

12

**DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

**A1**

22 Date de dépôt : 11.05.93.

30 Priorité :

43 Date de la mise à disposition du public de la demande : 18.11.94 Bulletin 94/46.

56 Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du présent fascicule.*

60 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

71 Demandeur(s) : *RHONE-POULENC RORER (S.A.) — FR.*

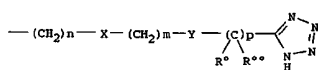
72 Inventeur(s) : *Dereu Norbert, Evers Michel, Poujade Christèle et Soler Françoise.*

73 Titulaire(s) :

74 Mandataire :

54 Nouveaux dérivés du lupane, leur préparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent.

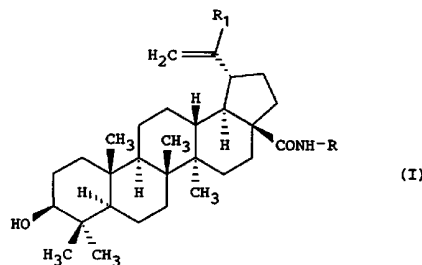
57 Dérivés du lupane de formule générale (I) dans laquelle R est:



dans laquelle X est une liaison, carbamoyle ou aminocarbonyle éventuellement substitués, Y est une liaison ou phénylène, R<sup>o</sup> et R<sup>oo</sup> identiques ou différents sont H ou méthyle et, n est 6 à 12, m est 0 à 3 et p est 0 à 2, avec 6 ≤ m+n+p ≤ 14, et

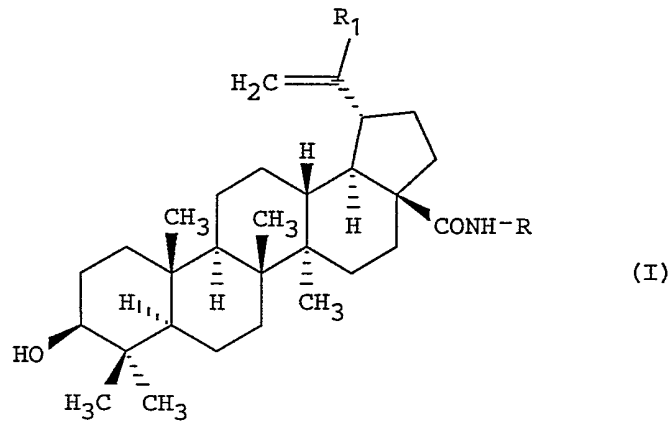
R<sub>1</sub> est méthyle, hydroxyméthyle, -CH<sub>2</sub>OR' ou -CH<sub>2</sub>SR' (R' étant alcoyle ou hydroxyalcoyle), les radicaux alcoyle (1 à 4C) étant droits ou ramifiés, ainsi que leurs sels et leur préparation.

Les produits selon l'invention sont particulièrement intéressants dans le domaine du SIDA.



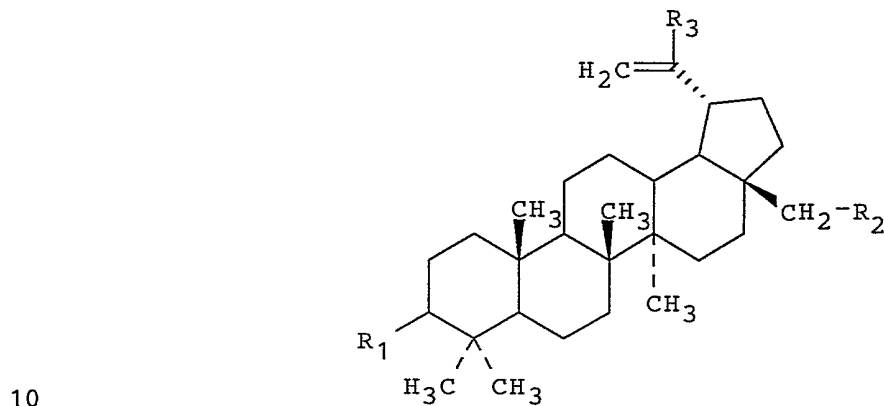
NOUVEAUX DERIVES DU LUPANE, LEUR PREPARATION ET LES COMPOSITIONS  
PHARMACEUTIQUES QUI LES CONTIENNENT

La présente invention concerne des dérivés du lupane, de formule générale :



leurs sels, leur préparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent.

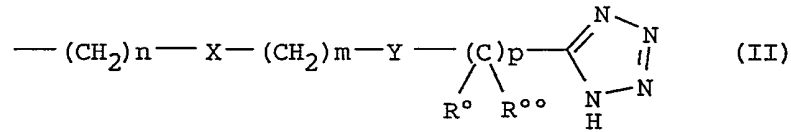
Dans la demande de brevet japonais J 01 143 832 ont été décrits des dérivés de la bétuline de formule générale :



dans laquelle  $R_1$  et  $R_2$  sont hydroxy ou acyloxy et  $R_3$  est notamment méthyle. Ces dérivés sont utiles dans le domaine des anticancéreux.

Il a été maintenant trouvé que les dérivés du lupane de formule générale (I) dans laquelle :

R représente un radical de formule générale :



X est une liaison ou représente un radical carbamoyle, N-méthyl carbamoyle, aminocarbonyle ou N-méthylaminocarbonyle,

5 Y est une liaison ou représente un radical méta ou para phénylène,

R° et R°° identiques ou différents sont des atomes d'hydrogène ou des radicaux méthyle (étant entendu que tous les motifs -CR°R°° ne sont pas nécessairement identiques entre eux) et,

n est un nombre entier de 6 à 12, m est un nombre entier de 0 à 3 et  
10 p est un nombre entier de 0 à 2 étant entendu que m + n + p est compris entre 6 et 14, et

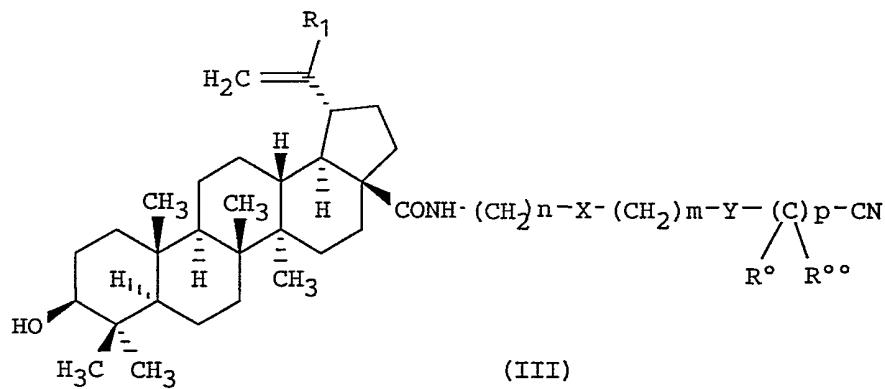
R<sub>1</sub> est un radical méthyle, hydroxyméthyle ou un radical -CH<sub>2</sub>OR' ou -CH<sub>2</sub>SR' pour lequel R' est alcoyle ou hydroxyalcoyle,

ainsi que leurs sels pharmaceutiquement acceptables, manifestent un  
15 effet cytoprotecteur de cellules infectées par un virus HIV (Human Immunodeficiency Virus) ainsi qu'une activité inhibitrice de la production de transcriptase inverse d'un virus HIV.

Dans la formule générale ci-dessus, il est entendu que les radicaux alcoyle sont droits ou ramifiés et contiennent 1 à 4 atomes de carbone.  
20

Dans les cas où R° et R°° sont différents, les produits de formule générale (I) présentent des formes stéréoisomères, il est également entendu que les formes stéréoisomères ainsi que leurs mélanges entrent aussi dans le cadre de la présente invention.

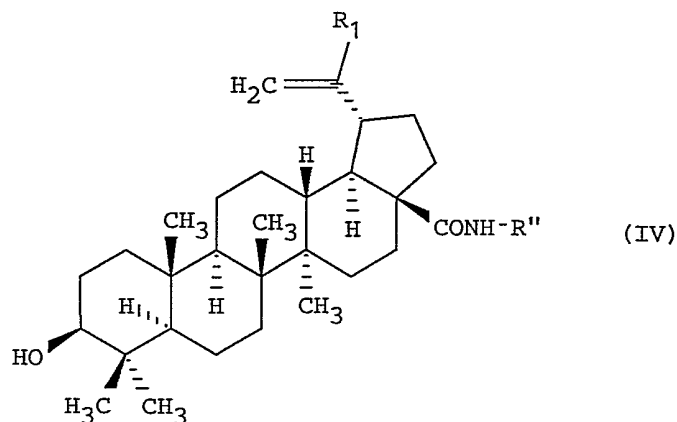
25 Selon l'invention, les dérivés du lupane de formule générale (I) peuvent également être préparés par action d'un azoture sur un nitrile de formule générale :



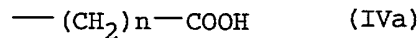
dans laquelle  $R_1$ ,  $R''$ ,  $R''''$ ,  $X$ ,  $Y$ ,  $n$ ,  $m$ , et  $p$  sont définis comme précédemment.

L'azoture est avantageusement choisi parmi l'azoture de tri n.butylétain, l'azoture de triméthylsilyle ou un azoture alcalin. Lorsque l'on utilise l'azoture de tri n.butylétain la réaction s'effectue dans un solvant organique tel que le diméthoxy-1,2 éthane, l'éthoxy-2 éthanol ou un mélange de tels solvants, à la température de reflux du mélange réactionnel. Lorsque l'on fait agir l'azoture de triméthylsilyle, on opère en présence de trichlorure d'aluminium, dans un solvant chloré comme par exemple le dichlorométhane, à une température comprise entre 10 et 40°C.

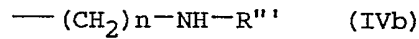
Selon l'invention le dérivé du lupane de formule générale (I) pour lequel  $X$  (dans le radical  $R$ ) représente un radical carboxyle ou aminocarboxyle éventuellement N-méthylé et les autres radicaux sont définis comme précédemment, peut être également obtenu à partir d'un dérivé du lupane de formule générale :



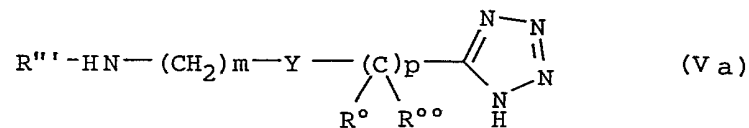
dans laquelle  $R_1$  est défini comme précédemment et  $R''$  représente un radical de formule générale :



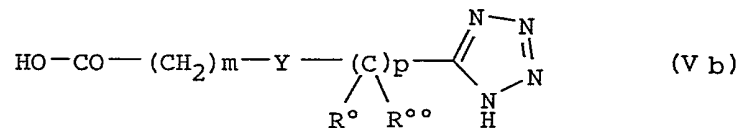
ou



dans lesquelles  $n$  est défini comme précédemment et  $R''$  est un atome d'hydrogène ou un radical méthyle, par action respectivement d'une amine ou d'un acide de formules générales :



ou



dans lesquelles  $R^\circ$ ,  $R^{\circ\circ}$ ,  $m$  et  $p$  sont définis comme précédemment et  $R''$  est défini comme ci-dessus.

10 Il est entendu que les radicaux hydroxy du dérivé du lupane de formule générale (IV) sont de préférence protégés par des radicaux compatibles qui peuvent être mis en place et éliminés sans toucher au reste de la molécule. A titre d'exemple les groupements protecteurs peuvent être choisis parmi les radicaux décrits par T.W. GREENE, 15 Protective Groups in Organic Synthesis, J. WILEY-Interscience Publication (1991) ou par Mc OMIE, Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press (1973). On choisira des radicaux pouvant être éliminés en milieu neutre, basique ou acide.

Notamment, les radicaux hydroxy peuvent être protégés à l'état d'ester 20 (formyloxy, acétoxy, i.butoxy, trichloracétyloxy, phénoxyacétyloxy, benzyloxy); dans ce cas, l'élimination s'effectue par hydrolyse en milieu basique, notamment en présence de soude à une température comprise entre 10 et 50°C. La protection peut également être effectuée à l'état de cétone, sous forme de carbonate par un radical

-COOR<sub>a</sub> dans lequel R<sub>a</sub> est un radical alcoyle ou benzyle éventuellement substitués ou encore par un radical trialcoylsilyle.

La réaction s'effectue selon les méthodes habituelles de condensation d'une amine sur un acide. Notamment, on opère en présence d'un accepteur d'acide tel qu'une base organique azotée (trialcoylamine, pyridine, N-méthyl-morpholine, diaza-1,8 bicyclo[5.4.0]undécène-7, diaza-1,5 bicyclo[4.3.0] nonène-5 par exemple) dans un solvant organique comme un solvant chloré (dichlorométhane, dichloréthane, chloroforme par exemple) ou un amide (diméthylformamide par exemple). Il est également possible d'opérer en présence d'un agent de condensation tel qu'un carbodiimide (dicyclohexylcarbodiimide, chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide par exemple) et éventuellement en présence d'un catalyseur tel que le N-hydroxybenzotriazole ou le N-hydroxysuccinimide, à une température comprise entre -20 et 40°C.

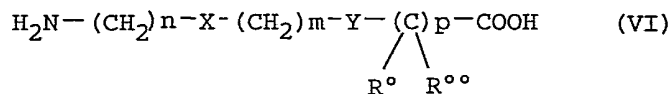
La condensation de l'amine de formule générale (Va) s'effectue de préférence à partir du chlorhydrate de l'amine.

Le nitrile de formule générale (III) peut être préparé par deshydratation de l'amide correspondant, par toute méthode connue qui n'altère pas le reste de la molécule.

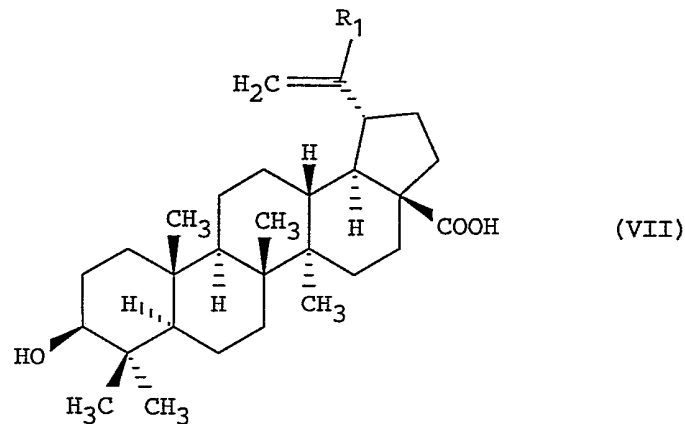
On opère notamment au moyen d'anhydride trifluoracétique dans un éther (tétrahydrofurane par exemple), à une température comprise entre 10 et 66°C.

L'amide correspondant au nitrile de formule générale (III) peut être lui-même obtenu à partir de l'acide selon les méthodes connues et/ou citées ci-après dans les exemples.

L'acide correspondant peut être préparé par action d'un aminoacide de formule générale :



dans laquelle  $R^{\circ}$ ,  $R^{\circ\circ}$ , X, Y, n, m, et p sont définis comme précédemment et dont la fonction acide est préalablement protégée, sur le chlorure de l'acide de formule générale :



- 5 dans laquelle  $R_1$  est défini comme précédemment et dont les radicaux hydroxy sont préalablement protégés, suivie de l'élimination du/des radicaux protecteurs.

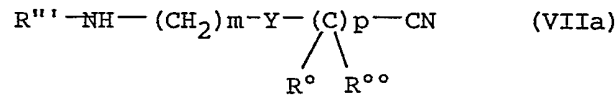
La réaction de l'amine sur le chlorure de l'acide lupèn-20(29)oiïque-28 de formule générale (VII) s'effectue selon les méthodes habituelles qui n'altèrent pas le reste de la molécule. On opère notamment en présence d'une base organique azotée telle qu'une trialkcoylamine (triéthylamine par exemple) dans un solvant organique tel qu'un solvant chloré (chloroforme, dichloro-1,2 éthane, dichlorométhane) ou dans le tétrahydrofurane ou dans un mélange de ces solvants, à une température comprise entre 15 et 30°C.

Il est entendu que le/les radicaux hydroxy sont de préférence préalablement protégés. La protection et la libération des radicaux protecteurs s'effectuent comme décrit précédemment.

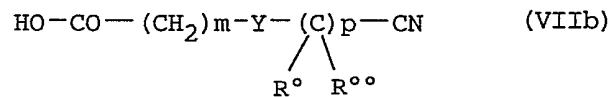
A titre d'exemple, les radicaux protecteurs d'acide peuvent être choisis parmi les radicaux alcoyle (méthyle, éthyle, t.butyle), alcoyle substitué (trichloréthyle, haloéthyle, p.toluènesulfonyléthyle, benzyle, benzyle substitué par un radical nitro, benzhydryle, triphénylméthyle, benzyloxyméthyle...), alcoyloxyalcoyle (méthoxyméthyle), tétrahydropyranyle ou triméthylsilyle. La mise en place et

l'élimination de ces radicaux s'effectue selon les méthodes habituelles citées précédemment.

Lorsque le radical X (dans R) est un radical carbamoyle ou aminocarbonyle éventuellement N-méthylé, le nitrile de formule générale (III) peut aussi être préparé par condensation d'une amine ou  
5 d'un acide de formule générale :



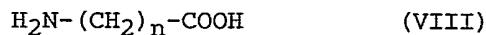
ou



dans lesquelles  $\text{R}^{\text{''''}}$ ,  $\text{R}^\circ$ ,  $\text{R}^{\circ\circ}$ , Y, m, et p sont définis comme précédemment, sur un dérivé du lupane de formule générale (IVa) ou (IVb).

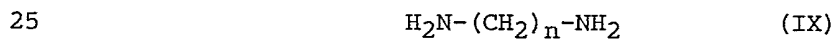
10 La réaction s'effectue dans des conditions identiques à celles de la préparation d'un dérivé du lupane de formule générale (I) à partir d'une amine ou d'un acide de formule générale (Va) ou (Vb) et d'un dérivé du lupane de formule générale (IV).

L'acide dérivé du lupane, de formule générale (IVa) peut être préparé  
15 par analogie avec la réaction de l'acide aminé de formule générale (VI) sur le chlorure de l'acide dérivé du lupane de formule générale (VII), par action d'un aminoacide de formule générale :



dans laquelle n est défini comme précédemment et dont la fonction  
20 acide est préalablement protégée.

L'amine dérivée du lupane, de formule générale (IVb), pour laquelle  $\text{R}^{\text{''''}}$  est un atome d'hydrogène, peut être préparée à partir d'un dérivé du lupane de formule générale (VII), par action d'une diamine de formule générale :





dans laquelle n est défini comme précédemment.

Les dérivés (IVb) pour lesquels R''' est un radical méthyle peuvent être obtenus par N-méthylation selon la méthode décrite par A. KATRITSKY, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 2539 (1987), à partir du  
5 produit de formule générale (IVb) pour lequel R''' est un atome d'hydrogène.

Les produits de formule générale (Va) ou (Vb) peuvent être préparés selon ou par analogie avec les méthodes citées ou décrites ci-après dans les exemples.

10 Les dérivés du lupane de formule générale (IV) ou (VII) pour lesquels R<sub>1</sub> est un radical hydroxyméthyle peuvent être préparés par action de l'acétate d'argent sur le dérivé bromé correspondant pour lequel R<sub>1</sub> est bromométhyle et pour lequel, le radical hydroxy est préalablement  
15 protégé. La réaction s'effectue avantageusement dans un solvant organique comme par exemple le toluène, à une température comprise entre 20°C et la température de reflux du mélange réactionnel. Le dérivé bromé de départ peut être obtenu par action d'un agent de bromation  
20 comme par exemple le tribromure de tétrabutylammonium ou le N-bromosuccinimide sur le dérivé correspondant de l'acide lup-20(29)-èn-28-oïque. La réaction s'effectue dans un solvant chloré comme le chlorure de méthylène, le chloroforme, ou le tétrachlorure de carbone à une température voisine de 25°C.

Les dérivés du lupane de formule générale (VII) pour lesquels R<sub>1</sub> est un radical -CH<sub>2</sub>OR' ou -CH<sub>2</sub>SR' peuvent être préparés à partir du dé-  
25 rivé du lupane pour lequel R<sub>1</sub> est bromométhyle, par action de l'alcoolate ou du thiolate correspondant.

Le chlorure d'acide du dérivé du lupane de formule générale (VII) peut être préparé selon les méthodes connues. A titre d'exemple, on opère par action du chlorure d'oxalyle ou du chlorure de thionyle,  
30 dans un solvant chloré comme le chloroforme, le dichloroéthane ou le dichlorométhane.

Les nouveaux dérivés du lupane de formule générale (I) peuvent être purifiés le cas échéant par des méthodes physiques telles que la cristallisation ou la chromatographie.

Lorsque le dérivé du lupane de formule générale (I) présente des  
5 formes stéréoisomères, la préparation s'effectue au moyen de dérivés  
chiraux de formule générale (Va), (Vb), (VI), (VIIa) ou (VIIb). Il  
est entendu que lorsque l'on veut obtenir un intermédiaire chiral, la  
séparation s'effectue selon les méthodes habituelles qui n'affectent  
10 pas le reste de la molécule, telles que par exemple la chromatogra-  
phie sur phase chirale, ou par conversion du mélange racémique en  
diastéréoisomères et séparation par cristallisation ou chromatogra-  
phie.

Les produits selon l'invention peuvent être transformés en sels mé-  
talliques avec les bases fortes selon les méthodes connues en soi.  
15 Ces sels peuvent être obtenus par action d'une base métallique dans  
un solvant approprié. Le sel formé précipite après concentration  
éventuelle de la solution ; il est séparé par filtration.

Comme exemples de sels pharmaceutiquement acceptables peuvent être  
cités les sels avec les métaux alcalins (sodium, potassium, lithium).

20 Les nouveaux dérivés du lupane selon la présente invention sont  
particulièrement utiles pour la prophylaxie et le traitement du SIDA  
(syndrome d'immunodéficience acquise) et de syndromes associés [ARC  
(AIDS related complex)]. Par prophylaxie nous sous-entendons le  
traitement des sujets qui ont été exposés aux virus HIVs, en particu-  
25 lier les séropositifs asymptomatiques qui présentent le risque de  
développer la maladie dans les mois ou les années à venir après la  
primoinfection.

Les produits selon l'invention, qui sont inhibiteurs de l'effet  
cytopathogène du HIV et inhibiteurs de la production de transcriptase  
30 inverse en culture cellulaire à des concentrations dépourvues d'effet  
cytotoxique ou cytostatique, sont particulièrement intéressants.

Les activités ont été mises en évidence dans les tests suivants :

Activité vis-à-vis de l'effet cytopathogène du virus HIV

Les produits en poudre ont été mis en solution à raison de 2 mg de produit par 2 ml (environ  $4 \times 10^{-3}$  M) dans du diméthylformamide (DMF) pour obtenir une solution stock de produit à 100 % de DMF. Le test

5 est réalisé sur la lignée lymphoblastoïde CEM 4. Dans une microplaque de 96 puits on dépose 25  $\mu$ l/puits d'une solution de produit à tester dans du tampon phosphate isotonique (TPI) ou de TPI seul dans le cas des contrôles. Les produits sont étudiés à 8 concentrations, à raison de 6 puits par concentration. On ajoute alors 125  $\mu$ l d'une suspension

10 de cellules CEM ( $8 \times 10^4$  cellules par ml) dans le milieu RPMI contenant 10 % de sérum de veau foetal, 100 UI/ml de pénicilline, 100  $\mu$ g/ml de streptomycine et 2  $\mu$ moles/ml de glutamine et les microplaques sont incubées une heure à 37°C, sous une atmosphère contenant 5 % de gaz carbonique. Pour chaque concentration, l'essai

15 est partagé en deux parties : une partie (3 puits) sur cellules infectées, pour la détermination de l'activité antivirale et l'autre partie (3 puits) sur cellules non infectées, pour déterminer la cytotoxicité des produits. On infecte alors la première série avec HIV-1 (100  $\mu$ l par puits d'une suspension de virus LAV-1-BRU contenant

20 200-300 TCID50) tandis que l'autre série reçoit 100  $\mu$ l de milieu RPMI tel que défini précédemment. Au bout de 5 jours d'incubation, 100  $\mu$ l de cellules sont prélevés pour mesurer la viabilité cellulaire [déterminée selon une modification de la technique décrite par R. Pauwels et coll., J. Virol. Meth., 20, 309-321 (1988)]. On ajoute à

25 ce prélèvement 10  $\mu$ l d'une solution contenant 7 mg de MTT [bromure de 3-(4,5-diméthyl 2-thiazolyl)-2,5-diphényltétrazolium] par ml de tampon phosphate isotonique. Après 3 heures d'incubation à 37°C le surnageant est enlevé. Le MTT est converti en un sel de formazan (bleu) uniquement à l'intérieur des cellules vivantes. On ajoute

30 alors 100  $\mu$ l d'isopropanol (contenant 0,04 mole/l d'acide chlorhydrique) et les microplaques sont agitées jusqu'à la solubilisation du bleu de formazan. L'absorbance à 540 nm est lue avec un lecteur automatique de réactions ELISA en microplaques. Cette absorbance est proportionnelle à la quantité de cellules vivantes.

Le taux de protection (en %) d'un produit donné est déterminé à partir des densités optiques (DO) par la formule :

$$\frac{DO(\text{cell. traitées et inf.}) - DO(\text{cell. non traitées et inf.})}{DO(\text{cell. traitées et non inf.}) - DO(\text{cell. non traitées et inf.})}$$

5 Le cas échéant la concentration inhibitrice 50 % est déterminée.

Les résultats démontrent que pour des concentrations de produit testé comprises entre 0,01 et 10 µg/ml, on obtient une diminution significative de l'effet cytopathogène.

10 Le taux de protection procuré par les produits selon l'invention est compris entre 20 et 100 %.

La concentration inhibitrice 50 % des produits selon l'invention est comprise entre 0,05 et 50 µg/ml lorsqu'elle peut être déterminée.

Détermination de la multiplication virale par dosage de la transcriptase inverse du virus HIV

15 L'activité de la transcriptase inverse est mesurée dans 10 µl de surnageant de culture. A l'aide du kit de dosage poly r(A) reverse transcriptase [<sup>3</sup>H]-SPA enzyme assay (RPQN 0100, Amersham, GB) selon la procédure préconisée par le fabricant. Le temps de réaction est de 6 heures et la radioactivité comptée à l'aide d'un compteur microbeta  
20 [TOPCOUNT<sup>®</sup> PACKARD].

On observe des inhibitions de la production de transcriptase inverse associée au virus, comprises entre 20 et 100 % aux concentrations testées (0,01 à 10 µg/ml).

25 Les exemples suivants donnés à titre non limitatif illustrent la présente invention.

Exemple 1

A une solution de 0,5 g d'acide N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoïque dans 90 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 125 mg de chlorhydrate de 5-aminométhyl-tétrazole, 141 mg d'hydrate de

1-hydroxybenzotriazole, 380 mg de chlorhydrate de 1-(3-diméthylamino-propyl)-3-éthylcarbodiimide et 0,48 cm<sup>3</sup> de triéthylamine. La solution est agitée pendant 24 heures à 20°C puis le mélange réactionnel est lavé 5 fois avec 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. La phase organique est ensuite séchée sur du sulfate de magnésium et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (600 mg) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée d'abord avec 2 litres d'un mélange de cyclohexane et d'acétate d'éthyle (30-70 en volumes), puis avec 2 litres d'un mélange de méthanol et d'acétate d'éthyle (30-70 en volumes) ; les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris avec 10 cm<sup>3</sup> d'éther éthylique, filtré, lavé 2 fois avec 5 cm<sup>3</sup> d'éther éthylique et séché sous pression réduite (13,5 Pa) à 20°C. On obtient ainsi 290 mg de 5-{N'-[N-(3β-acétoxy-lup-20(29)-èn-28-oyl)-8-amino-octanoyl]-aminométhyl}-tétrazole sous la forme d'une poudre blanche (Rf = 0,26 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

20 Une solution de 1,07 g de 5-{N'-[N-(3β-acétoxy-lup-20(29)-èn-28-oyl)-8-amino-octanoyl]-aminométhyl}-tétrazole obtenu comme décrit ci-dessus, 5,7 cm<sup>3</sup> de soude 5N, 18,4 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 36,9 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 20 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange est refroidi à 5°C, puis acidifié avec de l'acide chlorhydrique 5N, et dilué avec 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Après 1 heure sous agitation à 5°C, le solide obtenu est séparé par filtration, lavé 5 fois avec 25 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à une température voisine de 20°C. On obtient ainsi 880 mg de 5-{N'-[N-(3β-hydroxy-lup-20(29)-èn-28-oyl)-8-amino-octanoyl]-aminométhyl}-tétrazole, sous la forme d'un solide blanc fondant vers 154°C.

L'acide N-(3β-acétoxy-lup-20(29)-èn-28-oyl)-8-amino-octanoïque peut être préparé de la manière suivante :

Après avoir chauffé au reflux pendant 3 heures un mélange de 330 mg d'acide 8-aminooctanoïque et 410 mg de chlorotriméthylsilane dans 50 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, la solution est refroidie vers 20°C et on ajoute 1 g de chlorure de 3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyle (préparé à  
5 partir d'acide 3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oïque) puis 0,81 cm<sup>3</sup> de triéthylamine. L'agitation est maintenue pendant 15 heures à une température voisine de 20°C et le solvant est évaporé à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. Le résidu est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée  
10 avec un mélange de cyclohexane et d'acétate d'éthyle (60-40 en volumes). Les fractions contenant le produit sont rassemblées et concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. On obtient ainsi 1,1 g d'acide N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoïque sous la forme d'un meringue  
15 blanche (Rf = 0,4 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : cyclohexane, acétate d'éthyle (60-40 en volumes)).

Le chlorhydrate de 5-aminométhyl-tétrazole peut être préparé selon la méthode décrite dans la demande de brevet DE 3 626 130.

### Exemple 2

20 A une solution de 640 mg d'acide N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoïque dans 50 cm<sup>3</sup> de chloroforme, on ajoute 134 mg de 5-amino-1H-tétrazole, 168 mg d'hydrate de 1-hydroxybenzotriazole, 50 cm<sup>3</sup> de diméthylformamide, 692 mg de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide, et 0,70 cm<sup>3</sup> de triéthylamine en  
25 solution dans 5 cm<sup>3</sup> de chloroforme. La solution est agitée pendant 2 jours à 20°C puis le mélange réactionnel est lavé 3 fois avec 50 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 1N, puis 5 fois avec 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. La phase organique est séchée sur du sulfate de magnésium et évaporée  
30 à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (730 mg) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec 800 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle puis avec 800 cm<sup>3</sup> d'un mélange de dichlorométhane et de méthanol (95-5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de

40°C. Le résidu est repris dans 15 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle, filtré, séché sous pression réduite (13,5 Pa) à 20°C. On obtient ainsi 265 mg de 5-[N'-[N-(3β-acétoxy-lup-20(29)-èn-28-oyl)-8-amino-octanoyl]-amino]-tétrazole sous la forme d'une poudre beige (Rf = 0,40 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

Une solution de 260 mg de 5-[N'-[N-(3β-acétoxy-lup-20(29)-èn-28-oyl)-8-amino-octanoyl]-amino]-tétrazole, 0,92 cm<sup>3</sup> d'hydroxyde de lithium 1N, 2,5 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 5 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 20 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange est acidifié avec de l'acide chlorhydrique 1N, et dilué avec 80 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. On extrait ensuite le mélange par 100 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle puis 2 fois par 25 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées, lavées 4 fois par 40 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur du sulfate de magnésium et évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 45°C. Le résidu obtenu (170 mg) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 5 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle, filtré, lavé 2 fois par 1 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à 20°C. On obtient ainsi 80 mg de 5-[N'-[N-(3β-hydroxy-lup-20(29)-èn-28-oyl)-8-amino-octanoyl]-amino]-tétrazole, sous la forme d'un solide blanc fondant vers 165-170°C.

### Exemple 3

A une solution de 100 mg d'acide N-(3β,30-diacétoxy-lup-20(29)-èn-28-oyl)-8-amino-octanoïque dans 50 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 22 mg de chlorhydrate de 5-aminométhyl-tétrazole, 25 mg d'hydrate de 1-hydroxybenzotriazole, 70 mg de chlorhydrate de 1-(3-diméthylamino-propyl)-3-éthylcarbodiimide et 0,09 cm<sup>3</sup> de triéthylamine. La solution est agitée pendant 24 heures à 20°C puis le mélange réactionnel est lavé successivement 3 fois avec 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, 2 fois avec

25 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 1N, puis 3 fois avec 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée . La phase organique est ensuite séchée sur du sulfate de magnésium et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (110 mg) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniacque à 20 % (12-3-0,5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 65 mg de 5-[N'-[N-(3β,30-diacétoxylyp-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-aminométhyl]-tétrazole sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,40 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniacque à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

Une solution de 160 mg de 5-[N'-[N-(3β,30-diacétoxylyp-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-aminométhyl]-tétrazole, 1,3 cm<sup>3</sup> de soude 5N, 6 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 3 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 20 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange est refroidi à 5°C, puis acidifié avec de l'acide chlorhydrique 5N, et dilué avec 30 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Après 1 heure sous agitation à 5°C, on ajoute 150 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et le mélange est extrait 5 fois par 50 cm<sup>3</sup> d'un mélange de dichlorométhane et de méthanol (9-1 en volumes). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur du sulfate de magnésium et évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (140 mg) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045mm) éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniacque à 20 % (12-3-0,5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 2 cm<sup>3</sup> d'acétonitrile, filtré et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à 20°C. On obtient ainsi 48 mg de 5-[N'-[N-(3β,30-dihydroxylyp-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-aminométhyl]-tétrazole, sous la forme d'un solide blanc fondant vers 145-150°C.

L'acide N-(3β,30-diacétoxylyp-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoïque est synthétisé par analogie avec l'acide N-(3β-acétoxylyp-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoïque à partir de chlorure de 3β,30-diacétoxylyp-



20(29)-èn-28-oyle et de 8-aminooctanoate de méthyle (R = 95 %; Rf = 0,34 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle (50-50 en volumes)).

Le chlorure de 3 $\beta$ ,30-diacétoxy-lup-20(29)-èn-28-oyle est préparé de la  
5 manière suivante :

A une solution de 560 mg d'acide 3 $\beta$ ,30-diacétoxy-lup-20(29)-èn-28-  
oïque dans 25 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 0,22 cm<sup>3</sup> de chlorure  
d'oxalyle. Après 15 heures d'agitation à une température voisine de  
20°C, le solvant est évaporé sous pression réduite (22 kPa) et à une  
10 température voisine de 40°C. On obtient 600 mg d'une meringue blanche  
qui est utilisée sans autre purification.

L'acide 3 $\beta$ ,30-diacétoxy-lup-20(29)-èn-28-oïque est obtenu de la ma-  
nière suivante :

Une suspension de 1,8 g d'acide 3 $\beta$ -acétoxy-30-bromolup-20(29)-èn-28-  
15 oïque et 800 mg d'acétate d'argent dans 50 cm<sup>3</sup> de toluène est agitée  
48 heures à une température voisine de 20°C puis filtrée. La solution  
obtenue est ensuite concentrée à sec sous pression réduite (2 kPa).  
Le résidu est mis en solution dans 50 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. La  
phase organique est décantée et lavée par 60 cm<sup>3</sup> au total d'eau  
20 distillée, séchée sur du sulfate de magnésium anhydre, puis concen-  
trée sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de  
40°C. Le solide blanc obtenu (1,7 g) est chromatographié sur une co-  
lonne de 1,7 cm de diamètre et contenant 35 g de silice (0,02-  
0,045 mm) éluee avec un mélange de cyclohexane et d'acétate d'éthyle  
25 80-20 (en volumes), en recueillant des fractions de 15 cm<sup>3</sup>. Les 4  
premières fractions obtenues sont éliminées, les 10 suivantes sont  
concentrées à sec sous pression réduite (13,5 Pa) à une température  
voisine de 40°C. On obtient ainsi 1,1 g d'acide 3 $\beta$ ,30-diacétoxy-lup-  
20(29)-èn-28-oïque sous forme d'une meringue blanche suffisamment  
30 pure pour les transformations ultérieures.

L'acide 3 $\beta$ -acétoxy-30-bromolup-20(29)-èn-28-oïque est obtenu de la  
manière suivante :

Une solution de 2,5 g d'acide 3 $\beta$ -acétoxy-lup-20(29)-èn-28-oïque et 2,41 g de tribromure de tétrabutylammonium dans 50 cm<sup>3</sup> de chloroforme est agitée 5 jours à une température voisine de 25°C. Le mélange réactionnel est lavé successivement 2 fois par 25 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, 5 2 fois par 25 cm<sup>3</sup> d'une solution de thiosulfate de sodium 0,1N et par 2 fois 25 cm<sup>3</sup> d'eau distillée puis séché sur du sulfate de magnésium anhydre. La phase organique est concentrée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) et à une température voisine de 40°C. On obtient un solide pâteux jaune (4 g) qui est chromatographié sur une colonne de 10 3,2 cm de diamètre contenant 100 g de silice (0,02-0,045 mm) et éluée avec un mélange de cyclohexane et d'acétate d'éthyle 85-15 (en volumes) en recueillant des fractions de 20 cm<sup>3</sup>. Les 5 premières fractions obtenues sont éliminées, les 10 suivantes sont évaporées sous pression réduite (13,5 Pa) à une température voisine de 40°C. On 15 obtient ainsi 2,7 g d'acide 3 $\beta$ -acétoxy-30-bromolup-20(29)-èn-28-oïque sous forme d'un solide blanc fondant à une température voisine de 190°C.

L'acide 3 $\beta$ -acétoxylup-20(29)-èn-28-oïque peut être préparé selon BRUCKNER, KOVACS et KOCZKA, J. Chem. Soc., 948 (1948).

#### 20 Exemple 4

A une solution de 400 mg d'acide N-[3 $\beta$ -acétoxylup-30-(2'-acétoxyéthylthio)-20(29)-èn-28-oyl]-8-amino-octanoïque, 90 mg de chlorhydrate de 5-aminométhyltétrazole, 100 mg d'hydrate de 1-hydroxybenzotriazole, 250 mg de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthyl- 25 carbodiimide dans 100 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, est ajouté en environ 10 minutes, 0,32 cm<sup>3</sup> de triéthylamine. La solution est agitée pendant 15 heures à une température voisine de 20°C, additionnée de 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée puis acidifiée à pH voisin de 1 par 15 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique N. La phase organique est décan- 30 tée, la phase aqueuse est extraite par 3 fois 50 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont ensuite séchées sur du sulfate de magnésium et évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (400 mg) est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluée avec un

mélange de dichlorométhane et de méthanol (90-10 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrés sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 300 mg de 5-{N'-[N-(3β-acétoxyilup-30-(2'-acétoxyéthylthio)-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]aminométhyl}-tétrazole sous la

5 forme d'une meringue blanche (Rf = 0,40 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

Une solution de 300 mg de 5-{N'-[N-(3β-acétoxyilup-30-(2'-acétoxyéthylthio)-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]aminométhyl}-tétrazole,

10 2,2 cm<sup>3</sup> de soude N, 10 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 20 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 48 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange est acidifié à pH 1 par addition de 4 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 4N puis diluée par 70 cm<sup>3</sup> d'eau distillée.

15 Après 2 heures sous agitation à une température voisine de 20°C, le solide est filtré et lavé 5 fois par 10 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le solide est dissout dans 20 cm<sup>3</sup> d'éthanol. La solution est filtrée et le filtrat est évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (300 mg) est chromatographié sur

20 colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluee avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide obtenu (150 mg) est traité par 5 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle, le solide est

25 filtré, lavé 2 fois avec 1 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle puis séché sur hydroxyde de potassium. On obtient ainsi 100 mg de 5-{N'-[N-(3β-hydroxyilup-30-(2'-hydroxyéthylthio)-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-aminométhyl}-tétrazole sous la forme d'un solide blanc fondant vers 140°C.

30 L'acide N-[3β-acétoxyilup-30-(2'-acétoxyéthylthio)-20(29)-èn-28-oyl]-8-aminooctanoïque peut être obtenu de la manière suivante :

A une solution de 500 mg d'acide N-[3β-acétoxyilup-30-(2'-hydroxyéthylthio)-20(29)-èn-28-oyl]-8-aminooctanoïque et 600 mg d'acétate de sodium dans 35 cm<sup>3</sup> d'anhydride acétique est porté à une température

proche du reflux durant environ 3 heures. Le mélange réactionnel est refroidi à 20°C puis concentré sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est traité par un mélange de 15 cm<sup>3</sup> de pyridine et 15 cm<sup>3</sup> d'eau et agité durant 12 heures à une

5 température voisine de 20°C. Le mélange réactionnel est concentré à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 50°C. Le résidu est traité par 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et 10 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique N. La phase organique est

10 décantée, la phase aqueuse est extraite par 3 fois 40 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont lavées 3 fois avec 20 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur sulfate de magnésium puis évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (500 mg) est recristallisé dans 5 cm<sup>3</sup>

15 d'un mélange éthanol-eau (75-25 en volumes). Le solide obtenu est filtré, puis lavé 2 fois par 1 cm<sup>3</sup> d'un mélange éthanol-eau (75-25 en volumes) et séché sous pression réduite (13,5 Pa) sur pentoxyde de phosphore. On obtient ainsi 400 mg d'acide N-[3β-acétoxyilup-30-(2'-acétoxyéthylthio)-20(29)-èn-28-oyl]-8-aminooctanoïque sous la forme

20 de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes)).

L'acide N-[3β-acétoxyilup-30-(2'-hydroxyéthylthio)-20(29)-èn-28-oyl] - 8-aminooctanoïque peut être obtenu de la manière suivante :

A une solution de 1,3 g d'acide N-[3β-acétoxyilup-30-bromo-20(29)-èn-28-oyl]-8-aminooctanoïque dans 10 cm<sup>3</sup> d'éthanol, on ajoute une solu-

25 tion de 0,60 g de 2-hydroxyéthanethiolate de sodium dans 35 cm<sup>3</sup> d'éthanol. On laisse agiter le mélange réactionnel 48 heures à une température voisine de 20°C. On ajoute goutte à goutte en 10 minutes environ, 5 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique N puis

30 dilue par 350 cm<sup>3</sup> d'eau. Le mélange réactionnel est extrait 3 fois par 50 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont lavée 3 fois par 30 cm<sup>3</sup> d'eau distillée puis séchées sur du sulfate de magnésium et évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. L'huile obtenue (1,1 g) est chromatogra-

35 phié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluee avec un mélange de

dichlorométhane et de méthanol (98-2 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrés sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 500 mg d'acide N-[3β-acétylup-30-(2'-hydroxyéthylthio)-20(29)-èn-28-oyl]-  
 5 8-aminooctanoïque sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,40 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

L'acide N-[3β-acétylup-30-bromo-20(29)-èn-28-oyl]-8-aminooctanoïque peut être obtenu de la manière suivante :

- 10 A un mélange de 640 mg d'acide N-[3β-acétylup-20(29)-èn-28-oyl]-8-aminooctanoïque et de 30 cm<sup>3</sup> de tétrachlorure de carbone, ajouter en une seule fois 350 mg de N-bromosuccinimide. La suspension est agitée 12 heures à une température voisine de 20°C. Le solide est filtré, lavé par 3 fois 10 cm<sup>3</sup> de tétrachlorure de carbone. Le filtrat est  
 15 évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient 800 mg d'acide N-[3β-acétylup-30-bromo-20(29)-èn-28-oyl]-8-aminooctanoïque sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,25 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes)).
- 20 L'acide N-[3β-acétylup-30-bromo-20(29)-èn-28-oyl]-8-aminooctanoïque est préparé comme décrit dans l'exemple 1.

L'hydroxyéthanethiolate de sodium est préparé par action de l'éthylate de sodium sur le 2-hydroxyéthanthiol en solution dans l'éthanol.

Le chlorure de 3β-acétylup-20(29)-èn-28-oyl est préparé d'après J.  
 25 PROVITA et A. VYSTRCIL, Collect. Czech. Chem. Commun. 41, 1200 (1976).

#### Exemple 5

A une solution de 1,9 g d'acide N-[3β-acétylup-20(29)-èn-28-oyl]-  
 8-aminooctanoïque dans 55 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 2,2 cm<sup>3</sup>  
 30 de chlorure de thionyle. La solution est agitée pendant 24 heures à 20°C puis le mélange réactionnel est concentré à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. Le résidu obtenu

est mis en solution dans 25 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane et la solution est à nouveau évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. Le solide obtenu (1,97 g) et 485 mg de 5-(4-aminophényltétrazole) sont mis en solution dans 60 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane et 1,41 cm<sup>3</sup> de triéthylamine sont ajoutés goutte à goutte. La solution obtenue est agitée 24 heures à une température voisine de 20°C. La solution obtenue est concentrée sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. Au solide obtenu est ajouté 50 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane et 25 cm<sup>3</sup> d'une solution d'acide chlorhydrique N. La phase organique est décantée, lavée 2 fois avec 10 cm<sup>3</sup> d'une solution d'acide chlorhydrique N puis 2 fois avec 10 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis concentrée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. On obtient ainsi 2,0 g d'un solide qui est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée, avec un mélange de méthanol et d'acétate d'éthyle (10-90 en volumes), les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu (280 mg) est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de chloroforme, de méthanol et d'ammoniaque (24-6-1 en volumes), les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. On obtient ainsi 310 mg de 5-[4-{N-[N'-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl]-amino}-phényl]-tétrazole sous la forme d'une poudre blanche (Rf = 0,32 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes)).

Une solution de 0,31 g de 5-[4-{N-[N'-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctyl]-amino}-phényl]-tétrazole, 1 cm<sup>3</sup> de soude 4N, 3 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 1,5 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 26 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange est évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C, puis dilué avec 20 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et acidifié avec 1,2 cm<sup>3</sup> d'une solution d'acide chlorhydrique 4N. Après 1 heure d'agitation, à une température voisine de 20°C, le solide est séparé par filtration, lavé 6 fois avec 5 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et séché sous pression réduite

(15,5 Pa) à une température voisine de 30°C. On obtient ainsi 250 mg de 5-[4-{N-[N'-(3β-hydroxylup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-amino}-phényl]-tétrazole, sous la forme d'un solide blanc fondant vers 200°C.

- 5 Le 5-(4-aminophényle)tétrazole peut être préparé d'après J.M. McMANUS et R. HERBST, J. Org. Chem., 24, 1044 (1959).

#### Exemple 6

A une solution de 1,9 g d'acide N-(3β-acétoxyup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoïque dans 55 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 2,2 cm<sup>3</sup> de chlorure de thionyle. La solution est agitée pendant 24 heures à 20°C puis le mélange réactionnel est concentré à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. Le résidu obtenu est mis en solution dans 25 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane et la solution est à nouveau concentrée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. Le solide obtenu (1,97 g) et 485 mg de 5-(3-aminophényltétrazole) sont mis en solution dans 60 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane et 1,41 cm<sup>3</sup> de triéthylamine sont ajoutés goutte à goutte. La solution obtenue est agitée 24 heures à une température voisine de 20°C. La solution obtenue est concentrée sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. Au solide obtenu est ajouté 50 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane et 25 cm<sup>3</sup> d'une solution d'acide chlorhydrique N. La phase organique est décantée, lavée 2 fois avec 10 cm<sup>3</sup> d'une solution d'acide chlorhydrique N puis 2 fois avec 10 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis concentrée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. On obtient ainsi 2,2 g d'un solide qui est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluee, avec un mélange de chloroforme, de méthanol et d'ammoniaque (24-6-1 en volumes), les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. On obtient ainsi 840 mg d'un solide qui est à nouveau chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluee, en premier lieu avec de l'acétate d'éthyle puis avec un mélange de chloroforme, de méthanol et d'ammoniaque (24-6-1 en volumes), les

fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. On obtient ainsi 390 mg de 5-[3-{N-[N'-(3β-acétylup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-amino}-phényl]-tétrazole sous la forme d'une poudre  
5 blanche (Rf = 0,36 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes)).

Une solution de 380 mg de 5-[3-{N-[N'-(3β-acétylup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-amino}-phényl]-tétrazole, 1,2 cm<sup>3</sup> de soude 4N, 4 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 2 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 22 heures à  
10 une température voisine de 20°C. Le mélange est évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C, puis dilué avec 25 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et acidifié avec 1,4 cm<sup>3</sup> d'une solution d'acide chlorhydrique 4N. Après 1 heure d'agitation, à une température voisine de 20°C, le solide est séparé par filtration, lavé 6  
15 fois avec 5 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à une température voisine de 30°C. On obtient ainsi 270 mg de 5-[3-{N-[N'-(3β-hydroxylup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-amino}-phényl]-tétrazole, sous la forme d'un solide blanc fondant vers 170°C.

20 Le 5-(3-aminophényle)tétrazole peut être préparé d'après J.M. McMANUS et R. HERBST, J. Org. Chem., 24, 1044 (1959).

#### Exemple 7

670 mg de N-(3β-acétylup-20(29)-èn-28-oyl)-11-aminoundécane nitrile et 1 g d'azoture de tributylétain sont mis en solution dans 5 cm<sup>3</sup> de  
25 1,2-diméthoxyéthane. Le mélange est chauffé au reflux pendant 48 heures. On rajoute 0,5 g d'azoture de tributylétain et le mélange est à nouveau chauffé au reflux pendant 48 heures. Le mélange réactionnel est dilué par 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée puis extrait avec 100 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. La phase organique est ensuite lavée avec  
30 75 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchée sur du sulfate de magnésium et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (2,2 g) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes). Les fractions



contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 700 mg de 5-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-10-aminodécyl]-tétrazole sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,32 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

Une solution de 290 mg de 5-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-10-aminodécyl]-tétrazole, 0,82 cm<sup>3</sup> de soude 5N, 3 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 6 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 20 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange est acidifié avec de l'acide chlorhydrique 5N, et dilué avec 40 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le mélange est extrait par 50 cm<sup>3</sup>, puis 2 fois 25 cm<sup>3</sup>, d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées, lavées par 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur du sulfate de magnésium et évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (280 mg) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 30 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle, filtré, lavé avec 10 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à 20°C. On obtient ainsi 185 mg de 5-[N-(3β-hydroxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-10-aminodécyl]-tétrazole, sous la forme d'un solide blanc fondant vers 200°C.

L'azoture de tributylétain peut être préparé d'après H.R. KRICHELDORF et E. LEPPERT, Synthesis, 329 (1976).

Le N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-11-aminoundécane nitrile peut être obtenu de la façon suivante :

A une solution de 2,5 g de N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-11-aminoundécaneamide dans 300 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane sec, on ajoute goutte à goutte 1,92 cm<sup>3</sup> d'anhydride trifluoroacétique. La solution est agitée 15 heures à température ambiante puis 1,9 cm<sup>3</sup> supplémentaires d'anhydride trifluoroacétique sont ajoutés et la solution est agitée 48 heures à température ambiante. La solution est neutralisée par

addition d'une solution saturée de bicarbonate de sodium puis concentrée sous pression réduite (2,7 kPa). Le résidu est repris par 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et le mélange est extrait 2 fois avec 150 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées, lavées 3  
5 fois avec 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur du sulfate de magnésium et évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (2,5 g) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec du dichlorométhane. Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées  
10 sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 1,6 g de N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-11-aminoundécane nitrile sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,6 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle (60-40 en volumes)).

15 Le N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-11-aminoundécane amide peut être obtenu de la manière suivante :

A une solution de 2,6 g d'acide N-[3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl]-11-aminoundécane oïque dans 240 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 3,5 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque à 20 %, 580 mg d'hydrate de 1-hydroxybenzotriazole, et 1,45 g de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide. La solution est agitée pendant 2 jours à 20°C puis la phase organique est décantée, lavée successivement avec 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, 3 fois 25 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 1N, 2 fois 40 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, puis séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et évaporée à sec sous pression réduite  
25 (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 2,7 g de N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-11-aminoundécane amide sous la forme d'une meringue couleur crème (Rf = 0,15 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle (30-70  
30 en volumes)).

L'acide N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-11-aminoundécane oïque est synthétisé par analogie avec l'acide N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-amino octane oïque à partir de chlorure de 3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl et de 11-aminoundécane oate de méthyle (R = 38 % ; Rf =

0,57 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : dichlorométhane-méthanol (90-10 en volumes)).

### Exemple 8

1 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanenitrile et  
5 1,6 g d'azoture de tributylétain sont mis en solution dans 25 cm<sup>3</sup> de  
1,2-diméthoxyéthane. Le mélange est chauffé au reflux pendant  
24 heures. On ajoute 35 cm<sup>3</sup> de 2-éthoxyéthanol, distille le 1,2-dimé-  
thoxyéthane et le mélange est à nouveau chauffé au reflux pendant  
48 heures. Le mélange réactionnel est refroidi à température  
10 ambiante, versé dans une solution de 100 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique  
1N. Après 15 minutes d'agitation, le mélange est extrait avec 3 fois  
50 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées,  
lavées avec 7 fois 30 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur du sulfate de  
magnésium et concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une  
15 température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (2,7 g) est  
chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluee avec  
un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniacque à 20 % (12-3-0,5  
en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et  
concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine  
20 de 40°C. Le résidu obtenu est lavé avec 5 fois 75 cm<sup>3</sup> de pentane,  
filtré, séché sous pression réduite (2,7 kPa) à 40°C. On obtient  
ainsi 920 mg de 5-[N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptyl]-  
tétrazole sous la forme d'une poudre blanc crème (Rf = 0,28 ;  
chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-  
25 méthanol-ammoniacque à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

Une solution de 900 mg de 5-[N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-  
aminoheptyl]-tétrazole, 2,7 cm<sup>3</sup> de soude 5N, 10 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofu-  
rane et 20 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 15 heures à une température  
voisine de 20°C. Le mélange est acidifié avec de l'acide chlorhy-  
30 drique 1N, et dilué avec 175 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le mélange est ex-  
trait par 3 fois 100 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. Les phases organiques  
sont rassemblées, lavées par 250 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur du  
sulfate de magnésium et concentrées à sec sous pression réduite  
(2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu

(865 mg) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniacque à 20 % (12-3-0,5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 10 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle, filtré, lavé avec 6 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à 20°C. La poudre obtenue (510 mg) est à nouveau chromatographiée sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de dichlorométhane et de méthanol (95-5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 5 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle, filtré, lavé avec 2 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à 20°C. On obtient ainsi 224 mg de 5-[N-(3β-hydroxylup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptyl]-tétrazole, sous la forme d'un solide blanc fondant vers 150-155°C.

Le N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanenitrile peut être obtenu de la façon suivante :

A une solution de 2,4 g de N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanamide dans 200 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane sec, on ajoute goutte à goutte 1,97 cm<sup>3</sup> d'anhydride trifluoroacétique. La solution est agitée 15 heures à température ambiante puis 5,0 cm<sup>3</sup> supplémentaires d'anhydride trifluoroacétique sont ajoutés et la solution est agitée 48 heures à température ambiante. La solution est neutralisée par addition d'une solution saturée de bicarbonate de sodium, puis diluée par 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le tétrahydrofurane est évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à 40°C. Le mélange est ensuite repris par 200 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. La phase aqueuse est extraite par 50 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont rassemblées, lavées 2 fois avec 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur du sulfate de magnésium, filtrées et évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 2,2 g de N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanenitrile sous la forme d'une meringue blanc crème (Rf = 0,23 ; chromatographie sur

couche mince de silice ; éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle (80-20 en volumes)).

Le N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanamide peut être obtenu de la manière suivante :

- 5 A une solution de 2,4 g d'acide N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoïque dans 240 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 3,8 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque à 20 %, 580 mg d'hydrate de 1-hydroxybenzotriazole, et 1,45 g de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide. La solution est agitée 24 heures à température ambiante puis la  
10 phase organique est décantée, lavée avec 5 fois 250 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 2,4 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooc-  
15 tanamide sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,1 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle (50-50 en volumes)).

#### Exemple 9

- 1,3 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-12-aminododécanenitrile et 1,27 g d'azoture de tributylétain sont mis en solution dans 50 cm<sup>3</sup>  
20 de 2-éthoxyéthanol. Le mélange est chauffé au reflux pendant 48 heures. Le mélange réactionnel est versé dans 300 cm<sup>3</sup> d'eau distillée glacée. Après 5 minutes d'agitation, le mélange est acidifié avec une solution d'acide chlorhydrique 2N puis extrait avec 3 fois 80 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, lavées  
25 jusqu'à neutralité par de l'eau distillée, séchées sur du sulfate de magnésium et évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (1,4 g) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en vo-  
30 lumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 1,2 g de 5-[N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-11-aminoundécyl]-tétrazole sous la forme d'une meringue blanche

(Rf = 0,45 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

Une solution de 1,2 g de 5-[N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-11-aminoundécyl]-tétrazole, 3,3 cm<sup>3</sup> de soude 5N, 12 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 24 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 20 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange est acidifié avec de l'acide chlorhydrique 5N, et dilué par 150 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le mélange est extrait par 3 fois 60 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, lavées jusqu'à neutralité par de l'eau distillée, séchées sur du sulfate de magnésium et évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (1,1 g) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de dichlorométhane, méthanol et ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 15 cm<sup>3</sup> d'éther éthylique, filtré, lavé avec 12 cm<sup>3</sup> d'éther éthylique et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à 20°C. On obtient ainsi 340 mg de 5-[N-(3 $\beta$ -hydroxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-11-aminoundécyl]-tétrazole, sous la forme d'un solide blanc fondant vers 200-205°C.

Le N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-12-aminododécanenitrile peut être obtenu de la façon suivante :

A une solution de 1,5 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-12-aminododécanamide dans 150 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane sec, on ajoute goutte à goutte 1,9 cm<sup>3</sup> d'anhydride trifluoroacétique. La solution est agitée 60 heures à température ambiante, puis diluée par 30 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le tétrahydrofurane est évaporé à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à 40°C. Le mélange est repris par 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, neutralisé par addition d'une solution saturée de bicarbonate de sodium puis extrait par 3 fois 50 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, lavées par 3 fois 40 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur du sulfate de magnésium et évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 1,36 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-12-ami-

nododécanenitrile sous la forme d'une meringue blanche ( $R_f = 0,35$  ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle (80-20 en volumes)).

Le N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-12-aminododécaneamide peut être  
5 obtenu de la façon suivante :

A une solution de 1,5 g d'acide N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-12-aminododécanoïque dans 250 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 2,15 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque à 20 %, 330 mg d'hydrate de 1-hydroxybenzotriazole, et 826 mg de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide. La solution est agitée 15 heures à température  
10 ambiante puis la phase organique est décantée, lavée successivement avec 5 fois 80 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, 3 fois 80 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 1N, 5 fois 80 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, puis séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et concentrée à sec sous pression réduite  
15 (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 1,5 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-12-aminododécaneamide sous la forme d'une meringue couleur crème ( $R_f = 0,47$  ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : dichlorométhane-méthanol (90-10 en volumes)).

20 L'acide N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-12-aminododécanoïque est synthétisé par analogie avec l'acide N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoïque à partir de chlorure de 3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl et de 12-aminododécanoate de méthyle ( $R = 75$  % ;  $R_f = 0,45$  ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant :  
25 dichlorométhane-méthanol (90-10 en volumes)).

#### Exemple 10

490 mg de N'-[N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-3-aminopropanenitrile et 700 mg d'azoture de tributylétain sont mis en solution dans 10 cm<sup>3</sup> de 1,2-diméthoxyéthane. Le mélange est chauffé  
30 au reflux pendant 6 jours. Le mélange réactionnel est refroidi à température ambiante, dilué avec 100 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane et acidifié avec 25 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 2N. Après 5 minutes d'agitation, la phase organique est décantée, lavée par 5 fois 40 cm<sup>3</sup> d'eau

distillée, séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et concentrée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu est lavé par 5 fois 10 cm<sup>3</sup> de pentane, chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un  
5 mélange d'acétate d'éthyle et de méthanol (80-20 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 435 mg de 5-[N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooc-  
tanoyl]aminoéthyl]-tétrazole sous la forme d'une meringue blanche.  
10 (Rf = 0,39 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

Une solution de 600 mg de 5-[N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooc-  
tanoyl]aminoéthyl]-tétrazole, 1,6 cm<sup>3</sup> de soude 5N, 10 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 20 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 15 heures à une  
15 température voisine de 20°C. Le mélange est acidifié avec de l'acide chlorhydrique 1N, et dilué avec 120 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le mélange est agité 1 heure à 20°C, filtré, lavé jusqu'à neutralité par de l'eau distillé, puis par 5 fois 5 cm<sup>3</sup> de pentane, et séché sous pres-  
sion réduite (15,5 Pa) à 20°C. La poudre obtenue (553 mg) est chroma-  
20 tographiée sur une colonne de silice (0,02-0,045mm) éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concen-  
trées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 15 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle, filtré,  
25 et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à 20°C. On obtient ainsi 430 mg de 5-[N'-[N-(3β-hydroxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooc-  
tanoyl]aminoéthyl]-tétrazole, sous la forme d'un solide blanc fondant vers 155-160°C.

Le N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooc-  
30 tanoyl]-3-aminopropanenitrile peut être obtenu de la façon suivante :

A une solution de 960 mg de N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-  
aminooctanoyl]-3-aminopropanamide dans 70 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane  
sec, on ajoute goutte à goutte 0,94 cm<sup>3</sup> d'anhydride trifluoroacé-  
tique. La solution est agitée 15 heures à température ambiante, puis



le tétrahydrofurane est évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à 40°C. Le mélange est ensuite repris par 70 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. La phase organique est décantée, lavée par 3 fois 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchée sur du sulfate de magnésium et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (887 mg) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange d'acétate d'éthyle et de cyclohexane (70-30 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 692 mg de N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl]-3-amino propanenitrile sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,27 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle (30-70 en volumes)).

15 Le N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl]-3-aminopropanamide peut être obtenu de la manière suivante :

A une solution de 967 mg d'acide N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl]-3-aminopropanoïque dans 150 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 1 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque à 20 %, 208 mg d'hydrate de 20 1-hydroxybenzotriazole, et 521 mg de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide. La solution est agitée 50 heures à température ambiante puis la phase organique est décantée, lavée avec 60 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 1N, 5 fois 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et 25 évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 960 mg de N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl]-3-aminopropanamide sous la forme d'une meringue blanc crème (Rf = 0,68 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % 30 (12-3-0,5 en volumes)).

L'acide N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl]-3-aminopropanoïque peut être obtenu de la manière suivante :

A une solution anhydre de 2,3 g de iodure de lithium et de 100 cm<sup>3</sup> de collidine, on ajoute 1,3 g de N'-[(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-

aminooctanoyl]-3-aminopropionate de méthyle. La solution est chauffée au reflux pendant 3 heures, puis concentrée sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 150 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et 150 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle, puis refroidi  
5 à 0°C. La phase organique est extraite, lavée par 3 fois 50 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 1N, puis par de l'eau distillée jusqu'à neutralité, séchée sur du sulfate de magnésium et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 20 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle et le mélange est concentré  
10 sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 1,07 g d'acide N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-3-aminopropanoïque sous la forme d'une meringue beige (Rf = 0,22 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (12-3-0,5)).

15 Le N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-3-amino propionate de méthyle peut être préparé de la manière suivante :

A une solution de 2 g d'acide N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoïque dans 260 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 524 mg de chlorhydrate d'acide 3-aminopropionique de méthyle, 480 mg d'hydrate de  
20 1-hydroxybenzotriazole, 1,2 g de chlorhydrate de 1-(3-diméthylamino-propyl)-3-éthylcarbodiimide, et 1,1 g de triéthylamine en solution dans 15 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. La solution est agitée 50 heures à température ambiante puis la phase organique est décantée, lavée avec  
25 6 fois 150 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (2,4 g) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange d'acétate d'éthyle et de cyclohexane (50-50 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression  
30 réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 2 g de N'-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-3-amino propionate de méthyle sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,62 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : acétate d'éthyle)

Exemple 11

720 mg de [N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-méthyl-aminol]-acétonitrile et 1,1 g d'azoture de tributylétain sont mis en solution dans 15 cm<sup>3</sup> de 1,2-diméthoxyéthane. Le mélange est chauffé  
5 au reflux pendant 3 jours. Le mélange réactionnel est dilué avec 40 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et 15 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 2N, puis extrait avec 3 fois 80 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. La phase organique est séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu  
10 (1,8 g) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniacque à 20 % (12-3-0,5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est lavé 5 fois avec 20 cm<sup>3</sup> de  
15 pentane, puis séché sous pression réduite (15,5 Pa) à 20°C. On obtient ainsi 820 mg de 5-[N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-méthyl-aminométhyl]-tétrazole sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,33 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniacque à 20 % (12-3-0,5 en  
20 volumes)).

A une solution de 800 mg de 5-[N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-méthyl-aminométhyl]-tétrazole, 2,7 cm<sup>3</sup> de soude 5N, 10 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 20 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 48 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange est acidifié avec de  
25 l'acide chlorhydrique 1N, et dilué avec 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le mélange est agité 1 heure à 20°C, filtré, lavé jusqu'à neutralité par de l'eau distillé, puis par 5 fois 5 cm<sup>3</sup> de pentane, et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à 20°C. Le produit obtenu (740 mg) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec  
30 un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniacque à 20% (12-3-0,5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 15 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle, filtré, et séché sous pression réduite (15,5 Pa) à 20°C. On obtient  
35 ainsi 360 mg de 5-[N-(3 $\beta$ -hydroxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-

aminoctanoyl-méthyl-aminométhyl]-tétrazole, sous la forme d'un solide blanc fondant vers 151°C.

Le [N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-méthyl-amino]-acétonitrile peut être obtenu de la façon suivante :

5 A une solution de 1,2 g de [N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-méthyl-amino]-acétamide dans 70 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane sec, on ajoute goutte à goutte 1 cm<sup>3</sup> d'anhydride trifluoroacétique. La solution est agitée 15 heures à température ambiante, puis neutralisée par une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le  
10 tétrahydrofurane est évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à 40°C. Le mélange est ensuite repris par 200 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et extrait par 3 fois 80 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, lavées par 3 fois 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchée sur du sulfate de magnésium et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à  
15 une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (1,0 g) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange d'acétate d'éthyle et de cyclohexane (30-70 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient  
20 ainsi 720 mg de [N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-méthyl-amino]-acétonitrile sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,32 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle (50-50 en volumes)).

25 Le [N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-méthyl-amino]-acétamide peut être obtenu de la manière suivante :

A une solution de 700 mg d'acide [N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-méthyl-amino]-acétique dans 100 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 0,72 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque à 20 %, 150 mg d'hydrate de 1-hydroxybenzotriazole, et 380 mg de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide. La solution est agitée  
30 15 heures à température ambiante puis la phase organique est décantée, lavée avec 30 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 1N puis avec 5 fois 40 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchée sur du sulfate de magnésium, filtrée et concentrée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température

- voisine de 40°C. Le résidu obtenu (630 mg) est chromatographié sur une colonne de silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de dichlorométhane et de méthanol (97-3 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 500 mg de [N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-méthyl-amino]-acétamide sous la forme d'une meringue blanc crème (Rf = 0,32 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : dichlorométhane-méthanol (95-5 en volumes)).
- 10 L'acide [N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-méthyl-amino]-acétique peut être obtenu de la manière suivante :
- Une solution de 167 mg de sarcosine, 406 mg de chlorotriméthylsilane et 75 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane est chauffée au reflux pendant 15 heures. Cette solution est ensuite ajoutée à une solution contenant 1 g d'acide N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoïque, 239 mg d'hydrate de 1-hydroxybenzotriazole, 600 mg de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide, et 75 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. On ajoute ensuite 1,5 cm<sup>3</sup> de triéthylamine en solution dans 10 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. La solution est agitée 20 50 heures à température ambiante puis le mélange réactionnel est lavé par 70 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique 2N, puis par 3 fois 80 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séché sur du sulfate de magnésium, filtré et concentré à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (2,4 g) est chromatographié sur une colonne de 25 silice (0,02-0,045 mm) éluée avec un mélange de dichlorométhane, méthanol et ammoniac à 20 % (12-3-0,5 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 712 mg d'acide [N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminoctanoyl-30 méthyl-amino]-acétique sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,32 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniac à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

### Exemple 12

A une solution de 1,4 g de N-(3 $\beta$ -acétyloxylup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctylcarbamoyleacétonitrile dans 20 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 0,8 cm<sup>3</sup> d'azoture de triméthylsilyle et 270 mg de trichlorure d'aluminium. Le mélange réactionnel est agité pendant 72 heures à 20°C

5 puis versé goutte à goutte en 30 minutes sur 50 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse à 10 % d'hydrogénocarbonate de sodium. La phase organique est décantée, la phase aqueuse est extraite par 2 fois 50 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont lavées 3 fois avec 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur sulfate de magnésium puis

10 évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 30°C. Le résidu obtenu (1,9 g) est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniac à 20 % (24-6-1 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression

15 réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 1 g de 5-[N-(3 $\beta$ -acétyloxylup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctylcarbamoyleméthyl]-tétrazole sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,25 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniac à 20 % (24-6-1 en volumes)).

20 Une solution de 1 g de 5-[N-(3 $\beta$ -acétyloxylup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctylcarbamoyleméthyl]-tétrazole, 5,4 cm<sup>3</sup> de soude N, 20 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 40 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 72 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange est versé dans 10 cm<sup>3</sup> d'une solution d'acide chlorhydrique N puis dilué avec 250 cm<sup>3</sup> d'eau dis-

25 tillée. Après 1 heure sous agitation à une température voisine de 20°C, le solide est filtré et lavé 4 fois par 10 cm<sup>3</sup> d'eau distillée puis dissout dans 30 cm<sup>3</sup> d'éthanol. La solution est filtrée, le filtrat est évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 50°C. Le résidu obtenu (140 mg) est repris par 15 cm<sup>3</sup>

30 d'oxyde d'isopropyle. Le solide obtenu est filtré, lavé par 2 fois 5 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle puis séché sous vide (13,5 Pa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 700 mg de 5-[N-(3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctylcarbamoyleméthyl]-tétrazole sous la forme d'un solide blanc fondant vers 175°C.

Le N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctylcarbamoyleacétonitrile peut être obtenu de la manière suivante :

A une solution de 3,6 g de N-[3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl]-1,8-diaminoctane, 500 mg d'acide cyanoacétique, 1,06 g d'hydrate de  
5 1-hydroxybenzotriazole, 2,76 g de chlorhydrate de 1-(3-diméthylamino-propyl)-3-éthylcarbodiimide dans 75 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, est ajouté en environ 10 minutes, 3,6 cm<sup>3</sup> de triéthylamine. La solution est agitée pendant 15 heures à une température voisine de 20°C puis le mélange réactionnel est lavé 3 fois avec 40 cm<sup>3</sup> d'eau distillée.  
10 La phase organique est ensuite séchée sur du sulfate de magnésium et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (4,8 g) est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluée avec un mélange de dichlorométhane et de méthanol (99-1 en volumes). Les fractions contenant le  
15 produit sont réunies et concentrés sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 3,7 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctylcarbamoyleacétonitrile sous la forme d'une meringue jaune (Rf = 0,40 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 %  
20 (12-3-0,5 en volumes)).

Le N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-1,8-diaminoctane peut être obtenu de la manière suivante :

50 cm<sup>3</sup> d'une solution dans le dichlorométhane de chlorure de 3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl (préparée à partir de 5 g d'acide 3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl) sont ajoutés goutte à goutte en environ 3  
25 heures à une solution de 8,6 g de 1,8-diaminoctane dans 20 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Le mélange réactionnel est agité durant 2 heures à une température voisine de 20°C puis concentré à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu  
30 est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 5,9 g de N-[3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl]-

1,8-diaminooctane sous la forme d'une meringue jaune ( $R_f = 0,25$  ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes)).

### Exemple 13

5 A une solution de 2,1 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoyleacétonitrile dans 25 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 1,07 cm<sup>3</sup> d'azoture de triméthylsilyle et 410 mg de trichlorure d'aluminium. Le mélange réactionnel est agité pendant 72 heures à 20°C

10 aqueuse à 10 % d'hydrogénocarbonate de sodium. La phase organique est décantée, la phase aqueuse est extraite par 2 fois 60 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont lavées 3 fois avec 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température

15 voisine de 40°C. Le résidu obtenu (2,5 g) est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluee avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi

20 1,4 g de 5-[N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoyleméthyl]-tétrazole sous la forme d'une meringue blanche ( $R_f = 0,25$  ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant: chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes)).

Une solution de 1 g de 5-[N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoyleméthyl]-tétrazole, 8 cm<sup>3</sup> de soude N, 25 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 50 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 48 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange réactionnel est évaporé partiellement sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine

25 de 40°C jusqu'à l'apparition d'un trouble. Le mélange est alors acidifié à un pH compris entre 1 et 2 par addition d'une solution

30 aqueuse d'acide chlorhydrique N. Après 2 heures sous agitation à une température voisine de 20°C, le solide est filtré et lavé 5 fois par 5 cm<sup>3</sup> d'eau distillée puis dissout dans 50 cm<sup>3</sup> d'éthanol. La solution est filtrée, le filtrat est évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à



une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu est repris par 20 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle. Le solide obtenu est filtré, lavé par 2 fois 5 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle puis séché sous pression réduite (13,5 Pa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniacque à 20 % (24-6-1 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide obtenu est mis en solution dans 20 cm<sup>3</sup> de chloroforme, la solution est filtrée, le filtrat est évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu est repris par 20 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle. Le solide obtenu est filtré, lavé par 2 fois 5 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle puis séché sous vide (13,5 Pa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 900 mg de 5-[N-(3β-hydroxylup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoylméthyl]-tétrazole sous la forme d'un solide blanc fondant vers 160°C.

Le N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoyl-acétonitrile peut être obtenu de la manière suivante :

A une solution de 2,45 g de N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-1,7-diaminoheptane, 340 mg d'acide cyanoacétique, 730 g d'hydrate de 1-hydroxybenzotriazole, 1,9 g de chlorhydrate de 1-(3-diméthylamino-propyl)-3-éthylcarbodiimide dans 120 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, est ajouté en environ 10 minutes, 2,5 cm<sup>3</sup> de triéthylamine. La solution est agitée pendant 15 heures à une température voisine de 20°C puis le mélange réactionnel est lavé 3 fois avec 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. La phase organique est ensuite séchée sur du sulfate de magnésium et évaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (2,7 g) est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluée avec un mélange de dichlorométhane et de méthanol (99-1 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrés sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 3,7 g de N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoylacétonitrile sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,40 ; chromatographie sur

couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

Le N-[3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl]-1,7-diaminoheptane peut être obtenu de la manière suivante :

5 1000 cm<sup>3</sup> d'une solution dans le dichlorométhane de chlorure de 3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl (préparée à partir de 30 g d'acide 3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl) sont ajoutés goutte à goutte, en environ 10 heures, à une solution de 46,8 g de 1,7-diaminoheptane dans 120 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Le mélange réactionnel est agité durant  
10 15 heures à une température voisine de 20°C puis concentré à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est repris par 2000 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le solide est filtré, lavé par 3 fois 200 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, puis mis en solution dans 500 cm<sup>3</sup> d'éthanol. La solution est filtrée, le solide est lavé 2 fois  
15 avec 50 cm<sup>3</sup> d'éthanol et les filtrats sont évaporés à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 50°C. Le résidu obtenu est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluee avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies  
20 et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 28 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-1,7-diaminoheptane sous la forme d'une meringue jaune (Rf = 0,25 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes)).

#### 25 Exemple 14

A une solution de 2,3 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoylpropionitrile dans 25 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, on ajoute 1,30 cm<sup>3</sup> d'azoture de triméthylsilyle et 450 mg de trichlorure d'aluminium. Le mélange réactionnel est agité pendant 48 heures à  
30 20°C puis 32 heures à une température proche du reflux. On ajoute à nouveau 1,30 cm<sup>3</sup> d'azoture de triméthylsilyle et 450 mg de trichlorure d'aluminium et on chauffe 24 heures à une température voisine du reflux. Le mélange réactionnel est refroidi à 20°C puis versé goutte à goutte en 30 minutes sur 40 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse à 10 % d'hy-

drogénocarbonate de sodium. La phase organique est décantée, la phase aqueuse est extraite par 3 fois 50 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont lavées 3 fois avec 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur sulfate de magnésium puis évaporées à sec sous pression  
5 réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (2,5 g) est traité par 25 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle, puis lavé 3 fois par 5 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle. Le solide obtenu (1,8 g) est mis en solution dans 25 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. La solution est filtrée sur celite. Le filtrat est concentré à sec sous pression réduite  
10 (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide est traité par 20 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle puis séché sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 1,5 g de 5-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoyléthyl]-tétrazole sous la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,25 ;  
15 chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes)).

Une solution de 1 g de 5-[N-(3β-acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoyléthyl]-tétrazole, 20 cm<sup>3</sup> de soude N, 25 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane et 50 cm<sup>3</sup> de méthanol est agitée 72 heures à une  
20 température voisine de 20°C. Le mélange dilué par 250 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et acidifié à pH 1 par addition d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique N. Après 1 heure sous agitation à une température voisine de 20°C, le solide est filtré et lavé 5 fois par 10 cm<sup>3</sup> d'eau distillée puis traité par 5 fois 40 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. Les  
25 phases organiques réunies sont évaporées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu obtenu (700 mg) est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluee avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniaque à 20 % (24-6-1 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies  
30 et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide obtenu (600 mg) est traité par 15 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle, le solide est filtré, lavé 2 fois avec 5 cm<sup>3</sup> d'oxyde d'isopropyle puis séché sur hydroxyde de potassium. On obtient ainsi 140 mg de 5-[N-(3β-hydroxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-  
35 aminoheptylcarbamoylméthyl]-tétrazole sous la forme d'un solide blanc fondant vers 110°C.

Le N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoylepropionitrile peut être obtenu de la manière suivante :

A une solution de 2,45 g de N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-1,7-diaminoheptane, 400 mg d'acide 2-cyanopropionique, 730 g d'hydrate de  
5 1-hydroxybenzotriazole, 1,9 g de chlorhydrate de 1-(3-diméthylamino-  
propyl)-3-éthylcarbodiimide dans 120 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane, est  
ajouté en environ 10 minutes, 2,5 cm<sup>3</sup> de triéthylamine. La solution  
est agitée pendant 15 heures à une température voisine de 20°C. Le  
mélange réactionnel est lavé 3 fois avec 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. La  
10 phase organique est ensuite séchée sur du sulfate de magnésium et  
éaporée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voi-  
sine de 40°C. Le résidu obtenu (3,5 g) est chromatographié sur co-  
lonne de silice (0,02-0,045 mm), éluée avec un mélange de dichloromé-  
thane et de méthanol (99-1 en volumes). Les fractions contenant le  
15 produit sont réunies et concentrés sous pression réduite (2,7 kPa) à  
une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 2,3 g de N-(3 $\beta$ -  
acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-7-aminoheptylcarbamoylepropionitrile sous  
la forme d'une meringue blanche (Rf = 0,40 ; chromatographie sur  
couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniaque à  
20 20 % (12-3-0,5 en volumes)).

Le N-(3 $\beta$ -acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl)-1,7-diaminoheptane peut être  
obtenu de la manière suivante :

1000 cm<sup>3</sup> d'une solution dans le dichlorométhane de chlorure de 3 $\beta$ -  
acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl (préparée à partir de 30 g d'acide 3 $\beta$ -  
25 acétoxyilup-20(29)-èn-28-oyl) sont ajoutés goutte à goutte en envi-  
ron 10 heures à une solution de 46,8 g de 1,7-diaminoheptane dans  
120 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Le mélange réactionnel est agité durant  
15 heures à une température voisine de 20°C puis concentré à sec sous  
pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le ré-  
30 sidu est repris par 2000 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le solide est filtré,  
lavé par 3 fois 200 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, puis mis en solution dans  
500 cm<sup>3</sup> d'éthanol. La solution est filtrée, le solide est lavé 2 fois  
avec 50 cm<sup>3</sup> d'éthanol et les filtrats sont évaporés à sec sous pres-  
sion réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 50°C. Le résidu

obtenu est chromatographié sur colonne de silice (0,02-0,045 mm), éluée avec un mélange de chloroforme, méthanol et ammoniacque à 20 % (24-6-1 en volumes). Les fractions contenant le produit sont réunies et concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. On obtient ainsi 28 g de N-(3 $\beta$ -acétyloxylup-20(29)-èn-28-oyl)-1,7-diaminoheptane sous la forme d'une meringue jaune (Rf = 0,25 ; chromatographie sur couche mince de silice ; éluant : chloroforme-méthanol-ammoniacque à 20 % (24-6-1 en volumes)).

La présente invention concerne également les compositions pharmaceutiques contenant au moins un produit de formule générale (I) éventuellement sous forme de sel, à l'état pur ou sous forme d'une association avec un ou plusieurs diluants ou adjuvants compatibles et pharmaceutiquement acceptables, ou avec un autre agent destiné au traitement du SIDA, un agent antiviral, immunomodulateur ou antimicrobien.

La composition selon l'invention est capable de maintenir en vie les cellules infectées par un virus HIV et donc de réduire la progression vers le SIDA ou de diminuer sa gravité chez les sujets déjà infectés en réduisant la mortalité des cellules infectées. Les compositions peuvent être utilisées par voie orale, parentérale ou rectale.

Les compositions peuvent être utilisées à titre curatif ou à titre préventif chez des sujets présentant une immunodéficiência et/ou infectés par un virus HIV. Bien entendu, la constitution de ces compositions sera adaptée au cas particulier du tractus digestif des immunodéprimés.

Comme compositions solides pour administration orale peuvent être utilisés des comprimés, des pilules, des gélules, des poudres ou des granulés. Dans ces compositions, le produit actif selon l'invention est mélangé à un ou plusieurs diluants ou adjuvants inertes, tels que saccharose, lactose ou amidon.

Ces compositions peuvent comprendre des substances autres que les diluants, par exemple un lubrifiant tel que le stéarate de magnésium ou un enrobage destiné à une libération contrôlée.

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

Les compositions pour administration parentérale, peuvent être des solutions stériles ou des émulsions. Comme solvant ou véhicule, on  
10 peut employer le propylèneglycol, un polyéthylèneglycol, des huiles végétales, en particulier l'huile d'olive, des esters organiques injectables, par exemple l'oléate d'éthyle.

Ces compositions peuvent également contenir des adjuvants, en particulier des agents mouillants, isotonisants, émulsifiants,  
15 dispersants et stabilisants.

La stérilisation peut se faire de plusieurs façons, par exemple à l'aide d'un filtre bactériologique, par irradiation ou par chauffage. Elles peuvent également être préparées sous forme de compositions solides stériles qui peuvent être dissoutes au moment de l'emploi  
20 dans de l'eau stérile ou tout autre milieu stérile injectable.

Les compositions par administration rectale sont les suppositoires ou les capsules rectales, qui contiennent outre le principe actif, des excipients tels que le beurre de cacao, des glycérides semi-synthétiques ou des polyéthylèneglycols.

25 En thérapeutique humaine, le médecin déterminera la posologie qu'il estime la plus appropriée en fonction d'un traitement préventif ou curatif, en fonction de l'âge, du poids, du degré de l'infection et des autres facteurs propres au sujet à traiter. Généralement, les doses sont comprises entre 10 et 100 mg/kg par voie orale pour un  
30 adulte.

La présente invention concerne également les associations constituées d'un ou plusieurs dérivés du lupane de formule générale (I), et/ou le

cas échéant leurs sels, et d'un autre principe actif connu pour son activité anti-rétrovirus, éventuellement en présence d'excipients pharmaceutiquement acceptables.

Les agents anti-rétrovirus pouvant être associés sont choisis parmi  
5 des agents compatibles et inertes vis-à-vis du dérivé du lupane de  
formule générale (I). A titre non limitatif ces agents sont choisis  
parmi des inhibiteurs de la reverse transcriptase [zidovudine (AZT),  
didanosine (DDI), didéoxycytidine (DDC), TIBO, névirapine, PMEA, D4T,  
pyridones,  $\alpha$ -APA, HEPT... ], parmi des inhibiteurs de la protéase  
10 [comme par exemple le RO 31-8959 ou le A 77003], ou parmi des inhibi-  
teurs de la protéine tat [comme par exemple le RO 24-7429].

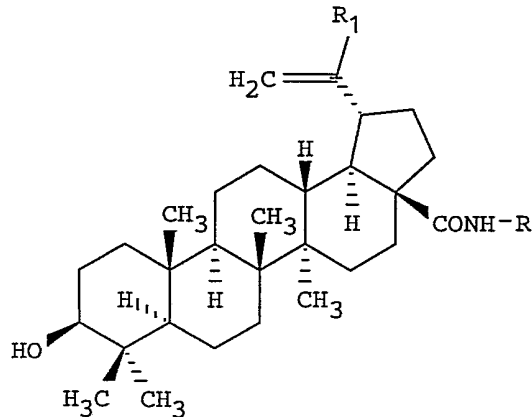
L'exemple suivant illustre une composition selon l'invention.

#### Exemple

On prépare des ampoules contenant une solution dosée à 10 mg de 5-  
15 [N'-[N-(3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-èn-28-oyl)-8-aminooctanoyl]-aminomé-  
thyl]-tétrazole en ajoutant 2 % de glycine et 0,1 % de cystéine à  
500 cm<sup>3</sup> d'une solution à 0,2 % de 5-[N'-[N-(3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-èn-  
28-oyl)-8-aminooctanoyl]-aminométhyl]-tétrazole dans du tampon  
phosphate isotonique. La solution est divisée et répartie aseptique-  
20 ment dans des ampoules. Chaque ampoule contient 10 mg de produit  
actif.

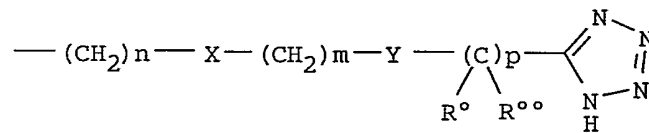
REVENDICATIONS

1 - Un dérivé du lupane de formule générale :



dans laquelle :

5 R représente un radical de formule générale :



X est une liaison ou représente un radical carboyle, N-méthyl carboyle, aminocarboyle ou N-méthylaminocarboyle,

Y est une liaison ou représente un radical méta ou para phénylène,

10  $\text{R}^\circ$  et  $\text{R}^{\circ\circ}$  identiques ou différents sont des atomes d'hydrogène ou des radicaux méthyle (étant entendu que tous les motifs  $-\text{CR}^\circ\text{R}^{\circ\circ}$  ne sont pas nécessairement identiques entre eux) et,

n est un nombre entier de 6 à 12, m est un nombre entier de 0 à 3 et

p est un nombre entier de 0 à 2 étant entendu que m + n + p est compris

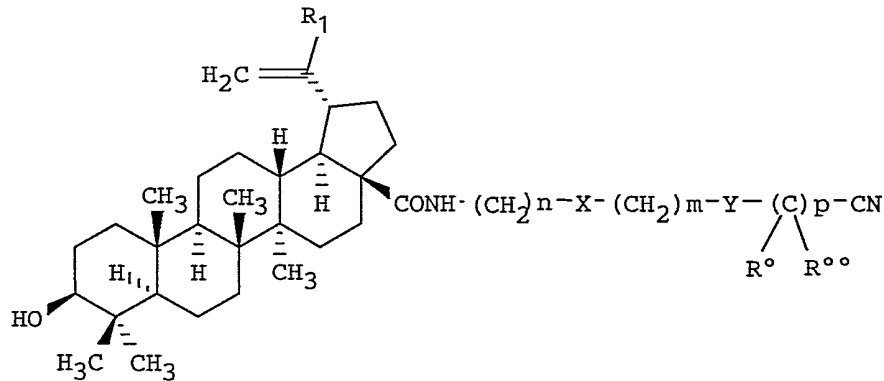
15 entre 6 et 14, et

$\text{R}_1$  est un radical méthyle, hydroxyméthyle ou un radical  $-\text{CH}_2\text{OR}'$  ou  $-\text{CH}_2\text{SR}'$  pour lequel  $\text{R}'$  est alcoyle ou hydroxyalcoyle,



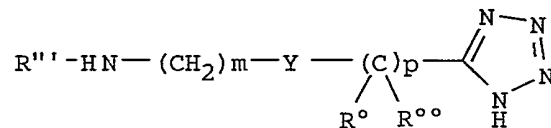
étant entendu que les radicaux alcoyle sont droits ou ramifiés et contiennent 1 à 4 atomes de carbone, ainsi que leurs sels et le cas échéant leurs formes stéréoisomères et leurs mélanges.

2 - Procédé de préparation d'un dérivé du lupane selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'on fait agir un azoture sur un nitrile de formule générale :

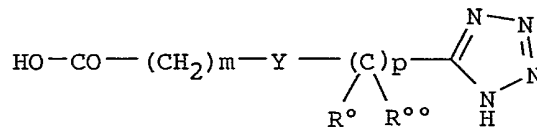


dans laquelle  $R_1$ ,  $R^\circ$ ,  $R^{\circ\circ}$ ,  $X$ ,  $Y$ ,  $n$ ,  $m$ , et  $p$  sont définis comme dans la revendication 1, puis élimine le cas échéant des radicaux protecteurs et transforme éventuellement le produit obtenu en un sel.

3 - Procédé de préparation d'un dérivé du lupane selon la revendication 1, pour lequel  $X$  (dans le radical  $R$ ) représente un radical carbamoyle ou aminocarbonyle éventuellement  $N$ -méthylé et les autres radicaux sont définis comme dans la revendication 1, caractérisé en ce que l'on fait agir une amine ou un acide de formules générales :



ou



dans lesquelles  $R^\circ$ ,  $R^{\circ\circ}$ ,  $m$  et  $p$  sont définis comme dans la revendication 1 et  $R'''$  est un atome d'hydrogène ou un radical méthyle, sur un dérivé du lupane de formule générale :



INSTITUT NATIONAL

RAPPORT DE RECHERCHE  
PRELIMINAIRE

de la  
PROPRIETE INDUSTRIELLE

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

FA 486925  
FR 9305620

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
D,A	SUSAN BUDAVARI ET. AL. 'The Merck Index' 1989 , MERCK & CO , RAHWAY., U.S.A. *Page 882: abstrait 5478* ---	1-4
A	DATABASE WPI Week 8929, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 89-204083 & JP-A-1 143 832 ((TOFU) TOA NENRYO KOGYO KK) 6 Juin 1989 * abrégé * -----	1-4
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.5)
		C07D
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
24 Janvier 1994		Luyten, H
<p><b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b></p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul                      Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie                      A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général                      O : divulgation non-écrite                      P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention                      E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.                      D : cité dans la demande                      L : cité pour d'autres raisons                      .....                      &amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>		

1  
EPO FORM 1503 03.82 (P04C13)