



Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein
Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

⑫ FASCICULE DU BREVET A5

⑯ Numéro de la demande: 4988/80

⑰ Titulaire(s):
Rhône-Poulenc Industries, Paris 8e (FR)

⑯ Date de dépôt: 27.06.1980

⑰ Inventeur(s):
Bouchaudon, Jean, Morsang-sur-Orge (FR)
Farge, Daniel, Thiais (FR)
James, Claude, Paris (FR)

⑯ Brevet délivré le: 28.02.1985

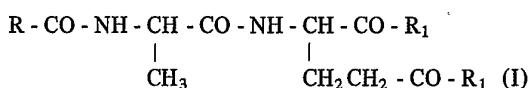
⑰ Mandataire:
Kirker & Cie SA, Genève

⑯ Fascicule du brevet
publié le: 28.02.1985

⑮ Dipeptides, leur préparation et les médicaments qui les contiennent.

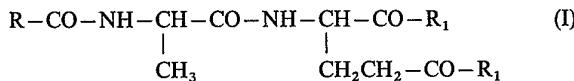
⑮ Les nouveaux dipeptides répondent à la formule générale (I) dans laquelle R représente un reste d'acide gras et les symboles R₁, identiques ou différents, représentent hydroxy, amino, alcoyoxy contenant 1 à 4 atomes de carbone éventuellement substitué par phényle ou nitrophényle, étant entendu que lalanine est sous forme L et l'acide glutamique ou ses dérivés sont sous forme D.

Ces nouveaux dipeptides sont des adjuvants immuno-logiques et des immunostimulants.



REVENDICATIONS

1. Dipeptide, caractérisé en ce qu'il répond à la formule générale:



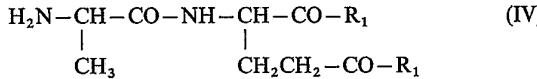
dans laquelle R-CO représente un reste d'acide gras et les symboles R₁, identiques ou différents, représentent un radical hydroxy ou amino ou un radical alcoyloxy contenant 1 à 4 atomes de carbone éventuellement substitué par un radical phényle ou nitrophényle, étant entendu que lalanine est sous forme L et que l'acide glutamique et ses dérivés sont sous forme D, ainsi que ses sels métalliques et sels d'addition avec les bases azotées.

2. Dipeptide selon la revendication 1, caractérisé en ce que R représente un atome d'hydrogène ou un radical alcoyle contenant 1 à 44 atomes de carbone éventuellement substitué par un radical hydroxy, phényle ou cyclohexyle, alcényle contenant 2 à 29 atomes de carbone et pouvant contenir plus d'une double liaison, ou un reste d'acide mycolique.

3. Procédé de préparation d'un produit selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que l'on fait réagir un acide de formule générale:



dans laquelle R est défini comme dans l'une des revendications 1 ou 2, ou un dérivé activé de cet acide, sur un dipeptide de formule générale:

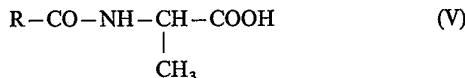


dans laquelle les symboles R₁ sont définis comme dans la revendication 1, et isole le produit obtenu éventuellement sous forme de sel.

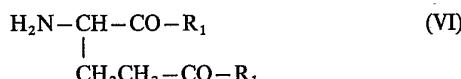
4. Procédé de préparation d'un produit selon l'une des revendications 1 ou 2, pour lequel les radicaux R₁, identiques ou différents, représentent un radical hydroxy ou amino, caractérisé en ce que l'on soumet un produit selon l'une des revendications 1 ou 2, pour lequel un des symboles, R₁, représente un radical hydroxy, amino ou alcoyloxy et l'autre représente un radical alcoyloxy, à une hydrogénolyse en présence d'un catalyseur.

5. Procédé de préparation d'un produit selon l'une des revendications 1 ou 2, pour lequel les radicaux R₁, identiques ou différents, représentent un radical hydroxy ou amino, caractérisé en ce que l'on fait réagir sur un produit selon l'une des revendications 1 ou 2, pour lequel un des symboles R₁ représente un radical hydroxy, amino ou alcoyloxy et l'autre représente un radical hydroxy préalablement activé ou un radical alcoyloxy, l'ammoniac anhydre en solution dans un solvant organique.

6. Procédé de préparation d'un produit selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que l'on fait réagir un dérivé de Lalanine de formule générale:



dans laquelle R est défini comme dans l'une des revendications 1 ou 2, ou un dérivé activé de cet acide, sur un dérivé de l'acide D-glutamique de formule générale:



dans laquelle les symboles R₁ sont définis comme dans la revendication 1, et isole le produit obtenu éventuellement sous forme de sel.

7. Procédé de préparation d'un dipeptide selon l'une des revendications 1 ou 2, pour lequel les symboles R₁, identiques ou différents, représentent un radical hydroxy ou amino, l'un au moins

étant un radical hydroxy, et R est défini comme dans l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que l'on fixe sur un support approprié le groupement α - ou γ -carboxylique de l'acide D-glutamique dont la fonction amine est protégée et dont la fonction γ - ou α -carboxylique selon le cas est protégée sous forme d'amide ou d'ester,

5 élimine le groupement protecteur de la fonction amine sans toucher à la liaison acide D-glutamique-support, condense la L-alanine dont la fonction amine est protégée sur l'acide D-glutamique-support, puis élimine le groupement protecteur de la fonction amine du reste 10 L-alanyle, puis condense l'acide gras sur le dipeptide-support, coupe la liaison acide D-glutamique-support et élimine le cas échéant le groupement protecteur de la fonction acide de l'acide D-glutamique et isole le produit obtenu.

8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que le support 15 est un copolymère styrène/divinylbenzène chlorométhylé ou hydroxyméthylé.

9. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que le groupement protecteur de la fonction amine de l'acide D-glutamique est le radical t-butyloxycarbonyle et que la fonction α -acide de l'acide 20 D-glutamique est protégée sous forme d'amide ou d'ester benzylique.

10. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que l'on fait réagir la L-alanine dont la fonction amine est protégée par un radical t-butyloxycarbonyle sur l'acide D-glutamique-support, soumet le produit obtenu à l'action d'un mélange acide trifluoroacétique/chlorure de méthylène, puis condense l'acide gras sur le dipeptide-support.

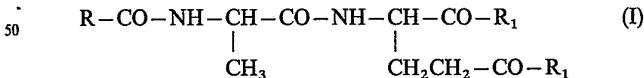
11. Procédé de préparation d'un dipeptide tel que défini dans la revendication 7, caractérisé en ce que l'on fixe l'acide D-glutamique 30 sur un support approprié, puis condense la L-alanine dont la fonction amine est protégée par un reste d'acide gras sur l'acide D-glutamique-support.

12. Procédé de préparation d'un dipeptide tel que défini dans la revendication 7, caractérisé en ce que l'on condense la L-alanine 35 dont la fonction amine est protégée sur l'acide D-glutamique, fixe le dipeptide obtenu sur un support approprié, élimine le groupement protecteur de la fonction amine et condense l'acide gras sur le dipeptide-support.

13. Médicament, caractérisé en ce qu'il est constitué par un 40 produit selon l'une des revendications 1 ou 2 à l'état pur ou en association avec un ou plusieurs diluants ou adjuvants compatibles et pharmaceutiquement acceptables.

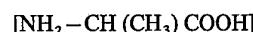
45

La présente invention concerne de nouveaux dipeptides de formule générale:



leur préparation, éventuellement leurs sels métalliques et leurs sels d'addition avec les bases azotées et les médicaments qui les contiennent.

55 Dans la formule générale (I), R-CO représente un reste d'acide gras et les symboles R₁, identiques ou différents, représentent un radical hydroxy ou amino ou un radical alcoyloxy contenant 1 à 4 atomes de carbone éventuellement substitué par un radical phényle ou nitrophényle, étant entendu que lalanine



est sous forme L et que l'acide glutamique



65 ou ses dérivés (amides, esters) sont sous forme D.

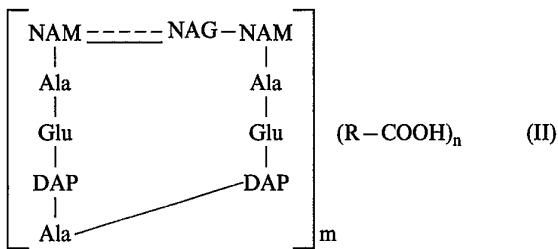
Dans le reste d'acide gras R-CO, R représente un atome d'hydrogène ou un radical alcoyle contenant de préférence 1 à 44 atomes

de carbone (éventuellement substitué par un radical hydroxy, phényle ou cyclohexyle), un radical alcényle contenant 2 à 29 atomes de carbone et pouvant contenir plus d'une double liaison ou un reste d'acide mycolique tel que rencontré dans la structure de la paroi bactérienne des mycobactéries, de *Nocardia* ou de corynébactéries.

Les parois bactériennes, par exemple les parois de mycobactéries, sont constituées essentiellement d'un peptidoglycane formé d'acide N-acétylmuramique sur lequel sont fixés des peptides renfermant l'enchaînement L-Ala-D-Glu-DAP. Par ailleurs, les parois bactériennes sont très riches en lipides dont certains sont libres et extracellulaires et d'autres sont liés à la structure de la paroi et sont constitués par des acides mycoliques (acides gras géants, α -ramifiés et β -hydroxylés). L'ensemble des constituants de la paroi cellulaire forme une structure covalente composée d'un peptidoglycane et d'un mycolate d'arabinogalactane liés entre eux par des liaisons phosphodiesters. Ces parois bactériennes présentent la plupart des propriétés biologiques des cellules entières lorsqu'elles sont associées à une huile minérale ou végétale et administrées après mise en suspension dans du soluté physiologique.

Dans les brevets belges N°s 821385, 852348 et 852349 sont décrits des peptides, couplés avec l'acide N-acétylmuramique, qui contiennent l'enchaînement L-Ala-D-Glu ou L-Ser-D-Glu et qui sont efficaces comme adjuvants immunologiques et comme agents anti-infectieux.

Dans le brevet français N° 75.24440, publié sous le N° 2320107, sont décrits des produits de couplage entre un acide gras et un saccharide heptapeptide isolé à partir d'une mycobactérie contenant une cire D et qui peuvent être représentés par la formule suivante:



dans laquelle, en particulier:

NAG = N-acétylglucosamine;

NAM = acide N-acétylmuramique;

R = radical alcoyle contenant 9 à 17 atomes de carbone.

Ces produits sont des adjuvants immunologiques de la production d'anticorps et de l'hypersensibilité retardée capables d'agir seuls, c'est-à-dire sans qu'il soit nécessaire de les administrer en solution huileuse.

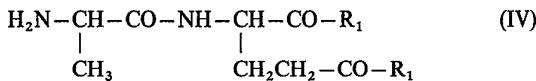
Tous ces produits se caractérisent par la présence d'acide N-acétylmuramique qui, d'après Kasumoto *et al.*, «Tetrahedron Letters», 49, 4899 (1978), est considéré comme lié à l'activité immunologique.

Il a maintenant été trouvé que les peptides de formule générale (I) présentent, malgré l'absence d'acide N-acétylmuramique, des propriétés adjuvantes et immunostimulantes remarquables. Par ailleurs, ces composés, qui sont bien définis, peuvent être obtenus aisément avec la pureté suffisante requise pour l'emploi en thérapeutique.

Selon l'invention, les nouveaux dipeptides de formule générale (I) sont obtenus par action d'un acide de formule générale:



dans laquelle R est défini comme précédemment, ou d'un dérivé activé de cet acide, sur un dipeptide de formule générale:



dans laquelle les symboles R_1 , identiques ou différents, sont définis comme précédemment, suivie éventuellement, le cas échéant, en

fonction des significations de R_1 , du remplacement d'un ou des radicaux R_1 par un radical hydroxy ou amino.

Lorsque, dans la formule générale (IV), les radicaux R₁, identiques ou différents, représentent un radical amino ou un radical alcoyoxy contenant 1 à 4 atomes de carbone éventuellement substitué par un radical phényle ou nitrophényle, la condensation de l'acide de formule générale (III) sur le dipeptide de formule générale (IV) peut être effectuée en présence d'un agent de condensation tel que le dicyclohexylcarbodiimide en opérant dans un solvant organique tel que le chlorure de méthylène ou le diméthylformamide à une température comprise entre -10 et +30°C.

Lorsque, dans la formule générale (IV), les radicaux R_1 représentent chacun un radical hydroxy ou bien l'un des radicaux R_1 représente un radical hydroxy, l'autre représentant un radical amino ou alcoyoxy défini comme précédemment, il est nécessaire d'activer l'acide de formule générale (III) préalablement à son action sur le dipeptide de formule générale (IV).

Comme acide activé, il est particulièrement avantageux d'utiliser un halogénure d'acide ou un anhydride mixte qui est généralement préparé *in situ* par action d'un halogénosulfate d'alcoyle (de préférence le chlorosulfate d'isobutyle) sur l'acide de formule générale (III) en présence d'une base.

Lorsque l'on utilise l'acide de formule générale (III) sous la forme d'un halogénure, plus particulièrement le chlorure, la réaction s'effectue dans un solvant organique tel que l'éther diéthylique ou le chlorure de méthylène, en présence d'une base (minérale telle que la soude, ou organique telle que la triéthylamine), à une température comprise entre 0 et 30°C. Généralement le dipeptide de formule générale (IV) est utilisé sous la forme d'un sel tel que le chlorhydrate.

Lorsque l'on utilise l'acide de formule générale (III) sous la forme d'un anhydride mixte, la réaction s'effectue dans un solvant organique tel que le dioxane, le tétrahydrofurane, le chloroforme, le toluène ou le diméthylformamide ou dans un milieu hydro-organique, en présence d'une base (minérale telle que la soude, ou organique telle que la triéthylamine), à une température comprise entre - 10 et + 30°C. Généralement, le dipeptide de formule générale (IV) est utilisé sous la forme d'un sel tel que le chlorhydrate.

Les nouveaux dipeptides de formule générale (I), dans laquelle les symboles R₁, identiques ou différents, représentent un radical hydroxy ou amino, peuvent être obtenus à partir d'un dipeptide de formule générale (I) dans laquelle l'un des symboles R₁ représente un radical hydroxy, amino ou alcoyloxy défini comme précédemment et l'autre représente un radical alcoyloxy défini comme précédemment, selon les méthodes habituelles qui permettent de transformer un groupement ester en groupement carboxy, telle l'hydrogénolyse par exemple.

Lorsque l'autre desdits symboles R₁ représente un radical hydroxy activé ou alcoyoxy, on peut également soumettre les dipeptides correspondants à une réaction permettant de transformer un groupement carboxy ou ester en un groupement carbamoyle, tel un traitement à l'aide d'ammoniac anhydre en solution dans un solvant organique.

Généralement, la transformation d'un groupement ester en groupement carboxy peut s'effectuer soit par saponification dans des conditions douces, soit par hydrogénolyse, en particulier lorsque l'un au moins des symboles R_1 représente un radical benzyloxy ou nitrobenzyloxy.

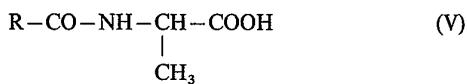
Lorsque l'on effectue une hydrogénolyse au moyen de l'hydrogène, on opère généralement dans un solvant organique approprié tel que l'acide acétique (éventuellement en mélange avec un autre solvant organique tel que le méthanol) ou dans un milieu hydro-organique en présence d'un catalyseur, tel que le palladium, par exemple le palladium sur noir, en opérant à une température voisine de 20°C et sous une pression voisine de 760 mm de mercure.

5 Selon l'invention, la transformation d'un groupement ester ou carboxy en groupement carbamoyle s'effectue au moyen de l'ammoniac anhydre en solution dans un solvant organique. Lorsque l'on fait réagir l'ammoniac sur un produit de formule générale (I) dans

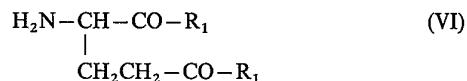
laquelle l'un au moins des symboles R₁ représente un radical/alcoyloxy défini comme précédemment, la réaction s'effectue avantageusement en opérant dans le méthanol. Lorsque l'on fait réagir l'ammoniac sur un produit de formule générale (I) dans laquelle l'un au moins des symboles R₁ représente un radical hydroxy, il est nécessaire d'activer préalablement la ou les fonctions acides, généralement sous la forme d'un anhydride mixte préparé *in situ* par action d'un halogénoformiate d'alcoyle tel que le chloroformiate d'isobutyle, puis d'opérer dans les conditions décrites ci-dessus pour l'action d'un dérivé activé d'un acide de formule générale (III), sous forme d'anhydride mixte, sur le dipeptide de formule générale (IV).

Le dipeptide de formule générale (IV) peut être obtenu selon des méthodes connues par condensation de la L-alanine dont la fonction amine est protégée sur l'acide D-glutamique dont les fonctions acides sont éventuellement protégées, puis élimination du groupement protecteur de fonction amine.

Selon l'invention, les nouveaux dipeptides de formule générale (I) peuvent être obtenus par action d'un dérivé de la L-alanine de formule générale:



dans laquelle R est défini comme précédemment, sur un dérivé de l'acide D-glutamique de formule générale:



dans laquelle les symboles R₁, identiques ou différents, sont définis comme précédemment, suivie éventuellement, le cas échéant selon les significations de R₁, du remplacement d'un ou des radicaux R₁ par un radical hydroxy ou amino.

Il est particulièrement avantageux d'activer la fonction acide du dérivé de la L-alanine de formule générale (V), généralement sous la forme d'un anhydride mixte préparé *in situ* préalablement à l'action sur le produit de formule générale (VI), en particulier si l'un au moins des symboles R₁ représente un radical hydroxy. Lorsque les fonctions acides de l'acide D-glutamique sont protégées, c'est-à-dire si les symboles R₁, identiques ou différents, représentent un radical amino ou alcoyloxy défini comme précédemment, la condensation de l'acide de formule générale (V) sur le dérivé de l'acide D-glutamique de formule générale (VI) peut être effectuée en présence d'un agent de condensation tel que le dicyclohexylcarbodiimide.

Généralement, la condensation du dérivé de la L-alanine de formule générale (V) sur le dérivé de l'acide D-glutamique de formule générale (VI) s'effectue dans les conditions décrites ci-dessus pour la condensation de l'acide de formule générale (III) sur l'aminoacide de formule générale (IV).

Le dérivé de la L-alanine de formule générale (V) peut être obtenu par action d'un acide de formule générale (III) ou d'un dérivé activé de cet acide sur la L-alanine dont la fonction acide est éventuellement protégée sous forme d'ester, suivie le cas échéant de l'élimination du groupement protecteur de la fonction acide.

Lorsque la fonction acide de la L-alanine est protégée, la condensation de l'acide de formule générale (V) est généralement effectuée en présence d'un agent de condensation tel que le dicyclohexylcarbodiimide en opérant dans un solvant organique tel que le chlorure de méthylène ou le diméthylformamide à une température comprise entre -10 et +30°C.

Lorsque la fonction acide de la L-alanine est libre, il est nécessaire d'activer l'acide de formule générale (III) préalablement à son action sur la L-alanine. Comme dérivé activé de l'acide de formule générale (III), il est particulièrement avantageux d'utiliser un halogénure d'acide ou un anhydride mixte. On opère alors dans les conditions décrites précédemment pour l'action d'un acide de formule générale (III) sur un dipeptide de formule générale (IV).

Les nouveaux produits de formule générale (I), dans laquelle les symboles R₁, identiques ou différents, représentent un radical hydroxy ou amino, l'un au moins étant un radical hydroxy, et R est défini comme précédemment, peuvent être obtenus par synthèse peptidique de Merrifield en phase solide.

Selon l'invention, les produits de formule générale (I) tels que définis ci-dessus sont obtenus en réalisant la succession des phases suivantes:

1) fixation du groupement α - ou γ -carboxylique de l'acide D-glutamique dont la fonction amine est protégée et dont la fonction γ - ou α -carboxylique, selon le cas, est protégée sous forme d'amide ou d'ester, sur un support approprié,

2) élimination du groupement protecteur de la fonction amine sans toucher à la liaison acide glutamique-support et, éventuellement, à la fonction ester du deuxième groupement carboxylique de l'acide D-glutamique,

3) condensation de la L-alanine dont la fonction amine est protégée par un groupement protecteur convenable sur l'acide D-glutamique fixé sur son support,

4) élimination du groupement protecteur de la fonction amine du reste L-alanine sans toucher à la liaison acide D-glutamique-support et, éventuellement, à la fonction ester du deuxième groupement carboxylique de l'acide D-glutamique,

5) condensation de l'acide gras sur le dipeptide-support obtenu,

6) coupure de la liaison acide D-glutamique-support avec éventuellement élimination du groupement protecteur de la fonction α - ou γ -carboxylique de l'acide glutamique, et

7) séparation du dipeptide de formule générale (I) ainsi obtenu.

Les supports qui conviennent particulièrement bien sont les co-

polymères styrène/divinylbenzène chlorométhylés ou hydroxyméthylés. De préférence, les copolymères styrène/divinylbenzène (98/2 ou 99/1) chlorométhylés sont utilisés.

La fixation de l'acide D-glutamique convenablement protégée sur le support chlorométhylé s'effectue selon les méthodes habituelles en faisant réagir l'aminoacide, en solution dans un solvant organique tel que l'éthanol, sur la résine en présence d'une base organique telle que la triéthylamine. Il est particulièrement avantageux de chauffer le mélange réactionnel jusqu'à une température voisine de la température d'ébullition du solvant.

Les groupements protecteurs de la fonction amine et, éventuellement, d'une des fonctions acides de l'acide D-glutamique doivent être choisis de telle manière que l'élimination du groupement protecteur de la fonction amine s'effectue sans toucher ni à la liaison aminoacide-support ni au groupement protecteur de la fonction acide.

Généralement, la fonction acide de l'acide D-glutamique qui doit être protégée est sous forme d'ester benzylique qui s'élimine en milieu acide au moyen, par exemple, d'un mélange acide bromhydrique/acide trifluoroacétique anhydre et le groupement protecteur de la fonction amine est le radical t-butylloxycarbonyle qui s'élimine,

par exemple, au moyen d'un mélange acide trifluoroacétique/chlorure de méthylène.

La L-alanine, dont la fonction amine est protégée, de préférence par un groupement t-butylloxycarbonyle, est condensée sur l'acide D-glutamique-support selon les méthodes habituelles utilisées en chimie peptidique.

Généralement, la réaction est effectuée en présence d'un agent de condensation tel que le dicyclohexylcarbodiimide dans un solvant organique tel que le chlorure de méthylène.

L'élimination du groupement protecteur de la fonction amine du reste L-alanyle s'effectue dans les conditions indiquées précédemment pour l'élimination du groupement protecteur de la fonction amine de l'acide D-glutamique.

L'acide gras est condensé sur le dipeptide-support ainsi obtenu selon les méthodes habituelles et en particulier selon celle qui est indiquée précédemment pour la condensation de la L-alanine sur l'acide D-glutamique-support.

La coupure de la liaison acide D-glutamique-support, qui est de nature ester benzylique, et éventuellement l'élimination du groupe-

ment protecteur de la fonction carboxylique de l'acide D-glutamique sont généralement effectuées simultanément. De préférence, on utilise un mélange acide bromhydrique/acide trifluoroacétique anhydre.

Le produit de formule générale (I) est séparé du mélange réactionnel selon les méthodes habituelles. Le support est séparé par filtration et le dipeptide de formule générale (I) est séparé du filtrat après concentration à sec et après purification selon les méthodes physico-chimiques.

Selon une variante de l'invention, il est possible de condenser sur l'acide D-glutamique-support la L-alanine dont la fonction amine est protégée par un reste d'acide gras tel que défini précédemment. Dans ces conditions, la condensation de la L-alanine sur l'acide D-glutamique-support conduit directement au produit de formule générale (I) qui est séparé après coupure de la liaison acide D-glutamique-support et élimination éventuelle du groupement protecteur de la fonction acide de l'acide D-glutamique.

Selon une autre variante de l'invention, il est possible de fixer sur le support approprié le dipeptide provenant de la condensation de la L-alanine sur l'acide D-glutamique, puis de condenser l'acide gras sur le dipeptide ainsi fixé et enfin de séparer le produit obtenu. Lors de la fixation du dipeptide sur le support, il est nécessaire de protéger la fonction amine du reste L-alanyl et éventuellement la fonction α -acide de l'acide D-glutamique en utilisant de préférence les groupements protecteurs indiqués précédemment. Dans ces conditions, la condensation de l'acide gras sur le dipeptide fixé sur son support, dont le groupement protecteur de la fonction amine a été éliminé, conduit directement au produit de formule générale (I) qui est séparé après coupure de la liaison acide D-glutamique-support et élimination éventuelle du groupement protecteur de la fonction acide de l'acide D-glutamique.

Les nouveaux dipeptides de formule générale (I) peuvent être éventuellement purifiés par des méthodes physiques telles que la cristallisation ou la chromatographie.

Les nouveaux produits selon l'invention peuvent être transformés en sels métalliques ou en sels d'addition avec les bases azotées selon la nature du substituant R₁.

Les sels métalliques et les sels d'addition avec les bases organiques peuvent être obtenus par action des nouveaux composés sur des bases dans un solvant approprié. Généralement, on solubilise le produit dans l'eau par addition de la quantité théorique de base puis on lyophilise la solution obtenue.

Les nouveaux composés selon la présente invention sont des adjoints et des stimulants de l'immunité: ils augmentent les réactions d'hypersensibilité et/ou la production d'anticorps circulants vis-à-vis des antigènes avec lesquels ils sont administrés et ils stimulent de manière non spécifique des réactions de défense contre certaines infections (par exemple l'infection de la souris par la bactérie intracellulaire *Listeria monocytogenes*).

In vitro, ils sont actifs à des concentrations molaires généralement comprises entre 10⁻³ et 10⁻⁸, en particulier dans les tests suivants:

- stimulation de la synthèse de l'ADN (pouvoir mitogène) selon la technique de G. Marchal, «Ann. Immunol.» (Inst. Pasteur), 125 C, 519 (1974),

- stimulation de la réaction allogénique (réaction d'histo-incompatibilité) selon la technique de R.W. Dutton, «J. exp. Med.», 122, 759 (1966) et A.B. Peck et F.H. Bach, «J. Immunol. Methods», 3, 147 (1973),

- stimulation de la production d'anticorps selon la technique de P.H. Klesius, «Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.)», 135, 155 (1970) et H. Van Dijk et N. Bloksma, «J. Immunol. Methods», 14, 325 (1977),

- augmentation du nombre de macrophages phagocytaires selon la technique de J. Michl et coll., «J. exp. Med.», 144, 1465 (1976),

- stimulation de l'activité phosphatase acide et N-acétylglicosaminidase (enzymes lysosomiales des macrophages) en l'absence

d'une augmentation de la déshydrogénase lactique selon la technique de P. Davies et coll., «J. exp. Med.», 139, 1262 (1974).

In vivo, chez la souris, à des doses comprises entre 1 et 30 mg/kg, ils augmentent l'hypersensibilité retardée et la production d'anticorps en particulier selon la technique de T.E. Miller et coll., «J. Nath. Cancer Inst.», 51, 1669 (1973).

Chez le cobaye, ils augmentent la réaction d'hypersensibilité et la production d'anticorps contre la gammaglobuline bovine couplée avec l'hapténedinitrophénol selon la technique de F. Floc'h et coll., 10 «Immunol. Communic.», 7, 41 (1978).

Chez la souris, ils stimulent les réactions de défense contre l'infection de la souris à *Listeria monocytogenes* à des doses comprises entre 1 et 100 mg/kg selon la technique de R.M. Fauve et B. Hevin, «C.R. Acad. Sci. (D)», 285, 1589 (1977).

15 Chez la souris, ils stimulent le pouvoir d'élimination du carbone colloïdal par le système réticulo-endothélial selon la technique de B.N. Halpern et coll., «Ann. Institut Pasteur», 80, 582 (1951).

Chez le lapin, à des doses généralement comprises entre 0,1 et 3 mg/kg, ils stimulent la formation d'anticorps sériques antivirus 20 grippal selon la technique de G.H. Werner et coll., «Biomedicine», 22, 440 (1975).

D'un intérêt tout particulier sont les produits de formule générale (I) dans laquelle les symboles R₁, identiques ou différents, représentent un radical hydroxy ou amino ou un radical benzyl oxy et 25 RCO représente un radical alcanoyle ou alcenoyle contenant 8 à 20 atomes de carbone.

Les exemples suivants, donnés à titre non limitatif, montrent comment l'invention peut être mise en pratique.

Les produits obtenus peuvent former des complexes avec les 30 métaux alcalins et alcalino-terreux; il en résulte que les résultats de l'analyse élémentaire des produits peuvent sensiblement s'écartez des valeurs théoriques. Cependant la structure des produits est confirmée par le rapport C/N qui est en accord avec la théorie, par la teneur en aminoacides et par leur homogénéité en chromatographie 35 sur couche mince de Silicagel.

Exemple 1

A une solution de 12,75 g de chlorhydrate de L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle dans 75 cm³ de soude 1N, on ajoute simultanément en 37 min 8 g de chlorure de lauroyle dissous dans 75 cm³ d'éther et 37,4 cm³ de soude 1N de façon à maintenir le pH du mélange réactionnel compris entre 8 et 9. Le mélange est agité pendant 1 h 20 min. Après décantation, la phase aqueuse est acidifiée à pH 2 par addition d'acide chlorhydrique 1N (60 cm³) et extraite 3 fois par 300 cm³ au total d'acétate d'éthyle. Les extraits organiques réunis sont lavés par 25 cm³ d'eau, séchés sur du sulfate de sodium anhydre et concentrés à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45°C. On obtient ainsi 7,4 g d'un solide blanc que l'on chromatographie sur 80 g de gel de silice neutre contenues dans une colonne de 2 cm de diamètre. On élue successivement par 100 cm³ d'un mélange acétate d'éthyle/méthanol (8/2 en volumes) et 200 cm³ d'un mélange acétate d'éthyle/méthanol (1/1 en volumes), en recueillant des fractions de 50 cm³. La fraction 1 est concentrée à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45°C. On obtient ainsi 2 g de 50 N-lauroyl L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle fondant à 130°C. Les fractions 2 à 4 sont de même concentrées à sec et chromatographiées sur 100 g de gel de silice neutre (0,063-0,20 mm) contenues dans une colonne de 2 cm de diamètre. On élue par 250 cm³ d'acétone en recueillant des fractions de 25 cm³. Les fractions 1 et 2 sont concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45°C. On obtient ainsi 4,07 g de N-lauroyl L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle fondant à 130°C dont les caractéristiques sont les suivantes:

Rf = 0,9 [Silicagel; n-butanol/pyridine/acide acétique/eau (50/20/6/24 en volumes)]

Analyse:

Calculé: C 66,10	H 8,63	N 5,71%
Trouvé: C 66,3	H 8,8	N 5,6 %

Le chlorhydrate de L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle peut être préparé de la façon suivante:

On dissout 97,16 g de N-t-butyloxycarbonyl L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle dans 970 cm³ d'une solution anhydre d'acide chlorhydrique 1,7N dans l'acide acétique. On agite pendant 2 h, puis on ajoute rapidement 3,8 l d'éther anhydre et on laisse reposer pendant 2 h à 0°C. Le précipité huileux qui s'est formé, séparé du surnageant par décantation, est dissous dans 500 cm³ d'acétone; la solution ainsi obtenue est concentrée à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C. On obtient ainsi 88,9 g de chlorhydrate de L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle.

Le N-t-butyloxycarbonyl L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle peut être préparé selon la méthode de E. Bricas et coll., «Biochemistry», 9, 823 (1970).

Exemple 2

On ajoute 31 cm³ de chloroformate d'isobutyle à une solution, maintenue à une température voisine de 10°C, de 47,75 g d'acide laurique dans 3 l de dioxane et 33,3 cm³ de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 20 min à 10°C, puis on ajoute en 10 min une solution, refroidie à 10°C, de 88,95 g de chlorhydrate de L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle, dans un mélange de 1 l de dioxane, de 476 cm³ d'eau et de 476 cm³ de soude 1N. Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 10°C, puis pendant 18 h à une température voisine de 20°C; il est ensuite dilué par addition de 4 l d'eau, acidifié à pH 2 par addition d'acide chlorhydrique 1N (environ 475 cm³) et conservé pendant 2 h à 0°C. Le précipité obtenu est séparé par filtration, lavé successivement par 500 cm³ d'eau et 500 cm³ d'éther, puis séché sous pression réduite (20 mm de mercure) à 20°C. Le produit est mis en suspension dans 800 cm³ d'éther, agité pendant 1 h, séparé par filtration et lavé 2 fois par 200 cm³ au total d'éther. Après séchage sous pression réduite (20 mm de mercure) à 20°C, on obtient 71,79 g de N-lauroyl L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle fondant à 130°C.

Rf = 0,77 [Silicagel; acétate d'éthyle/méthanol (4/1 en volumes)]

Exemple 3

On ajoute goutte à goutte en 30 min 5,49 g de chlorure de lauryle dissous dans 150 cm³ de chlorure de méthylène à un mélange, refroidi vers 5°C, de 8,46 g de chlorhydrate de L-alanyl-D-glutamate de benzyle dans 300 cm³ de chlorure de méthylène et 4,3 cm³ de triéthylamine. On agite le mélange réactionnel pendant 2 h 1/4 à 20°C environ, puis on l'extrait 3 fois par 1500 cm³ au total d'eau. On concentre la phase organique à 100 cm³ environ sous pression réduite (20 mm de mercure) à 40°C. Le précipité formé dans le concentrat est séparé par filtration et séché. On obtient ainsi 5,3 g d'une poudre blanche à laquelle on joint 0,8 g d'un produit préparé dans les mêmes conditions. Le mélange est dissous dans 100 cm³ de méthanol bouillant et la solution obtenue est laissée au repos pendant 3 h à 0°C. Les cristaux formés sont séparés par filtration et séchés sous pression réduite (0,2 mm de mercure) à 50°C. On obtient ainsi 4,64 g de N-lauroyl L-alanyl-D-glutamate de benzyle fondant à 182°C.

Rf = 0,80 [Silicagel; acétate d'éthyle/méthanol (1/1 en volumes)]

Analyse:

Calculé: C 66,23 H 8,85 N 8,58%
Trouvé: C 66,1 H 8,8 N 8,4 %

Le chlorhydrate de L-alanyl-D-glutamate de benzyle peut être préparé de la façon suivante:

On dissout 5,2 g de N-t-butyloxycarbonyl L-alanyl-D-glutamate de benzyle dans 60 cm³ d'une solution anhydre d'acide chlorhydrique 1,7N dans l'acide acétique. On agite pendant 1 h, puis on verse le mélange réactionnel dans 300 cm³ d'éther. On décante la phase éthérée. On ajoute 1 l d'éther sur la gomme restante que l'on tritue, on décante de nouveau la phase éthérée et on reprend le résidu par 200 cm³ de méthanol. La solution obtenue est concentrée

à sec sous pression réduite (20 mm de mercure, puis 0,2 mm de mercure) à 50°C. On obtient ainsi 4,3 g de chlorhydrate de L-alanyl-D-glutamate de benzyle sous forme de meringue.

Le N-t-butyloxycarbonyl L-alanyl-D-glutamate de benzyle peut être préparé selon la méthode de S. Kusumoto et coll., «Bull. Chem. Soc. Japan», 49, 533 (1976).

Exemple 4

On dissout 3,7 g de N-lauroyl L-alanyl-D-glutamate de benzyle dans un mélange de 1 l de méthanol, de 400 cm³ d'acide acétique et de 40 cm³ d'eau. On ajoute 3,7 g de palladium sur noir (à 3% de palladium) et on fait passer un lent courant d'hydrogène pendant 2 h. On filtre le mélange réactionnel et le filtrat est dilué par addition de 3 l d'eau. On sépare l'insoluble par filtration et le sèche sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C. On obtient ainsi 2,3 g de N-lauroyl L-alanyl-D-glutamine fondant à 170-172°C.

Rf = 0,83 [Silicagel; méthanol]

Analyse:

Calculé: C 60,12 H 9,33 N 10,52%
Trouvé: C 60,1 H 8,8 N 10,5 %

Exemple 5

On dissout 500 mg de N-lauroyl L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle dans 25 cm³ d'un mélange méthanol/acide acétique/eau (25/1/1 en volumes). On ajoute 500 mg de palladium sur noir (à 3% de palladium) puis on fait passer un lent courant d'hydrogène pendant 2 h. On filtre le mélange réactionnel et le filtrat est concentré à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45°C. On obtient ainsi 460 mg d'un solide blanc crème auquel on ajoute 690 mg de produit préparé dans les mêmes conditions. Le mélange est dissous dans 10 cm³ de méthanol bouillant et, à la solution ainsi obtenue, on ajoute 5 cm³ d'eau. Après 20 h de repos à 20°C environ, les cristaux blancs apparus sont séparés par filtration, lavés par 5 cm³ d'un mélange méthanol/eau (2/1 en volumes) puis séchés sous pression réduite (0,2 mm de mercure) à 50°C. On obtient ainsi 770 mg d'acide N-lauroyl L-alanyl-D-glutamique fondant à 138-142°C.

Rf = 0,61 [Silicagel; n-butanol/pyridine/acide acétique/eau (50/20/6/24 en volumes)]

Analyse:

Calculé: C 59,98 H 9,06 N 6,99 O 23,97%
Trouvé: C 59,7 H 9,0 N 7,3 O 24,1 %

Exemple 6

On ajoute 2,54 cm³ de chloroformate d'isobutyle dans une solution, maintenue à 0°C, de 3,9 g d'acide laurique dans 156 cm³ de toluène anhydre et 2,7 cm³ de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 20 min à 0°C, puis on ajoute une solution, refroidie à 0°C, de 6,7 g de chlorhydrate de L-alanyl-D-isoglutamate de benzyle dans 52 cm³ d'eau et 2,7 cm³ de triéthylamine. Le mélange réactionnel est agité pendant 65 h à une température voisine de 20°C. On obtient une masse réactionnelle d'aspect gélatineux à laquelle on ajoute 150 cm³ d'acétate d'éthyle. Le précipité est séparé par filtration, lavé par 30 cm³ d'eau puis séché. On obtient 7,6 g de N-lauroyl L-alanyl-D-isoglutamate de benzyle sous la forme d'une poudre blanche. La phase aqueuse du filtrat précédent est extraite 2 fois par 100 cm³ au total d'acétate d'éthyle, cette phase acétate d'éthyle est réunie avec la phase organique du filtrat, lavée par 125 cm³ d'acide chlorhydrique 0,1N, 120 cm³ d'eau, séchée sur sulfate de magnésium puis concentrée à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C. On obtient à nouveau 1,5 g de N-lauroyl L-alanyl-D-isoglutamate de benzyle. Le produit (7,6 g et 1,5 g) est recristallisé dans 120 cm³ de méthanol. On obtient ainsi 6,6 g de N-lauroyl L-alanyl-D-isoglutamate de benzyle fondant à 169°C.

Rf = 0,13 [Silicagel; acétate d'éthyle]

Le chlorhydrate de L-alanyl-D-isoglutamate de benzyle peut être préparé selon le procédé de S. Kusumoto, «Bull. Chem. Soc. Japan», 49, 533 (1976).

Exemple 7

On dissout 6,6 g de N-lauroyl L-alanyl-D-isoglutamate de benzyle dans 330 cm³ d'acide acétique. On ajoute 6,6 g de palladium sur noir (à 3% de palladium) puis on fait passer un lent courant d'hydrogène pendant 2 h. Après filtration du mélange réactionnel, on verse le filtrat dans 3 l d'eau. Après 2 h de repos à 0° C, le précipité apparu est séparé par filtration, lavé 2 fois par 80 cm³ au total d'eau, puis séché. On obtient ainsi 5,16 g de produit auquel on ajoute 0,5 g d'un produit obtenu dans des conditions analogues. Ce mélange est dissous dans 90 cm³ de méthanol bouillant et à la solution obtenue on ajoute 45 cm³ d'eau. Après 2 h de repos à une température voisine de 20° C, les cristaux apparus sont séparés par filtration, lavés 2 fois par 60 cm³ au total d'eau et séchés sous pression réduite (20 mm de mercure). On obtient ainsi 5,1 g de N-lauroyl L-alanyl-D-isoglutamine fondant à 163° C.

Rf = 0,18 [Silicagel; acétate d'éthyle/méthanol (4/1 en volumes)]

Analyse:

Calculé: C 60,12 H 9,33 N 10,52%
Trouvé: C 60,2 H 9,5 N 10,9 %

Exemple 8

On ajoute 0,53 cm³ de chloroformiate d'isobutyle dans une solution, maintenue à -10° C, de 2 g de N-lauroyl L-alanyl-α-D-glutamate de benzyle dans 20 cm³ de chloroforme et 0,57 cm³ de triéthylamine. La solution est agitée pendant 15 min entre -10 et -2° C, puis on fait passer un courant d'ammoniac dans le mélange réactionnel pendant environ 6 h. On laisse ensuite reposer pendant 68 h à 20° C environ. On concentre à sec le mélange réactionnel sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50° C. On reprend le résidu par 50 cm³ d'isopropanol bouillant. Un très léger insoluble est séparé par filtration. Après refroidissement du filtrat pendant 2 h à 0° C, le précipité apparu est séparé par filtration puis séché. On obtient 0,69 g de N-lauroyl L-alanyl-D-glutamamide fondant à 226-228° C.

Rf = 0,75 [Silicagel; acétate d'éthyle/méthanol (1/1 en volumes)]

Analyse:

Calculé: C 60,27 H 9,61 N 14,06%
Trouvé: C 59,3 H 9,6 N 14,1 %

Exemple 9

On ajoute 0,79 cm³ de chloroformiate d'isobutyle à une solution, maintenue vers -5° C, de 1,09 g d'acide phényl-5 valérique dans un mélange de 50 cm³ de tétrahydrofurane et 0,86 cm³ de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 35 min à une température voisine de -5° C, puis on ajoute une solution, refroidie à 0° C, de 2,1 g de chlorhydrate de L-alanyl-α-D-glutamate de benzyle dans 50 cm³ de tétrahydrofurane, 10 cm³ d'eau et 1,72 cm³ de triéthylamine. Le mélange réactionnel est agité pendant 20 h à 20° C environ, puis concentré à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 40° C. Le résidu obtenu est dissous dans 100 cm³ d'eau et la solution obtenue est acidifiée à pH 2 par addition d'une solution d'acide chlorhydrique 1N. Le précipité apparu est séparé par filtration, lavé 2 fois par 50 cm³ au total d'eau et 2 fois par 50 cm³ au total d'éther. Après séchage, on obtient ainsi 1,98 g de N-(phényl-5 valéryl) L-alanyl-α-D-glutamate de benzyle fondant à 128° C.

Rf = 0,72 [Silicagel; n-butanol/pyridine/acide acétique/eau (50/20/6/24 en volumes)]

Exemple 10

On dissout 1,8 g de N-(phényl-5 valéryl) L-alanyl-α-D-glutamate de benzyle dans 100 cm³ d'acide acétique. On ajoute 1,8 g de palla-

dium sur noir (à 3% de palladium) et on fait passer un courant d'hydrogène pendant 4 h. On filtre le mélange réactionnel. Le filtrat est concentré à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 60° C. Le résidu est repris par 100 cm³ d'acétate d'éthyle bouillant; l'insoluble est éliminé par filtration. Le filtrat obtenu est dilué par addition de 400 cm³ d'oxyde d'isopropyle. Après 2 h de repos à 0° C, les cristaux apparus sont séparés par filtration et séchés. On obtient ainsi 0,66 g d'acide N-(phényl-5 valéryl) L-alanyl-D-glutamique fondant entre 135-140° C (fusion pâteuse).

Rf = 0,55 [Silicagel; n-butanol/pyridine/acide acétique/eau (50/20/6/24 en volumes)]

Analyse:

Calculé: C 60,31 H 6,93 N 7,40%
Trouvé: C 60,3 H 7,1 N 7,4 %

Exemple 11

On ajoute 3,6 cm³ de chloroformiate d'isobutyle dans une solution, maintenue à -1° C, de 3,95 g d'acide octanoïque dans 140 cm³ de tétrahydrofurane et 3,8 cm³ de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 20 min à -1° C, puis on ajoute une solution, refroidie à 0° C, de 9,45 g de chlorhydrate de L-alanyl-α-D-glutamate de benzyle dans un mélange de 54,8 cm³ de soude 1N et 30 cm³ d'eau. Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à -1° C puis pendant 20 h à 20° C environ. Il est ensuite acidifié à pH 1 par addition d'acide chlorhydrique 1N. Le tétrahydrofurane est évaporé sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45° C, puis le concentrat est extrait par 100 cm³ d'acétate d'éthyle. La phase organique ainsi obtenue est lavée 2 fois par 50 cm³ au total d'acide chlorhydrique 1N et par 25 cm³ d'une solution saturée de chlorure de sodium et concentrée à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45° C. On obtient ainsi 10 g d'une huile jaune pâle qui est chromatographiée sur une colonne de 2,5 cm de diamètre contenant 200 g de gel de silice neutre (0,063-0,20 mm). On élue avec de l'acétate d'éthyle en recueillant des fractions de 100 cm³. Les fractions 7 à 9 réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45° C. Le résidu obtenu est trituré dans 100 cm³ d'un mélange éther/éther de pétrole (P.E. = 35-60° C) (1/4 en volumes), séparé par filtration et séché. On obtient ainsi 3,27 g de N-octanoyl L-alanyl-α-D-glutamate de benzyle sous la forme d'une poudre blanche.

Rf = 0,56 [Silicagel; acétate d'éthyle/méthanol (8/2 en volumes)]

Exemple 12

On ajoute 3,6 cm³ de chloroformiate d'isobutyle dans une solution, maintenue à 0° C, de 7,03 g d'acide palmitique dans 140 cm³ de tétrahydrofurane et 3,8 cm³ de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 20 min à 0° C, puis on ajoute une solution, refroidie à 0° C, de 9,45 g de chlorhydrate de L-alanyl-α-D-glutamate de benzyle dans un mélange de 54,8 cm³ de soude 1N et de 30 cm³ d'eau. Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0° C, puis pendant 18 h à 20° C environ; il est ensuite acidifié à pH 1 par addition de 70 cm³ d'acide chlorhydrique 1N. Le précipité formé est séparé par filtration, lavé 5 fois par 200 cm³ au total d'eau et séché. On obtient ainsi 12,11 g d'une poudre blanche qui est chromatographiée sur une colonne de 2,5 cm de diamètre contenant 200 g de gel de silice neutre (0,063-0,20 mm). On élue successivement par 200 cm³ d'acétate d'éthyle, 300 cm³ d'un mélange acétate d'éthyle/méthanol (9/1 en volumes), 1,6 l d'un mélange acétate d'éthyle/méthanol (8/2 en volumes), 400 cm³ d'un mélange acétate d'éthyle/méthanol (6/4 en volumes) en recueillant des fractions de 100 cm³. Les fractions 5 à 23 réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45° C. On obtient ainsi 5,18 g d'un solide que l'on triture dans 50 cm³ d'éther bouillant pendant ½ h. Après refroidissement à une température voisine de 20° C, l'insoluble est séparé par filtration, lavé 3 fois par 75 cm³ au total d'éther puis séché. On obtient ainsi 2,94 g de N-palmitoyl L-alanyl-α-D-glutamate de benzyle.

Rf = 0,77 [Silicagel; acétate d'éthyle]

Exemple 13

On ajoute $0,48 \text{ cm}^3$ de chloroformiate d'isobutyle à une solution, maintenue à -5°C , de $1,12 \text{ g}$ d'acide arachidonique dans 40 cm^3 de tétrahydrofurane et $0,52 \text{ cm}^3$ de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 35 min entre -5 et -8°C , puis on ajoute une solution, refroidie à 0°C , de $0,93 \text{ g}$ de chlorhydrate d'acide L-alanyl-D-glutamique dans un mélange de 20 cm^3 de tétrahydrofurane, 15 cm^3 d'eau et $1,55 \text{ cm}^3$ de triéthylamine. Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à une température voisine de -3°C , puis pendant 20 h à une température voisine de 20°C ; il est dilué ensuite par addition de 50 cm^3 d'eau, acidifié à pH 2 par addition d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1N, et extrait 3 fois par 75 cm^3 au total d'éther. Les phases éthérees réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 30°C . On obtient ainsi $2,5 \text{ g}$ d'une huile jaune qui est chromatographiée sur une colonne de $2,4 \text{ cm}$ de diamètre contenant 50 g de gel de silice neutre (0,04-0,063 mm). On élue avec de l'acétate d'éthyle. On obtient ainsi $0,32 \text{ g}$ d'acide N-arachidonoyl L-alanyl-D-glutamique fondant vers 90°C (fusion pâteuse).

Rf = 0,70 [Silicagel; n-butanol/pyridine/acide acétique/eau (50/20/6/24 en volumes)]

Le chlorhydrate de l'acide L-alanyl-D-glutamique peut être préparé selon la méthode de H. Nguyen-Huy et coll., «Eur. J. Biochem.», 66, 79 (1976).

Exemple 14

On ajoute $0,48 \text{ cm}^3$ de chloroformiate d'isobutyle à une solution, maintenue à -10°C , de $0,94 \text{ g}$ d'acide palmitique dans 40 cm^3 de tétrahydrofurane et $0,52 \text{ cm}^3$ de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 50 min entre -6 et -8°C , puis on ajoute une solution, refroidie à 0°C , de $0,93 \text{ g}$ de chlorhydrate d'acide L-alanyl-D-glutamique dans un mélange de 20 cm^3 de tétrahydrofurane, 15 cm^3 d'eau et $1,55 \text{ cm}^3$ de triéthylamine. Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à une température voisine de -6°C puis pendant 20 h à une température voisine de 20°C ; il est acidifié ensuite à pH 2 par addition d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 4N et dilué par addition de 300 cm^3 d'eau. Le précipité formé est séparé par filtration, lavé 3 fois par 150 cm^3 au total d'éther et séché. On obtient ainsi $1,08 \text{ g}$ d'une poudre blanche que l'on dissout dans 120 cm^3 d'acétate d'éthyle bouillant, et filtre à chaud. Après 20 h de repos à 4°C environ, on sépare le précipité formé par filtration, le lave 2 fois par 20 cm^3 au total d'acétate d'éthyle et le sèche à l'air. On obtient ainsi $0,93 \text{ g}$ d'une poudre blanche que l'on dissout dans 15 cm^3 d'acide acétique bouillant, et filtre à chaud. Après 64 h de repos à 4°C environ, le précipité formé est séparé par filtration, lavé 2 fois par 20 cm^3 au total d'acétate d'éthyle et séché sous pression réduite (0,2 mm de mercure) à 50°C . On obtient ainsi $0,5 \text{ g}$ d'acide N-palmitoyl L-alanyl-D-glutamique fondant à 155°C .

Rf = 0,62 [Silicagel; n-butanol/pyridine/acide acétique/eau (50/20/6/24 en volumes)]

Analyse:

Calculé: C 63,13 H 9,71 N 6,14%
Trouvé: C 63,0 H 9,3 N 6,2 %

Exemple 15

On ajoute $1,95 \text{ cm}^3$ de chloroformiate d'isobutyle à une solution, maintenue à 25°C , de $5,19 \text{ g}$ d'acide docosanoïque dans un mélange de 150 cm^3 de tétrahydrofurane et de $2,1 \text{ cm}^3$ de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 20 min à 25°C , puis on ajoute une solution de $5,69 \text{ g}$ de chlorhydrate de L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle dans un mélange de 33 cm^3 de soude 1N et 17 cm^3 d'eau. Le mélange réactionnel est agité pendant 30 min vers 30°C puis pendant 18 h vers 20°C environ. Ensuite, on ajoute 100 cm^3 d'eau et on acidifie à pH 1 par addition de 35 cm^3 d'acide chlorhydrique 1N. On obtient un précipité que l'on sépare par filtration, lave 3 fois par 75 cm^3 au total d'eau et sèche sous pression réduite (0,3 mm de

mercure) à 20°C . On obtient ainsi $6,53 \text{ g}$ d'une poudre blanche. On dissout 6 g de cette poudre dans 50 cm^3 de tétrahydrofurane contenant 20 g de gel de silice neutre (0,04-0,063 mm). On concentre à sec le mélange sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C et on charge l'ensemble sur une colonne de $3,5 \text{ cm}$ de diamètre contenant 180 g de gel de silice neutre (0,04-0,063 mm). On élue successivement par:

- 1300 cm^3 d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (1/1 en volumes),
- 10 — 600 cm^3 d'acétate d'éthyle,
- 500 cm^3 d'un mélange acétate d'éthyle/tétrahydrofurane (95/5 en volumes),
- 900 cm^3 d'un mélange acétate d'éthyle/tétrahydrofurane (9/1 en volumes),
- 15 — 800 cm^3 d'un mélange acétate d'éthyle/tétrahydrofurane (8/2 en volumes),
- 1000 cm^3 d'un mélange acétate d'éthyle/tétrahydrofurane (6/4 en volumes),
- 900 cm^3 d'un mélange acétate d'éthyle/tétrahydrofurane (2/8 en volumes), et
- 20 — 500 cm^3 d'un mélange acétate d'éthyle/tétrahydrofurane (2/8 en volumes),
- 600 cm^3 de tétrahydrofurane en recueillant des fractions de 100 cm^3 .

25 Les fractions 17 à 68 sont réunies et concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C . On obtient ainsi $3,31 \text{ g}$ de N-docosanoyl L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle.

Rf = 0,54 [Silicagel; acétate d'éthyle/tétrahydrofurane (8/2 en volumes)]

Exemple 16

On ajoute 3 cm^3 de chloroformiate d'isobutyle à une solution, maintenue à -5°C , de $3,605 \text{ g}$ d'acide cyclohexane-3 propionique dans un mélange de 100 cm^3 de tétrahydrofurane et $3,23 \text{ cm}^3$ de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 20 min à -5°C , puis on ajoute une solution, refroidie à 5°C , de $7,96 \text{ g}$ de chlorhydrate de L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle dans un mélange de $46,2 \text{ cm}^3$ de soude 1N et $13,8 \text{ cm}^3$ d'eau. Le mélange réactionnel est agité pendant 10 min à 0°C , puis pendant 2 d à 20°C environ. On évapore ensuite le tétrahydrofurane sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C . Le concentrat est extrait 2 fois par 80 cm^3 au total d'éther, acidifié à pH 1 par addition de 50 cm^3 d'acide chlorhydrique 1N. L'huile qui décante du milieu réactionnel est extraite 4 fois par 200 cm^3 au total d'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont lavées par 25 cm^3 d'une solution saturée de chlorure de sodium et séchées sur sulfate de magnésium anhydre. Après concentration à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C , on obtient une huile qui cristallise spontanément. Ces cristaux ($7,3 \text{ g}$) sont dissous dans 40 cm^3 d'acide acétique contenant 20 g de gel de silice neutre (0,04-0,063 mm). On concentre à sec le mélange et on charge l'ensemble sur une colonne de $2,5 \text{ cm}$ de diamètre contenant 50 g de gel de silice neutre (0,04-0,063 mm). On élue par de l'acétate d'éthyle en recueillant des fractions de 100 cm^3 . La 4^e fraction est 55 concentrée à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45°C . On obtient ainsi $1,86 \text{ g}$ de N-(cyclohexyl-3 propionyl) L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle fondant à 126 - 128°C . Les fractions 3 et 5 sont réunies et concentrées à sec. Le solide amorphe est chromatographié sur une colonne de $2,5 \text{ cm}$ de diamètre contenant 68 g de gel de silice neutre (0,04-0,063 mm). On élue successivement par 520 cm^3 d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (1/1 en volumes) et 520 cm^3 d'acétate d'éthyle en recueillant des fractions de 40 cm^3 . Les fractions 11 à 28 réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45°C . On obtient ainsi $1,37 \text{ g}$ de N-(cyclohexyl-3 propionyl) L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle fondant à 128 - 130°C .

Rf = 0,14 [Silicagel; acétate d'éthyle]

Exemple 17

On ajoute $4,3 \text{ cm}^3$ de chloroformate d'isobutyle à une solution, maintenue à -6°C , de $7,59 \text{ g}$ de N-(triméthyl-3,5,5 hexanoyl) L-alanine dans un mélange de 400 cm^3 de tétrahydrofurane et $4,63 \text{ cm}^3$ de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 20 min à -6°C , puis on ajoute une solution refroidie à 3°C de $9,06 \text{ g}$ de chlorhydrate de α -D-glutamate de benzyle dans un mélange de $66,2 \text{ cm}^3$ de soude 1N et 14 cm^3 d'eau. Le mélange réactionnel est agité pendant 15 min vers -5°C , puis pendant 66 h vers 18°C environ; il est ensuite acidifié à pH 1 par addition de 75 cm^3 d'acide chlorhydrique 1N. On évapore le tétrahydrofurane sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C . Le concentrat est extrait 5 fois par 200 cm^3 au total d'acétate d'éthyle. Les phases acétate d'éthyle, réunies, sont lavées par 40 cm^3 d'acide chlorhydrique 0,1N et séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration et concentration à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C , on obtient $14,8 \text{ g}$ d'huile que l'on dissout dans 50 cm^3 d'acétate d'éthyle contenant 30 g de gel de silice neutre (0,04-0,063 mm). On concentre à sec le mélange sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C et on charge l'ensemble sur une colonne de $2,8 \text{ cm}$ de diamètre contenant 280 g de gel de silice neutre (0,04-0,063 mm). On élue successivement par:

- 2 l de cyclohexane,
- 1 l d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (95/5 en volumes),
- $1,5 \text{ l}$ d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (90/10 en volumes),
- 5 l d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (80/20 en volumes),
- $1,5 \text{ l}$ d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (70/30 en volumes) et
- $3,5 \text{ l}$ d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (50/50 en volumes) en recueillant des fractions de 500 cm^3 . Les fractions 23 à 29 sont réunies et concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C . On obtient ainsi $10,86 \text{ g}$ de N-(triméthyl-3,5,5 hexanoyl) L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle sous forme d'huile qui cristallise.

Rf = 0,37 [Silicagel; acétate d'éthyle]

La N-(triméthyl-3,5,5 hexanoyl) L-alanine peut être préparée de la façon suivante:

On ajoute $6,5 \text{ cm}^3$ de chloroformate d'isobutyle à une solution, maintenue à -5°C , de $7,912 \text{ g}$ d'acide triméthyl-3,5,5 hexanoïque dans un mélange de 125 cm^3 de tétrahydrofurane et de 7 cm^3 de triéthylamine. Le mélange est agité pendant 20 min à -5°C , puis on ajoute une solution, refroidie à 5°C , de $4,495 \text{ g}$ de L-alanine dans 50 cm^3 de soude 1N. Le mélange réactionnel est agité pendant 10 min vers 0°C , puis pendant 18 h à 25°C environ. On évapore ensuite le tétrahydrofurane sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C . Le concentrat est extrait 2 fois par 40 cm^3 au total d'éther, acidifié à pH 1 par addition de 55 cm^3 d'acide chlorhydrique 1N. Le précipité huileux qui se forme est extrait 5 fois par 250 cm^3 au total d'acétate d'éthyle. Les phases acétate d'éthyle sont réunies, lavées par 25 cm^3 d'une solution saturée de chlorure de sodium et séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration et concentration à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C , on obtient $11,79 \text{ g}$ d'huile que l'on dissout dans 40 cm^3 d'acétate d'éthyle contenant 20 g de gel de silice neutre (0,063-0,20 mm). On concentre à sec le mélange sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C et on charge l'ensemble sur une colonne de 3 cm de diamètre contenant 120 g de gel de silice neutre (0,063-0,20 mm).

On élue successivement par:

- 600 cm^3 de cyclohexane,
- 300 cm^3 d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (95/5 en volumes),
- 300 cm^3 d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (90/10 en volumes),

9

— 300 cm^3 d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (80/20 en volumes),

— 700 cm^3 d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (50/50 en volumes),

- 5 — 300 cm^3 d'acétate d'éthyle, et
 — 300 cm^3 d'un mélange acétate d'éthyle/méthanol (90/10 en volumes) en recueillant des fractions de 100 cm^3 . Les fractions 17 à 28 réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 45°C . On obtient ainsi $10,16 \text{ g}$ d'huile que l'on dissout dans 25 cm^3 d'éther. Par addition de 150 cm^3 d'éther de pétrole, on obtient une huile que l'on sépare par décantation. Après séchage sous pression réduite (0,2 mm de mercure), on obtient $7,59 \text{ g}$ de N-(triméthyl-3,5,5 hexanoyl) L-alanine.

Rf = 0,43 [Silicagel; acétate d'éthyle]

Exemple 18

On ajoute en 1 h 10 min $27,5 \text{ g}$ de n-pentyl-2 hydroxy-3 nonanoate de succinimide dissous dans 644 cm^3 de diméthoxy-1,2 éthane à une solution, maintenue à 7°C , de $27,8 \text{ g}$ de chlorhydrate de L-20 alanyl- α -D-glutamate de benzyle dans un mélange de 245 cm^3 d'eau et $22,9 \text{ cm}^3$ de triéthylamine. Le mélange réactionnel est conservé à 20°C pendant 20 h puis à 60°C pendant 5 h. On évapore ensuite le diméthoxy-1,2 éthane sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C ; le concentrat est acidifié à pH 1 par addition de 150 cm^3 d'acide chlorhydrique 1N et extrait 5 fois par $1,5 \text{ l}$ au total d'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont lavées 3 fois par 750 cm^3 au total d'eau, séchées sur sulfate de sodium et concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 60°C . On obtient ainsi $38,6 \text{ g}$ d'huile que l'on dissout dans 200 cm^3 d'acétate d'éthyle.

30 On ajoute 13 g de dicyclohexylamine. Après un repos de 20 h à 4°C , le solide blanc formé est séparé par filtration, lavé 2 fois par 40 cm^3 au total d'acétate d'éthyle et 2 fois par 200 cm^3 au total d'éther et séché sous pression réduite (20 mm de mercure) à 20°C . On obtient ainsi $22,4 \text{ g}$ de poudre blanche auxquels on ajoute $1,9 \text{ g}$ obtenu dans une opération similaire. On dissout ce mélange dans 500 cm^3 d'eau; on ajoute à la solution aqueuse 200 cm^3 d'acétate d'éthyle et 150 cm^3 d'une solution saturée d'acide citrique. On sépare la phase organique, extrait la phase aqueuse 2 fois par 400 cm^3 au total d'acétate d'éthyle. Les phases acétate d'éthyle réunies sont lavées 2 fois par 200 cm^3 au total d'eau, séchées sur sulfate de sodium et concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 60°C . On obtient ainsi $17,4 \text{ g}$ de N-(n-pentyl-2 hydroxy-3 nonanoyl) L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle sous forme de pâte beige.

Rf = 0,25 [Silicagel; acétate d'éthyle]

45 Le n-pentyl-2 hydroxy-3 nonanoate de succinimide peut être préparé de la façon suivante:

On ajoute en 40 min 27 g de dicyclohexylcarbodiimide dissous dans 300 cm^3 de diméthoxy-1,2 éthane à une solution, maintenue à 0°C , de $29,1 \text{ g}$ d'acide n-pentyl-2 hydroxy-3 nonanoïque et de $14,1 \text{ g}$ de N-hydroxysuccinimide dans 300 cm^3 de diméthoxy-1,2 éthane. Le mélange réactionnel est agité à 0°C pendant 3 h, puis conservé à 4°C pendant 21 h. Le précipité formé est séparé par filtration et lavé 2 fois par 100 cm^3 au total de diméthoxy-1,2 éthane. Le filtrat est concentré à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C .

55 Le concentrat est repris par un mélange de 300 cm^3 d'oxyde d'isopropyle et 3 cm^3 d'acide acétique. Après 2 h de repos à 20°C , le précipité formé est séparé par filtration et lavé 2 fois par 40 cm^3 au total d'oxyde d'isopropyle. Le filtrat est concentré à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C . On obtient ainsi $42,6 \text{ g}$ de n-pentyl-2 hydroxy-3 nonanoate de succinimide sous forme d'huile jaune.

60 L'acide n-pentyl-2 hydroxy-3 nonanoïque peut être préparé selon la méthode de E. Lederer et coll., «Bull. Soc. Chim.», 1952, 413.

Exemple 19

A une solution de $6,07 \text{ g}$ de N-t-butylloxycarbonyl α -D-glutamate de benzyle dans 70 cm^3 d'éthanol, on ajoute $12,5 \text{ g}$ de copolymère styrène/divinylbenzène (98/2) chlorométhylé contenant $1,2 \text{ mEq}$ de

chlore par gramme. On agite le mélange réactionnel pendant $\frac{1}{4}$ h à 28°C. On ajoute alors 2,25 cm³ de triéthylamine et on agite le mélange réactionnel pendant 65 h à 78°C. Le polymère est filtré, lavé successivement par 3 fois 300 cm³ au total d'éthanol et 3 fois 300 cm³ au total de chlorure de méthylène, puis séché sous pression réduite (20 mm de mercure) à 40°C. On obtient ainsi 17 g de O¹-benzyl N-t-butylloxycarbonyl D-glutamyl/polymère. Lalanine est condensée sur le O¹-benzyl N-t-butylloxycarbonyl D-glutamyl/polymère en effectuant la suite d'opérations suivantes dans un réacteur muni d'un agitateur et, à sa base, d'un filtre en verre fritté.

1) On effectue 3 lavages successifs du polymère par 100 cm³ de chlorure de méthylène à chaque fois. Chaque addition de solvant est suivie d'une agitation pendant 3 min, puis d'un essorage.

2) Le groupement protecteur t-butyloxycarbonyle de l'acide glutamique est ensuite éliminé par addition de 100 cm³ d'un mélange acide trifluoroacétique/chlorure de méthylène (1/1 en volumes), puis agitation pendant 20 min et enfin essorage.

3) La résine est alors lavée successivement par:

- a) 3 fois 100 cm³ de chlorure de méthylène
- b) 3 fois 100 cm³ de méthanol
- c) 3 fois 100 cm³ de chlorure de méthylène

en agitant pendant 3 min après chaque addition de solvant et en essorant à chaque fois.

4) On neutralise alors le polymère par addition de 100 cm³ d'un mélange chlorure de méthylène/N-méthylmorpholine (9/1 en volumes), agitation pendant 10 min puis essorage.

5) La résine est lavée ensuite par:

3 fois 100 cm³ de chlorure de méthylène en agitant pendant 3 min après chaque addition de solvant et en essorant à chaque fois.

6) On ajoute alors successivement:

- a) 3,78 g de N-t-butylloxycarbonyl-L-alanine en solution dans 50 cm³ de chlorure de méthylène et on agite pendant 10 min;
- b) 4,13 g de dicyclohexylcarbodiimide en solution dans 50 cm³ de chlorure de méthylène, on agite pendant 20 h et essore.

7) On lave la résine successivement par:

- a) 3 fois 100 cm³ de chlorure de méthylène
 - b) 3 fois 100 cm³ d'acide acétique
 - c) 3 fois 100 cm³ de chlorure de méthylène
- en agitant pendant 3 min après chaque addition de solvant et en essorant à chaque fois.

On obtient ainsi le O¹-benzyl N-(t-butylloxycarbonyl L-alanyl)-D-glutamyl/polymère.

L'acide heptadécanoïque est condensé sur le dipeptide/polymère en répétant les opérations 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 7. L'opération N° 6 est modifiée comme suit:

On ajoute successivement:

- a) 5,4 g d'acide heptadécanoïque en solution dans 50 cm³ de chlorure de méthylène et on agite pendant 10 min;
- b) 4,13 g de dicyclohexylcarbodiimide en solution dans 50 cm³ de chlorure de méthylène, on agite pendant 20 h et on essore.

On obtient ainsi le O¹-benzyl-N-(N-heptadécanoïl L-alanyl)-D-glutamyl/polymère.

Ce polymère est mis en suspension dans 100 cm³ d'acide trifluoroacétique contenu dans un réacteur muni d'un agitateur et, à sa base, d'un filtre en verre fritté. Dans cette suspension, on fait passer un courant d'acide bromhydrique pendant 90 min. Ensuite, on essore la résine et on la lave 3 fois par 300 cm³ au total d'acide acétique en agitant pendant 3 min après chaque addition de l'acide acétique et en essorant à chaque fois. Les filtrats sont réunis et concentrés à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C.

Le résidu ainsi obtenu est mis en suspension dans 30 cm³ d'acétate d'éthyle, séparé par filtration, lavé 2 fois par 60 cm³ au total d'éther et séché. On obtient ainsi 1,97 g de solide que l'on chromatographie sur une colonne de 2,2 cm de diamètre contenant 40 g de gel de silice neutre (0,04-0,063 mm).

On élue successivement par:

- 350 cm³ d'un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (1/1 en volumes),

- 400 cm³ d'acétate d'éthyle,
- 700 cm³ d'un mélange acétate d'éthyle/acide acétique (95/5 en volumes),
- 950 cm³ d'un mélange acétate d'éthyle/acide acétique (90/10 en volumes),
- 750 cm³ d'un mélange acétate d'éthyle/acide acétique (80/20 en volumes), et
- 1,6 l d'acide acétique en recueillant des fractions de 50 cm³.

Les fractions 65 à 94 réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à 50°C. On obtient ainsi 0,88 g d'acide N-heptadécanoïl-L-alanyl-D-glutamique.

Rf = 0,61 [Silicagel; n-butanol/pyridine/acide acétique/eau (50/20/6/24 en volumes)]

15 Analyse:

Calculé: C 63,80 H 9,85 N 5,95%

Trouvé: C 60,1 H 9,3 N 5,8 %

Cendres sulfuriques: 5,6%.

20 La présente invention concerne également les compositions pharmaceutiques qui contiennent au moins un composé selon l'invention en association avec un ou plusieurs diluants ou excipients compatibles et pharmaceutiquement acceptables. Ces compositions peuvent être utilisées soit comme adjuvants de vaccins, soit comme stimulants non spécifiques de l'immunité anti-infectieuse et antitumorale.

Utilisés comme adjuvants de vaccins, les produits selon l'invention sont administrés en même temps et par la même voie que l'antigène (viral, bactérien, parasitaire ou d'autre nature) contre lequel on souhaite augmenter chez le sujet immunisé (homme ou animal domestique) les réactions d'immunité cellulaire (hypersensibilité du type retardé) ou la production d'anticorps circulants ou locaux.

Les produits sont administrés à des doses relativement faibles (de l'ordre de 1 mg), mélangés avec l'antigène et par la même voie (intramusculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intranasale, buccale). Si nécessaire, le produit et l'antigène peuvent être émulsifiés dans un excipient huileux approprié ou incorporés dans des liposomes.

En tant qu'immunostimulants non spécifiques, ils sont administrés à des doses comprises entre 0,1 et 50 mg/kg par voie parentérale (intraveineuse, sous-cutanée, intramusculaire), intranasale, buccale, rectale, ou éventuellement intratumorale.

Comme compositions solides pour administration orale peuvent être utilisés des comprimés, des pilules, des poudres ou des granulés.

45 Dans ces compositions le produit actif est mélangé à un ou plusieurs diluants tels que saccharose, lactose ou amidon. Ces compositions peuvent également comprendre des substances autres que les diluants, par exemple un lubrifiant, tel que le stéarate de magnésium.

50 Comme compositions liquides pour administration orale, on peut utiliser des émulsions pharmaceutiquement acceptables, des solutions, des suspensions, des sirops ou des elixirs contenant des diluants inertes, tels que l'eau ou l'huile de paraffine. Ces compositions peuvent comprendre des substances autres que les diluants, par exemple des produits mouillants, édulcorants ou aromatisants.

55 Les compositions pour administration parentérale peuvent être des solutions stériles aqueuses, des suspensions ou des émulsions. Comme véhicule dans ces derniers cas, on peut employer le polyéthyléneglycol, le propyléneglycol, les huiles végétales, en particulier l'huile d'olive, et les esters organiques injectables, par exemple l'oléate d'éthyle. Ces compositions peuvent contenir également des adjuvants, en particulier des agents mouillants, émulsifiants ou dispersants.

La stérilisation peut se faire de plusieurs façons, par exemple à 65 l'aide d'un filtre bactériologique, en incorporant à la composition des agents stérilisants ou par chauffage. Elles peuvent être également préparées sous forme de compositions solides, rendues stériles par exemple par irradiation, qui peuvent être dissoutes dans de l'eau.

stérile ou dispersées dans tout autre milieu stérile injectable, éventuellement au moment de l'emploi.

Les compositions pour administration intranasale peuvent être des solutions stériles aqueuses, des suspensions ou des émulsions qui peuvent être éventuellement associées à un agent propulseur compatible.

Les compositions pour administration rectale sont des suppositoires qui peuvent contenir, outre le produit actif, des excipients, tels que le beurre de cacao ou la suppocire.

Les exemples suivants, donnés à titre non limitatif, illustrent une composition selon l'invention:

Exemple A

On prépare selon la technique habituelle une solution administrable par voie intraveineuse ayant la composition suivante:

5 N-lauroyl L-alanyl- α -D-glutamate de benzyle 0,5 g
soluté injectable 5 cm³

Exemple B

On prépare selon la technique habituelle une solution administrable par voie intraveineuse ayant la composition suivante:

10 acide N-palmitoyl L-alanyl- α -D-glutamique 0,5 g
soluté injectable 5 cm³