20 minutes tout en agitant. On lave le mélange réactionnel deux fois avec 20 ml d'eau, on le déshydrate sur sulfate de sodium et on concentre sous vide à un faible volume. On chromatographie le concentré avec des plaques chromatographiques 15 en couche mince (chloroforme/méthanol/hydroxyde d'ammonium, 400:30:3). On gratte les bandes contenant l'auramycine E et l'auramycine F et on extrait avec un mélange solvant de chloroforme et de méthanol (5:1). On concentre chacun 20 des extraits à un faible volume et l'addition d'une certaine quantité de n-hexane provoque la précipitation de 200 mg d'auramycine E et de 50 mg d'auramycine F.

Exemple 21

- De manière analogue à ce qui est décrit dans 25 l'exemple 20, en utilisant 500 mg de sulfurmycine A, on obtient 162,5 mg de sulfurmycine E et 30,5 mg de sulfurmycine F.

Exemple 22

- On hydrolyse à la température ambiante pendant 30 60 minutes une solution de 200 mg d'un mélange d'auramycine A et de sulfurmycine A dans 50 ml d'acide chlorhydrique à 0,5 %. On neutralise le mélange réactionnel avec de l'hydroxyde de sodium dilué et on extrait deux fois avec

50 ml de chloroforme. On concentre les extraits réunis sous vide à un faible volume et on chromatographie avec des plaques de chromatographie en couche mince (chloroforme/méthanol, 5:1). On gratte les bandes contenant l'auramycine C, l'auramycine D, la sulfurmycine C et la sulfurmycine D et on extrait avec un mélange solvant de chloroforme et de méthanol (4:1), respectivement. On concentre chacun des extraits sous vide à un faible volume et l'addition d'une certaine quantité de n-hexane provoque la précipitation de 10 mg d'auramycine C, 25 mg d'auramycine D, 11 mg de sulfurmycine C et 27 mg de sulfurmycine D.

Exemple 23

De manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 22, en utilisant un mélange de 200 mg d'auramycine B et de sulfurmycine B, on obtient 25 mg d'auramycine D et 35 mg de sulfurmycine D.

Exemple 24

On sacrifie des rats Wistar mâles en les décapitant. On excise les foies et on homogénéise avec un homogénéiseur Telfon en verre dans une solution 9,15 M de chlorure de potassium et on centrifuge à 9000 g pendant 10 minutes. On utilise le liquide surnageant pour une préparation enzymatique. On fait incuber à 37°C pendant 60 minutes de façon aérobie un mélange composé de 40 ml de préparation enzymatique, 2 ml d'une solution d'auramycine A (10 mg/ml), 30 mg de NADP et 5 ml de tampon Tris-HCl 0,1 M (pH 7,8). On termine la réaction en ajoutant un mélange solvant de chloroforme et de méthanol (1:1). On sépare la couche de chloroforme, on concentre sous vide à un faible volume. On chromatographie le concentré avec des plaques de chromatographie en couche

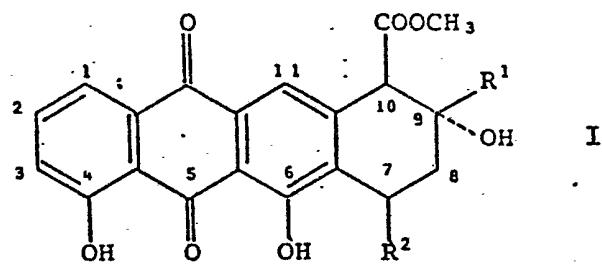
mince (chloroforme/méthanol/hydroxyde d'ammonium, 400:30:3), on compare avec des échantillons authentiques d'auramycine E et d'auramycine F. La formation d'auramycine E et d'auramycine F à partir de l'auramycine A par 5 l'enzyme du foie de rat est confirmée.

Exemple 25

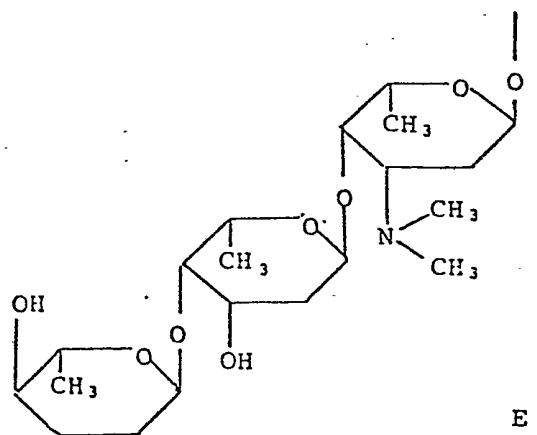
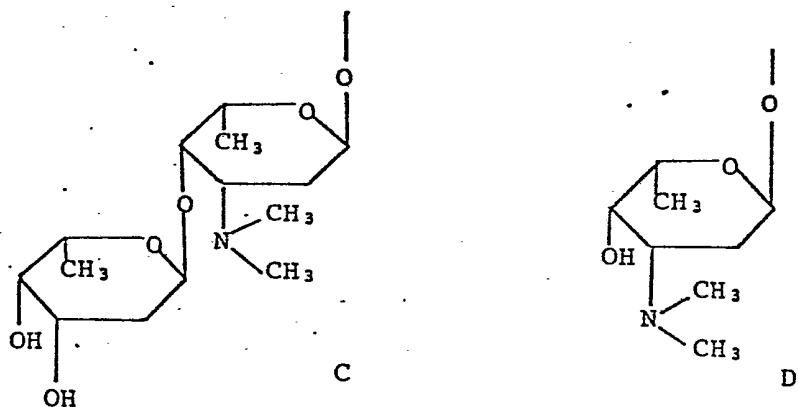
De manière analogue à ce qui est décrit dans l'exemple 24, en utilisant la sulfurmycine A comme substrat, la formation de sulfurmycine E et de sulfur-10 mycine F à partir de sulfurmycine A par l'enzyme de foie de rat est confirmée.

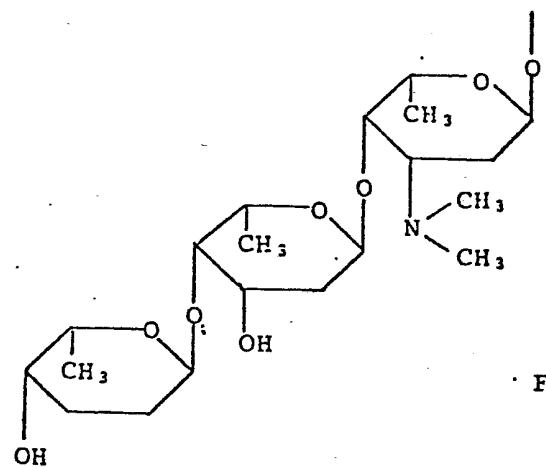
REVENDICATIONS

1. Composé de formule générale

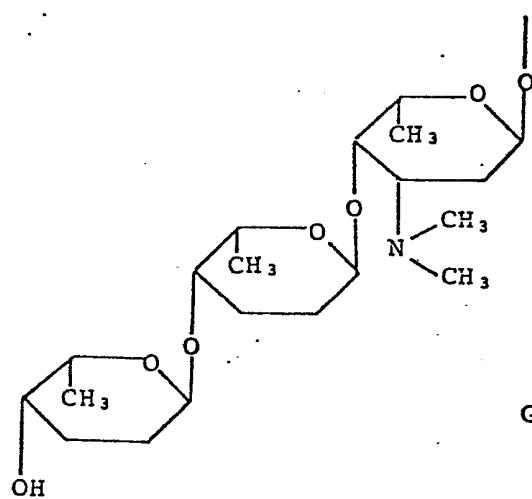


où R^1 représente un groupe méthyle ou acétonyle et R^2 représente un groupe de formule

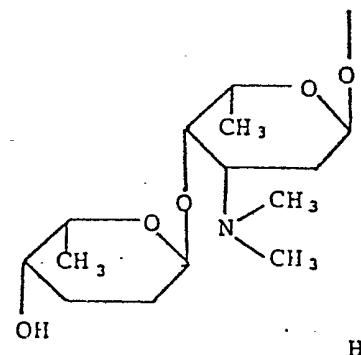




F



G



H

2. Composé selon la revendication 1 aux fins d'utilisation comme antibiotique.

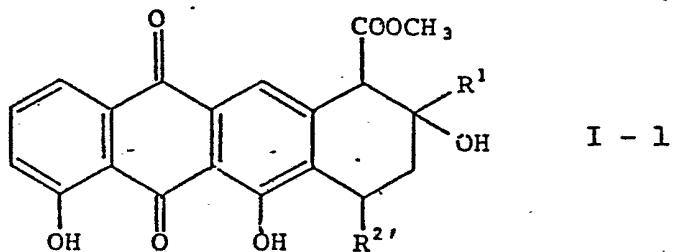
3. Procédé de préparation d'un composé de formule I selon la revendication 1 qui implique de

5 procéder

(a) en cultivant un mutant dérivé de Streptomyces galilaeus OBB-111 capable de produire les composés de formule I dans un milieu nutritif aqueux dans des conditions aérobies et en recueillant lesdits composés à

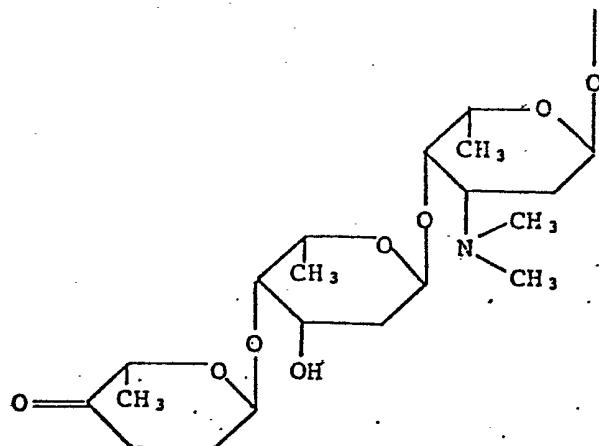
10 partir du bouillon de fermentation,

(b) en hydrolysant dans des conditions acides un composé de formule générale



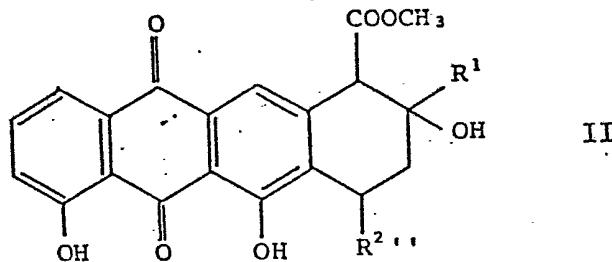
où R¹ a la signification donnée dans la revendication 1 et où R^{2'} représente un groupe de formule E ou F donnée

15 dans la revendication 1 ou de formule

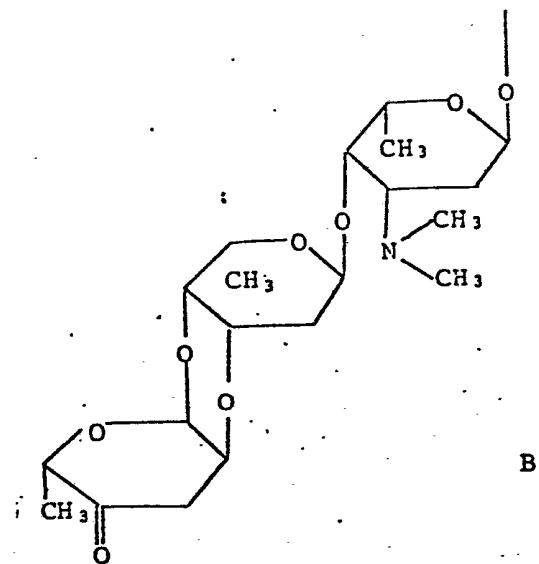


pour transformer le groupe R² en le groupe de formule C donnée dans la revendication 1,

(c) en hydrolysant dans des conditions acides un composé de formule générale

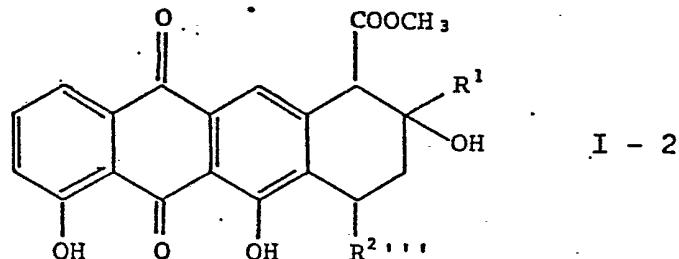


- 5 où R¹ a la signification donnée dans la revendication 1 et où R² représente un groupe de formule A, C, E, F ou G donnée dans la revendication 1,
ou de formule



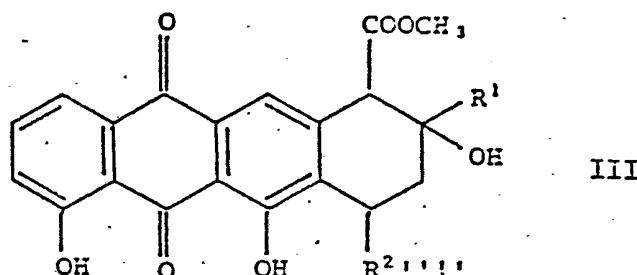
pour transformer le groupe R^{2"} en le groupe de formule D
donnée dans la revendication 1,

(d) en hydrolysant dans des conditions acides
un composé de formule générale



- 5 où R¹ a la signification donnée dans la revendication 1 et
R2["] représente le groupe de formule G donnée dans la revendication 1, pour transformer le groupe R^{2"} en le groupe de formule H donnée dans la revendication 1,

(e) en réduisant un composé de formule générale



où R¹ a la signification donnée dans la revendication 1 et R²" représente le groupe de formule A donnée dans la revendication 1, pour transformer le groupe R²" en un groupe de formule E ou F donnée dans la revendication 1.

- 5 4. Procédé selon la revendication 3 où le mutant dérivé de Streptomyces galilaeus OBB-111 est Streptomyces galilaeus OBB-111-610 (FERM-P 4883, ATCC 31534).
- 10 5. Procédé selon la revendication 3, où le catalyseur utilisé dans le mode de réalisation (e) est le borohydrure de sodium, ou l'hydrure de lithium-aluminium.
- 15 6. Procédé selon la revendication 3, où l'enzyme utilisé dans le mode de réalisation E est préparé à partir d'homogénats de foie animal ou à partir de cellules de microorganismes produisant l'antibiotique anthracycline.
- 20 7. Préparation pharmaceutique ayant une activité antibactérienne ou antitumorale contenant comme ingrédient actif un composé de formule I donnée dans la revendication 1.
- 8. Composé de formule I donnée dans la revendication 1, qu'il soit préparé selon le procédé de l'une quelconque des revendications 3 à 6 ou par un de ses équi-

valents chimiques évidents.

**9. Application d'un composé de formule I
donnée dans la revendication 1 comme antibiotique.**